



วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 34 ฉบับที่ 3 กันยายน - ธันวาคม 2561

การวิเคราะห์หาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิดในประเทศไทยที่มีสารอนุพันธ์กลุ่ม Bibenzyl

โดยเทคนิค Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR)

อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว และ เฉลิมมาลัย วงศ์ชาวจันทน์.....	331
การพัฒนาตาดอกของแวนดามนวลในรูปปี	
ถกลวรรณ ศิริสวัสดิ์ และ โสระยา ร่วมรังษี.....	341
ผลของการพรางแสงระหว่างการเพาะปลูกต่อปริมาณคลอโรฟิลล์และสาร 2-Acetyl-1-Pyrroline ของใบเตยหอม	
ภาวิณี อารีศรีสม นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์ รุ่งทิพย์ กาวารี เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์ และ กอบลาภ อารีศรีสม.....	353
การเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในใบเตย	
ประทุมพร ยิ่งงษ์ชัย พรรณี ศิริคำ สุรินทร์ นิลสำราญจิต และ สุริยา ตาเที่ยง.....	363
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากวัชพืชบางชนิด	
จุฑามาศ เมธรัตน์ วนิดา สืบสายพรหม ทศพล พรพรหม และ จำเนียร ชมภู.....	373
ผลของการทำ seed treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม	
จักรพงษ์ กางโสภา Russell K. Hynes และ บุญมี ศิริ.....	385
อินทรีย์คาร์บอนของเม็ดดินที่ก่อให้เกิดก๊าซมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ในดินนา	
อุมิ ศรีวิชัย ดวงสมร ตฤาพิทักษ์ พุกษา หล้าวงษา และ พชร แสนจันทร์.....	399
สมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื้อปูนในประเทศไทย	
ภาณุวัชร อุปถัมภานนท์ ณัฐพล จิตมาตย์ และ ทิมทอง ดรุณสนธยา.....	411
สมบัติทางกายภาพเคมีของดินในพื้นที่เหมืองแร่และป่าปลูกเพื่อการฟื้นฟูที่ดินเหมืองแร่ลิกไนต์บ้านปู อำเภอฝาง จังหวัดลำพูน	
ธนาธิธิ ธิชาญ สุนทร คำยอง นิวัติ อนงค์รักษ์ และ พันธุ์ลพ หัตถโกศ.....	425
ศักยภาพน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดในการไล่ด้วงงวงข้าวโพด <i>Sitophilus zeamais</i> (Motschulsky)	
จิรวัฒน์ เอี่ยมใจดี ปภพ สินขยกุล และ วิชัย สรพงษ์ไพศาล.....	437
ประสิทธิภาพของสารสกัดเมล็ดสะเดาต่อการยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้และแมลงวันผลไม้ในแปลงปลูกฝรั่ง	
พชรพร ปภพ สินขยกุล และ ลพ ภานุตานนท์.....	449
ความรุนแรงของเชื้อราขาว <i>Beauveria bassiana</i> และเชื้อราเขียว <i>Metarhizium anisopliae</i> ในการควบคุมเพลี้ยแป้งบนลำปะหลังสีชมพู	
<i>Phenacoccus manihoti</i> Matile-Ferrero และเพลี้ยแป้งน้อยหน้า <i>Planococcus lilacinus</i> (Cockerell)	
ณิชานันท์ เกินอาษา และ วาสนา หวานชื่น.....	461
ชนิดและความสัมพันธ์ของมดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียบบนต้นกาแฟอะราบิกาในภาคเหนือของประเทศไทย	
วิรุติ แสงท้าว ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์ วิยะวัฒน์ ใจตรง และ ไสว บุรณพนิชพันธุ์.....	469
ประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีตจากผึ้งมดดำ (<i>Apis andreniformis</i>) ในการควบคุมได้เดือนฝอยรากปม <i>Meloidogyne incognita</i>	
สาเหตุโรครากปมพริกในสภาพโรงเรือน	
จิตติมา สันติสุข เยาวนุช พรหมนวล อมรศรี ขุนอินทร์ พงศ์ระวี นิ่มน้อย และ พรทิพย์ เรือนปานันท์.....	481
ความสำเร็จในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่	
สัจจนา สิงห์ใจ และ บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล.....	491
การวิเคราะห์ทางการเงินของการเลี้ยงกุ้งขาว (<i>Litopenaeus vannamei</i>) ในบ่อดิน: กรณีศึกษาลองวาฬโมเดล	
อุมิชัย อ่อนเอี่ยม วาสนา อากรณ์ และ ประภาพร ตีมาก.....	501
สมบัติของฟลอร์และสตราซากจากเนื้อกล้วยไข่ดิบและการใช้ประโยชน์ในขนมทองม้วน	
ภาสุรี ฤทธิเลิศ และ นัฐพัค โคตรแปร.....	513

ISSN 0857-0841

TCI กลุ่มที่ 1

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เรื่องที่ตีพิมพ์

บทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการ ทางด้านเกษตรศาสตร์และสาขาที่เกี่ยวข้อง

การเตรียมต้นฉบับ

1. **ภาษา** เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ
2. **การพิมพ์** พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษขนาด A4 ด้วย ไมโครคอมพิวเตอร์โปรแกรมไมโครซอฟท์เวิร์ด ตัวอักษร Cordia new ขนาด 14 ตัวอักษรต่อหน้า ความยาวไม่ควรเกิน 10 หน้า (รวมบทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ)

3. การเรียงลำดับเนื้อหา

3.1 **ชื่อเรื่อง (Title)** ควรสั้น ชัดเจน และต้องสื่อเป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

3.2 **ชื่อผู้เขียน** เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ สำหรับที่อยู่ (ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) ให้พิมพ์เป็นเชิงอรรถ (Footnote) ในหน้าแรกของบทความ

3.3 **บทคัดย่อ (Abstract)** ควรเป็นเนื้อหาที่สั้น ชัดเจนและเข้าใจง่าย โดยรวมเหตุผลในการศึกษาวิจัย อุปกรณ์ วิธีการ ตลอดจนผลการศึกษาและสรุปด้วย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ควรเกิน 250 คำ และให้ระบุคำสำคัญ (keywords) ไว้ท้ายบทคัดย่อแต่ละภาษาด้วย (บทความปริทัศน์อาจไม่ต้องมีบทคัดย่อ)

3.4 **คำนำ (Introduction)** แสดงความเป็นมาและเหตุผลที่นำไปสู่การศึกษาวิจัย อาจรวมการทบทวนเอกสาร (Review of Literature) และวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยได้ด้วย

3.5 **อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)** ให้อธิบายละเอียดวัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ ตลอดจนวิธีและแบบจำลองการศึกษาวิจัยที่ชัดเจน และสมบูรณ์

3.6 **ผลการศึกษาหรือผลการทดลอง (Results)** ให้บรรยายผลการศึกษาวิจัย พร้อมเสนอข้อมูลในรูปแบบ ตารางหรือภาพประกอบได้ โดยตารางหรือภาพ ให้จัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด

3.7 **วิจารณ์ (Discussion)** ควรเชื่อมโยงกับผลการศึกษาว่าสอดคล้องกับสมมติฐานหรือไม่ แตกต่างไปจากผลงานวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหรือไม่อย่างไรและด้วยเหตุใด โดยมีพื้นฐานการอ้างอิงที่เชื่อถือได้ วิจารณ์อาจนำไปรวมกับผลการศึกษาเป็นผลการศึกษาและวิจารณ์ (Results and Discussion)

3.8 **สรุป (Conclusion)** ควรสรุปผลที่ได้รับจากการศึกษาวิจัยว่าเป็นไปตามวัตถุประสงค์หรือไม่ พร้อมให้ข้อเสนอแนะ หรือระบุอุปสรรคและแผนงานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไป

4. กิตติกรรมประกาศ หรือ คำขอบคุณ (Acknowledgement)

อาจมีหรือไม่ก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือในงานวิจัย แต่ไม่ได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย

5. เอกสารอ้างอิง (References)

5.1 **ในเนื้อเรื่อง** ไม่ควรอ้างอิงถึงเรื่องที่ไม่เกี่ยวข้องหรือห่างไกล ระบบที่ใช้อ้างอิงคือระบบชื่อและปี (Name-and-year System) ในเอกสารภาษาไทย ให้ใช้ชื่อตัวและปี พ.ศ. เช่น สมชาย (2545) รายงานว่า... หรือ... (สมชาย, 2545) หากมีผู้เขียน 2 คน ให้ใช้ชื่อเป็น สมชาย และสมหญิง (2547) รายงานว่า... หรือ... (สมชาย และสมหญิง, 2547) และถ้ามีผู้เขียนตั้งแต่ 3 คนขึ้นไป ให้ใช้ชื่อคนแรกแล้วตามด้วยคำว่า และคณะ เช่น สมชาย และคณะ (2546) รายงานว่า... หรือ... (สมชาย และคณะ, 2546) ในกรณีเอกสารเป็นภาษาอังกฤษ ให้ใช้ชื่อสกุลและปี ค.ศ. เช่น Johny (2003)... หรือ... (Johny, 2003) ถ้าผู้เขียนมี 2 คน ให้ใช้ชื่อเป็น Johny and Walker (2004) ... หรือ... (Johny and Walker, 2004) หากมีมากกว่า 3 คน ให้ใช้ชื่อเป็น Johny *et al.* (2005)... หรือ... (Johny *et al.*, 2005) สำหรับในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้ใส่ชื่อผู้เขียนทุกคนห้ามใช้คำว่า และคณะ หรือ *et al.*

5.2 **ในบัญชีเอกสารอ้างอิง** ให้เรียงลำดับเอกสารภาษาไทยก่อนภาษาอังกฤษ โดยเรียงตามลำดับอักษรในแต่ละภาษา ตามรูปแบบการเขียนมีดังนี้

1) วารสาร (Journals)

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสาร (เขียนเต็ม). ปีที่(ฉบับที่): เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าที่สิ้นสุด.

วันทนา มุทิตา และ ณัฐรา ควบประเสริฐ. 2547. เซลล์พันธุศาสตร์และการถ่ายทอดสีดอกของฟิวเซีย. วารสารเกษตร 20(1): 10-18.

Barcenas, N.M., T.R. Unruh and L.G. Neven. 2005. DNA diagnostics to identify internal feeders (Lepidoptera: Tortricidae) of pome fruits of quarantine importance. Journal of Economic Entomology 98(2): 299-306.

2) หนังสือ และตำรา (Books & Textbooks)

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

จริยา วิสิทธิ์พานิช ขาตรี สิทธิกุล และ เขียวลักษณ์ จันทร์บาง. 2545. โรคและแมลงศัตรูลำไย ลิ้นจี่ และมะม่วง. ธนบรรณการพิมพ์, เชียงใหม่. 308 หน้า.

Gullan, P.J. and P.S. Cranston. 2005. The Insects: An Outline of Entomology. 3rd ed. Blackwell Publishing, Malden. 505 p.

3) เรียงย่อในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องกันเขียน และมีบรรณาธิการ

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องย่อ. หน้า เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าที่สิ้นสุด. ใน: ชื่อบรรณาธิการ (บก.). ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์, เมืองที่พิมพ์.

ดำรง เวกิจ และ สมบูรณ์ ทองสกุล. 2535. เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัด ศัตรูพืช. หน้า 22-42. ใน: สุวัฒน์ รวยอริย์ (บก.). แมลงและศัตรูศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ไอเดีย สแควร์, กรุงเทพฯ.

Kubo, T. 2003. Molecular analysis of the honeybee sociality. pp. 3-20. In: T. Kikuchi, N. Azuma and S. Higashi (eds.). Gene, Behaviors and Evolution of Social Insects. Hokkaido University Press, Sapporo.

4) วิทยานิพนธ์

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. ระดับวิทยานิพนธ์. สถาบันการศึกษา. เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

อินันท์ มณีพงษ์. 2547. ผลของการใช้ไอโซนตอคุณภาพและสารพิษตกค้างหลังการเก็บเกี่ยวส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 100 หน้า.

5) เอกสารวิชาการอื่นๆ

ชื่อผู้เขียน หรือหน่วยงาน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องหรือชื่อหนังสือ. ประเภทของเอกสาร. สถาบันหรือหน่วยงานที่จัดพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

ทวีศักดิ์ ชโยภาส. 2544. แลงศัตรูปลาน้ำจืดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 126 หน้า.

6) สื่ออิเล็กทรอนิกส์

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: ชื่อ Website (วันเดือนปีที่สืบค้นข้อมูล).

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2548. การปลูกผักแบบไม่ใช้ดิน (ไฮโดรโปนิคส์). (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.doe.go.th/proster/nondin.htm> (21 เมษายน 2548).

Linardakis, D.K. and B.I. Manolis. 2005. Hydroponic culture of strawberries in perlite. (Online). Available: <http://www.schundler.com/strawberries.htm> (April 21, 2005).

คู่มือคำแนะนำในการใช้ภาษาอังกฤษในเนื้อเรื่องภาษาไทย และการส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์ได้ในนิตยสาร

วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

ผู้จัดพิมพ์	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Publisher	Faculty of Agriculture, Chiang Mai University
กำหนดการพิมพ์	วารสารราย 4 เดือน (3 ฉบับ/ปี) คือ ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม	Publication	Tri-annually Issue 1 January-April Issue 2 May-August Issue 3 September-December
วัตถุประสงค์	เพื่อเผยแพร่วิทยการด้านการเกษตร และสาขาที่เกี่ยวข้อง	Objective	To disseminate academic knowledge in agriculture and related fields
ที่ปรึกษา	คณบดีคณะเกษตรศาสตร์ รองคณบดีฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ	Consultants	Dean, Faculty of Agriculture; Associate Dean for Research and Academic Services
บรรณาธิการ	ศ. เขียวชาญพิเศษ ดร. สันชัย จตุรสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editor	Sanchai Jaturasitha, Dr.sc.agr., Prof. Chiang Mai University
รองบรรณาธิการ	รศ.ดร. ไสว บุรณพานิชพันธุ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Vice Editor	Sawai Buranapanichpan, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University
กองบรรณาธิการ ฝ่ายวิชาการ	ศ.ดร. ดนัย บุญเกียรติ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. เกวลิน คุณาศักดากุล มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. สุนทร คำยอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. รุจ ศิริสัญลักษณ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. สุรินทร์ นิลสำราญจิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. เยาวลักษณ์ จันทรบาง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. ฉันทลักษณ์ ดิทยาน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. จิรวรรณ กิจชัยเจริญ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. เสาวลักษณ์ แยมหมื่นอาจ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร. ชูชาติ สันธทรัพย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editorial Board (Academic)	Danai Boonyakiat, Ph.D., Prof. Chiang Mai University Kaewalin Kunasakdakul, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Soontorn Khamyong, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Ruth Sirisunyaluck, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Chanakan Prom-u-thai, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Surin Nilsamranchit, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Yaowaluk Chanbang, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Chantalak Tiyyon, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Jirawan Kitchaicharoen, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Saowaluck Yammuen-art, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Choochad Santasup, Ph.D. Chiang Mai University

กองบรรณาธิการ ฝ่ายการจัดการ	ผศ.ดร. สรณะ สมโน	Sarana Sommano, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Chiang Mai University
	ศ.ดร. จรัญ จันทลักขณา	Charan Chantalakhana, Ph.D., Prof.
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	Kasetsart University
	ศ. ญาณวิทย์ ดร. เมธาวรรณพัฒน์	Metha Wanapat, Ph.D., Prof.
	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	Khon Kaen University
	ศ.ดร. อังศุมาลย์ จันทราปัติย์	Angsumarn Chandrapatya, Ph.D., Prof.
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	Kasetsart University
	ศ.ดร. สุชีลา เดชะวงศ์เสถียร	Suchila Techawongstien, D.agr., Prof.
	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	Khon Kaen University
	ศ.ดร. ธวัชชัย ศุภดิษฐ์	Tawadchai Suppadit, Ph.D., Prof.
	สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์	Nation Institute of Development Administration
	รศ.ดร. เสวียน เปรมประสิทธิ์	Savent Pampasit, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยนเรศวร	Naresuan University
	รศ.ดร. วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ	Weerathep Pongprasert, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยนเรศวร	Naresuan University
	รศ.ดร. เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล	Petcharat Thummabenjapone, Ph.D., Assoc Prof.
	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	Khon Kaen University
	รศ. บำเพ็ญ เขียวหวาน	Bumpen Keowan, M.S., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมวิราช	Sukhothai Thammathirat Open University
	รศ.ดร. เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน	Kriangsak Mengumphan, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยแม่โจ้	Maejo University
	ผศ.ดร. ปฐิภาณ สุทธิกุลบุตร	Pathipan Sutigoolabud, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยแม่โจ้	Maejo University
	ผศ.ดร. เพ็ญพร เจนการกิจ	Penporn Janekarnkij, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	Kasetsart University
	ผศ.ดร. ไชยวรรณ วัฒนจันทร์	Chaiyawan Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	Prince of Songkla University
	ผศ.ดร. เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์	Saowakon Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	Prince of Songkla University
	นางลาลิตยา นุ่มมีศรี	Lalitaya Nummisri
	นางสาวอรณิชาน์ ปารมี	Onnichia Paramee
	นายมานพ เปี้ยพรรณ	Manop Pearpun

บทบรรณาธิการ

สวัสดีครับท่านผู้อ่านทุกท่าน

วารสารเกษตรเล่มนี้ เป็นปีที่ 34 ฉบับที่ 3 แล้วครับ ก่อนอื่นต้องขอแจ้งให้ผู้อ่านทุกท่านให้ทราบว่า ศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai-Journal Citation Index Centre, TCI) ประกาศผล Impact Factor (IF) ไปเมื่อเดือนกรกฎาคม 2561 วารสารเกษตรได้ IF = 0.613 ซึ่งเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2559 คือมีค่า IF = 0.591 ที่ได้แสดงให้เห็นคุณค่าของวารสารเกษตรที่มีคนนำไปใช้อ้างอิงให้เกิดประโยชน์อย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ ต้องขอขอบคุณกองบรรณาธิการทุกท่านที่ได้ช่วยคัดสรรบทความวิจัยให้เกิดคุณภาพสูงสุด อีกทั้งยังต้องขอบคุณผู้เขียนทุกท่านที่ได้กรุณาส่งบทความวิจัยดี ๆ มาเผยแพร่ในวารสารเกษตรแห่งนี้

สำหรับบทความวิจัยฉบับนี้ มี 17 เรื่อง ทางกองบรรณาธิการได้เพิ่มจากเดิม 12-15 เรื่อง เป็น 15-17 เรื่อง เนื่องจากพิจารณาออกวารสารยาวมากจึงต้องมีการเพิ่มจำนวนเรื่องเพื่อให้ผู้เขียนได้รับนำไปใช้ทั้งขอตำแหน่งทางวิชาการ และบัณฑิตศึกษาที่ต้องการส่งให้สถาบันการศึกษาเพื่อจะได้จบตามเกณฑ์ที่กำหนด

บทความวิจัยทั้ง 17 เรื่อง มีทั้งสาขาวิชา พืชสวน พืชไร่ ภูมิวิทยา โรคพืช ปฐพีศาสตร์ ส่งเสริมการเกษตร เศรษฐศาสตร์เกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร และยังเป็นบทความวิจัยคุณภาพสูงที่สามารถนำไปใช้ได้อย่างแพร่หลาย สนองต่อนโยบายของรัฐบาลที่ต้องการตอบโจทยยุทธศาสตร์ของประเทศ คือ การทำวิจัยเพื่อนำไปใช้ได้จริง

ขอขอบคุณเจ้าของบทความวิจัยทุกท่านที่ได้แบ่งปันความรู้มาสู่ผู้อ่านทุกคนครับ

ศ. เชี่ยวชาญพิเศษ ดร. สัมชัย จตุรสิทธิ์ธา

บรรณาธิการวารสารเกษตร

การวิเคราะห์หาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิด
ในประเทศไทยที่มีสารอนุพันธ์กลุ่ม Bibenzyl
โดยเทคนิค Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR)

Analysis on Specific Molecular Marker Some *Dendrobium* Sw. Species in Thailand
Containing Bibenzyl Derivatives Using Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR)
Technique

อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว และ เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันทน์*
Uthaiwan Sapkaew and Shermarl Wongchaochant*

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กรุงเทพฯ 10900
Department of Horticulture, Faculty of Agricultural, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand
*Corresponding author: Email: agrsmw@ku.ac.th

(Received: 13 November 2017; Accepted: 15 March 2018)

Abstract: Bibenzyl derivatives in *Dendrobium* Sw. are used as medicine composition for preventing and curing several diseases. The genetic selection using specific molecular markers could reduce time and cost for *Dendrobium* Sw. identification based on their main chemical constituents. The purpose of this study was to examine the specific markers for some *Dendrobium* Sw. species in Thailand which contain bibenzyl derivatives using ISSR technique. The specific fragments of 7 *Dendrobium* species in Thailand were analyzed with 96 ISSR primers. The results revealed that 4 DNA fragments produced from 4 ISSR primers i.e. UBC-861, UBC-862, UBC-881 and UBC-895 primers from 10 ISSR primers showed polymorphic bands patterns between *Dendrobium* Sw. containing bibenzyl derivatives. Only the 350 bp DNA fragments amplified with UBC-895 primer were used for sequencing. The result of UBC-895_350 sequencing showed that DNA fragments length was 289 base pairs. The sequence was identical to *bibenzyl synthase*-like of *Dendrobium catenatum* and mRNA of *D. catenatum* in NCBI database. It was recommended that the results from this investigation could be used as basic knowledge for developing the specific molecular markers to identify *Dendrobium* Sw. for further research.

Keywords: Phytochemical, medicinal orchids, DNA marker, DNA sequences

บทคัดย่อ: สารกลุ่ม bibenzyl ในกล้วยไม้สกุลหวายได้นำมาใช้ประโยชน์ทางด้านสมุนไพรในการป้องกัน และเป็นยารักษาโรคมากขึ้น การคัดเลือกลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคทางเครื่องหมายโมเลกุลเป็นอีกวิธีการที่สามารถช่วยร่นระยะเวลา และลดต้นทุนในการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายกลุ่มที่มีสารสำคัญต่าง ๆ ได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิดในประเทศไทยที่พบสารกลุ่ม bibenzyl โดยใช้เทคนิค ISSR จากการตรวจหาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวาย 7 ชนิด ที่พบในประเทศไทยด้วยไพรเมอร์ ISSR จำนวน 96 ไพรเมอร์ พบว่ามีจำนวน 4 ไพรเมอร์ จาก 10 ไพรเมอร์ ได้แก่ ไพรเมอร์ UBC-861, UBC-862, UBC-881 และ UBC-895 ที่สามารถสร้างแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างระหว่างกล้วยไม้สกุลหวายที่พบและไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl จำนวน 4 แถบ โดยแถบดีเอ็นเอขนาด 350 คู่เบส ที่ได้จากไพรเมอร์ UBC-895 เป็นเพียงแถบเดียวที่สามารถวิเคราะห์ลำดับเบสได้ ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอ UBC-895_350 พบว่ามีขนาด 289 คู่เบส ลำดับเบสที่ได้มีความเหมือนกับ *bibenzyl synthase-like* ของกล้วยไม้ *Dendrobium catenatum* และ mRNA ของกล้วยไม้ *D. catenatum* ในฐานข้อมูล NCBI ดังนั้นจึงสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายต่อไป

คำสำคัญ: พฤษเคมี กล้วยไม้คุณสมบัติเป็นยา เครื่องหมายดีเอ็นเอ ลำดับเบสดีเอ็นเอ

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อยู่ในเขตร้อนชื้นมีความหลากหลายของทรัพยากรธรรมชาติเป็นอย่างมาก กล้วยไม้เป็นพืชที่มีความหลากหลายทั้งในด้านความหลากหลายทางพันธุกรรม ความหลากหลายในการนำไปใช้ประโยชน์ และมีความต้องการของผู้บริโภคสูง จึงทำให้เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ ปัจจุบันมีการนำกล้วยไม้มาใช้ประโยชน์ทางด้านสมุนไพรมากขึ้นเนื่องจากกล้วยไม้มีสารออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ เช่น สารกลุ่ม alkaloids, flavonoids, carotenoid และ phytosterols (Hossain, 2011) ซึ่งกล้วยไม้สกุลหวายเป็นสกุลที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านสมุนไพรมากที่สุดที่มีการนำมาสกัดเพื่อใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยาของสารกลุ่ม bibenzyl โดยเฉพาะสาร moscatilin มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง คือ ฤทธิ์ต้านการเจริญของเนื้องอกหรือมะเร็ง (antitumor) ฤทธิ์ต้านการเจริญของหลอดเลือด (anti-angiogenic) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammation) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Liu *et al.*, 2010; Kowitdamrong *et al.*, 2013; Tsai *et al.*, 2010)

จากการศึกษาวิเคราะห์สารสำคัญในกล้วยไม้สกุลหวายของประเทศไทยพบว่ามีสารกลุ่ม bibenzyl ได้แก่ สาร moscatilin, gigantol, batatasin, dendrofalconerol (Sritularak and Likhitwitayawuid, 2009; Sritularak *et al.*, 2011a, b) ยูพิน (2558) รายงานผลการศึกษาวเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่ม bibenzyl 4 ชนิด ได้แก่ สาร moscatilin, gigantol, crepidatin และ chrysotoxine ในกล้วยไม้สกุลหวายจำนวน 10 ชนิด ที่พบในประเทศไทย พบว่า เอื้องดอกมะเขือ (*Dendrobium hercoglossum*) และพวงหยก (*Dendrobium findlayanum*) ไม่พบสารในกลุ่ม bibenzyl และที่พบสารกลุ่ม bibenzyl ได้แก่ เอื้องผึ้ง (*Dendrobium lindleyi*) เอื้องตะขาบ (*Dendrobium acinaciforme*) ผาแว้ง (*Dendrobium albosanguineum*) เอื้องครึ่งแสด (*Dendrobium unicum*) เอื้องจำปานาน (*Dendrobium sulcatum*) เอื้องสายสามสี (*Dendrobium crystallinum*) เอื้องสายน้ำนม (*Dendrobium cretaceum*) และเอื้องช้างน้ำว (*Dendrobium pulchellum*) แต่พบว่าวิเคราะห์สารสำคัญต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาสูงหรือการจำวิเคราะห์สารสำคัญมีค่าใช้จ่ายต่อดตัวอย่างที่ค่อนข้างสูง การคัดเลือกลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคทางเครื่องหมายโมเลกุล เป็นอีกวิธีการที่สามารถช่วยร่นระยะเวลา และลดต้นทุนในการวิเคราะห์หาสารสำคัญในกล้วยไม้สกุลหวายได้ ณัฐดนัย และคณะ

(2560) รายงานการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ช้างโดยเทคนิคอาร์เอพีดีที่ใช้ไพรเมอร์ OPF01 และ OPF06 สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจัดแบ่งกลุ่มสายพันธุ์กล้วยไม้ช้างออกเป็น 3 กลุ่ม ตามลักษณะสีที่ปรากฏบนกลีบดอก สารให้สีที่เป็นองค์ประกอบของสีดอก และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม Bhattacharyya *et al.* (2015a, b) ได้ตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลด้วยเทคนิค ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 13 ไพรเมอร์ที่สามารถให้ความแตกต่าง และเป็นไพรเมอร์ที่มีความสัมพันธ์กับสารสำคัญใน *Dendrodium nobile* และได้ตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลด้วยเทคนิค ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ 7 ไพรเมอร์ ที่มีความสัมพันธ์กับสาร antioxidant activity ใน *Dendrobium thyrsiflorum* แต่ข้อมูลการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในกล้วยไม้สกุลหวายที่มีศักยภาพในการใช้เป็นสมุนไพรของประเทศไทยยังไม่แพร่หลาย

งานวิจัยครั้งนี้จึงใช้เทคนิค Inter-simple sequence repeat (ISSR) เพื่อศึกษาหาเครื่องหมายโมเลกุลจำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวายในประเทศไทยที่พบสารกลุ่ม bibenzyl เพื่อคัดเลือกกล้วยไม้สกุลหวายชนิดที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ด้านเภสัชวิทยา และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อเพิ่มคุณภาพกล้วยไม้เชิงเภสัชอุตสาหกรรม เป็นพืชทางเลือกใหม่แก่เกษตรกรในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชที่ใช้ในการทดลอง

กล้วยไม้สกุลหวายที่พบในประเทศไทย จำนวน 7 ชนิด จากรายงานของยุพิน (2558) ที่พบสารกลุ่ม bibenzyl จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เอื้องสายสามสี (*D. crystallinum*) เอื้องสายน้ำนม (*D. cretaceum*) เอื้องช้างน้ำ (*D. pulchellum*) ผาเวียง (*D. albosanguineum*) และเอื้องผึ้ง (*D. lindleyi*) และกล้วยไม้ที่ไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เอื้องดอกมะเขือ (*D. hercoglossum*) และพวงหยก (*D. findlayanum*) และกล้วยไม้สกุลหวายในประเทศจีน จากรายงานของ Chen

et al. (2012) ที่พบสารกลุ่ม bibenzyl จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *D. officinale*

การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดจีโนมดีเอ็นเอจากส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้สกุลหวายด้วยวิธี CTAB ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle (1987) ซึ่งนำหนักใบอ่อนตัวอย่างละ 0.2 กรัม เติมนิโตรเจนเหลวและบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง นำตัวอย่างที่บดแล้วใส่หลอดไมโครทิวบ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย CTAB buffer ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (2% (w/v) CTAB, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.2% (v/v) β -mercaptoethanol) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวางให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติมนิโตรเจน A (ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 4 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติมนิโตรเจน chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร กลับหลอดขึ้นลงเบา ๆ บั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง ด้วยความเร็วประมาณ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดของเหลวใสส่วนข้างบนใสหลอดใหม่ ตกตะกอนด้วย isopropanol ที่เย็นจัดปริมาตร 600 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบา ๆ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที นำไปบั่นเหวี่ยงความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบนทิ้งเติมสารละลาย wash buffer (70% ethanol ผสมกับ 10 mM ammonium acetate) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กลับหลอดไปมาเบา ๆ บั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง และดูดของเหลวใสส่วนบนทิ้ง จากนั้นตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วยสารละลาย TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส (ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์) จากนั้นนำมาวัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 260 กับ 280 นาโนเมตร (A_{260}/A_{280}) และเก็บรักษาดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ในขั้นตอนต่อไป

การสังเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค ISSR

เตรียมสารละลายเพื่อสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร โดยมีส่วนประกอบและความเข้มข้นสุดท้าย ดังนี้ ดีเอ็นเอตั้งต้น (DNA template) 50 นาโนกรัม, 10xTaq15 buffer with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.5 ไมโครลิตร, 0.06 U Taqpolymerase, 4 mM MgCl_2 , 0.8 mM dNTP และ 100 mM ของ ISSR primer โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 96 ไพรเมอร์ ชุด UBC-801 ถึง 896 (University of British Columbia, Canada) ใช้อุณหภูมิในการสังเคราะห์ที่ ประกอบด้วย initiation denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ และ denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที extension ที่ 72 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 2 นาที จำนวน 35 รอบ และ final extension ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หลังจากสังเคราะห์ดีเอ็นเอแล้วนำดีเอ็นเอที่เตรียมได้ 1 ไมโครลิตร มาตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนเจลอะกาโรส (ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์) ในสารละลาย 1xTBE buffer ย้อมเจลแล้วตรวจสอบด้วย UV-transilluminator วิเคราะห์รูปแบบของแถบดีเอ็นเอเพื่อหาแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างกลุ่มที่พบและไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl

การวิเคราะห์ลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสารกลุ่ม bibenzyl

ตัดแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างของกล้วยไม้สกุลหวายที่พบและไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl และสกัดดีเอ็นเอออกจากเจลอะกาโรส นำสารละลายดีเอ็นเอไปตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนเจลอะกาโรส เพื่อยืนยันแถบดีเอ็นเอที่แสดงความจำเพาะเจาะจง จากนั้นวิเคราะห์ลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอจำเพาะด้วยวิธี Sanger *et al.* (1977) หลังจากได้ลำดับเบสแล้วจึงนำมาเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสกับดีเอ็นเออื่น ๆ โดยใช้โปรแกรม Blast ในฐานข้อมูลพันธุกรรม National Center for Biotechnology Information (NCBI)

ผลการศึกษา

การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลของกล้วยไม้สกุลหวายด้วยเทคนิค ISSR

ดีเอ็นเอที่สกัดได้ เมื่อนำมาตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอโดยวิธีการวัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 260 กับ 280 นาโนเมตร (A_{260}/A_{280}) มีค่าการดูดกลืนแสง 1.6-1.9 ซึ่งดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมดมีคุณภาพค่อนข้างดี ลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้ไม่เกิดลักษณะ smear band แต่ยังมีการปนเปื้อนของโปรตีน และสารพอลิแซ็กคาไรด์บ้างเล็กน้อย แต่พบว่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ได้มีปริมาณน้อยประมาณ 3-15 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

จากการตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ ISSR จำนวน 96 ไพรเมอร์ ได้ตรวจสอบเฉพาะกล้วยไม้ที่พบในประเทศไทย 7 ชนิด พบว่ามีไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณ และปรากฏแถบดีเอ็นเอชัดเจน (major band) และแถบดีเอ็นเอที่จาง (minor band) โดยเครื่องหมาย "+" หมายถึงการปรากฏของแถบดีเอ็นเอ และ "-" หมายถึงการไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอซึ่งแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏนั้นสามารถแยกความแตกต่างจนเกิดเป็นพหุสัณฐาน (polymorphism) ในกล้วยไม้สกุลหวายได้ไพรเมอร์ ทั้งหมด 10 ไพรเมอร์ คิดเป็น 10.4 เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนไพรเมอร์ทั้งหมดที่ใช้ ได้แก่ ไพรเมอร์ UBC-830, UBC-834, UBC-861, UBC-862, UBC-865, UBC-866, UBC-867, UBC-874, UBC-881 และ UBC-895 (ตารางที่ 1) แล้วคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจนและจำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวายในประเทศไทยที่พบสารกลุ่ม bibenzyl ได้แก่ เอื้องสายสามสี (*D. crystallinum*) เอื้องสายน้ำนม (*D. cretaceum*) เอื้องช้างน้ำว (*D. pulchellum*) ผาแว้ง (*D. albosanguineum*) และเอื้องผึ้ง (*D. lindleyi*) และไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl ได้แก่ เอื้องดอกมะเขือ (*D. hercoglossum*) และพวงหยก (*D. findlayanum*) ทั้งหมด 4 ไพรเมอร์ ได้แก่ ไพรเมอร์ UBC-861 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 600 คู่เบส ในกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสารกลุ่ม bibenzyl ไพรเมอร์ UBC-862 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1,500 คู่เบส ในกล้วยไม้สกุลหวายที่ไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl ไพรเมอร์ UBC-881 ให้แถบดีเอ็นเอ

Table 1. Polymorphic fragment profiles of two groups of *Dendrobium* Sw. using 10 ISSR primers

Primers	Primer sequences 5'- 3'	Polymorphic fragment length (bp)	bibenzyl presence					No bibenzyl	
			(D1)	(D2)	(D3)	(D4)	(D5)	(D6)	(D7)
UBC-830	TGTGTGTGTGTGTGTGG	500	+	+	-	-	-	+	¹
UBC-834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	700	+	+	+	-	-	+	+
		300	+	+	+	+	-	-	-
UBC-861	ACCACCACCACCACCACC	600	+	+	+	+	+	-	-
UBC-862	AGCAGCAGCAGCAGCAGC	1,500	-	-	-	-	-	+	+
UBC-865	CCGCCGCCGCCGCCGCCG	900	+	+	+	+	+	+	-
UBC-866	CTCCTCCTCCTCCTCTCT	1,300	+	-	-	-	+	+	+
		600	+	-	+	+	+	-	-
UBC-867	GGCGGCGGCGGCGGCGG	1,200	+	+	-	+	-	-	-
		600	-	+	+	-	+	+	-
UBC-874	CCCTCCCTCCCTCCCT	400	-	-	-	-	-	+	-
UBC-881	GGGTGGGTGGGTGG	400	+	+	+	+	+	-	-
UBC-895	AGAGTTGGTAGCTCTTGATC	350	+	+	+	+	+	-	-

¹+: Appearance of DNA bands; -: The absence of DNA bands

D1: *D. cretaceum*; D2: *D. crystallinum*; D3: *D. pulchellum*; D4: *D. albosanguineum*; D5: *D. lindleyi*; D6: *D. hercoglossum*; D7: *D. findlayanum*

ขนาด 400 คู่เบส ในกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสารกลุ่ม bibenzyl และไพรเมอร์ UBC-895 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 350 คู่เบส ในกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสารกลุ่ม bibenzyl (ภาพที่ 1) และคัดเลือกไพรเมอร์ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างชัดเจน ได้แก่ ไพรเมอร์ UBC-862 แสดงแถบดีเอ็นเอปรากฏในกล้วยไม้สกุลหวายที่ไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl และไพรเมอร์ UBC-895 แสดงแถบดีเอ็นเอปรากฏในกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสารกลุ่ม bibenzyl นำมาทดสอบกับกล้วยไม้สกุลหวายที่มีถิ่นกำเนิดจากประเทศจีน *D. officinale* ซึ่งมีรายงานว่าเป็นกล้วยไม้สกุลหวายชนิดที่พบสาร bibenzyl พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสารกลุ่ม bibenzyl ที่พบในประเทศไทย (ภาพที่ 2)

การวิเคราะห์ลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสารกลุ่ม bibenzyl
แถบดีเอ็นเอที่ขนาด 350 คู่เบส ที่ได้จากไพรเมอร์ UBC-895 เป็นแถบดีเอ็นเอที่สามารถสกัดดีเอ็นเอ

ออกจากเจลอะกาโรสได้ เมื่อนำมาตรวจสอบเป็นตำแหน่งเดียวกับตำแหน่งที่ให้ความแตกต่าง และความเข้มข้นดีเอ็นเอมีปริมาณเพียงพอต่อการนำไปวิเคราะห์ลำดับเบส ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสมีขนาด 289 คู่เบส ลำดับเบสของดีเอ็นเอจากปลาย 5' ไป 3' (ภาพที่ 3) นำมาเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสกับดีเอ็นเออื่น ๆ หรือมีความคล้ายกับยีนหรือโปรตีนชนิดใดในฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Blast ใน NCBI พบว่าลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอ UBC895_350 ที่ได้มีความเหมือนกับลำดับเบสมRNA uncharacterized (LOC110109128) transcript variant X1 ของ *Dendrobium catenatum* มีค่า identities 75 เปอร์เซ็นต์ ที่ความยาว 76 คู่เบส จาก 101 คู่เบส (ภาพที่ 4) และมีความเหมือนกับลำดับเบส *bibenzyl synthase-like* ของ *Dendrobium catenatum* (LOC110105791) มีค่า identities 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความยาว 11 คู่เบส ซึ่งระบุว่ามีความเหมือนกับการแสดงออกของยีน *bibenzyl synthase* (ภาพที่ 5)

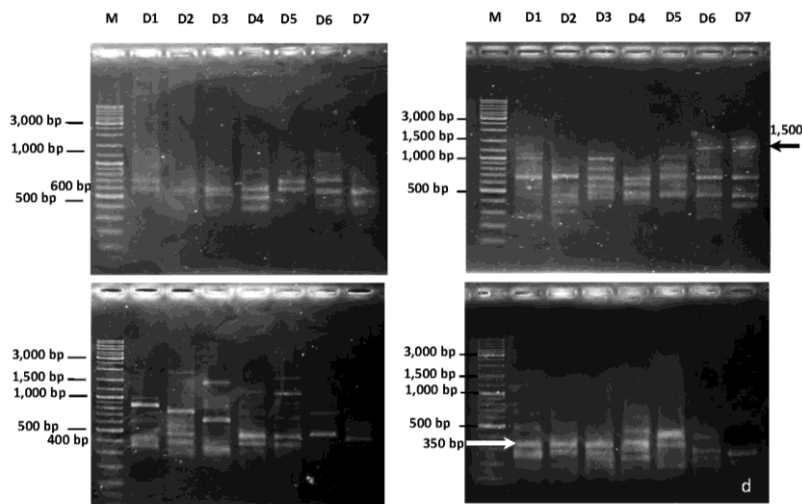


Figure 1. ISSR band profiles of *Dendrobium* Sw. obtained from using UBC-861 primer (a), UBC-862 primer (b), UBC-881 primer (c), UBC-895 primer (d), (M: GeneRuler™ DNA Ladder; D1: *D. cretaceum*; D2: *D. crystallinum*; D3: *D. pulchellum*; D4: *D. albosanguineum*; D5: *D. lindleyi*; D6: *D. Hercoglossum* and D7: *D. findlayanum*)

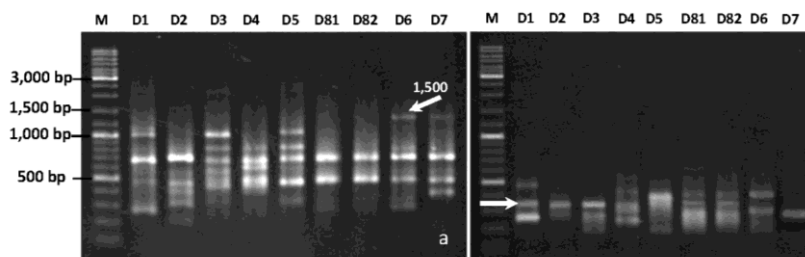


Figure 2. ISSR band profiles of *Dendrobium* Sw. obtained from using UBC-862 primer (a) and UBC-895 primer (b). (M: GeneRuler™ DNA Ladder; D1: *D. cretaceum*; D2: *D. crystallinum*; D3: *D. pulchellum*; D4: *D. albosanguineum*; D5: *D. lindleyi*; D81: *D. officinale* (tree); D82: *D. officinale* (tissue culture); D6: *D. hercoglossum* and D7: *D. findlayanum*)

```

1  GGGGGCGATGCTACGGTCAGCAGCGGGCGTTGCTGCGCGAGGAAGATTCC  50
51  GCTAGGATTGTGGCCGATCACGCTGTTGCTAGGGTTGAAACAGGTGGTTG  100
101 GGAGCTTTTTTTTTAAATCCCGTGTCTAACTCACTGCTCTATTTTGA  150
151 GAAACACCAAGCCACCGTTTTCAACCTGATCAAAAACCCCGACTTCAAAA  200
201 ATCCTAGCGGAACCCCTCTTGCCTGAACGCCCTCCTGATCTTATTC  250
251 CCAATCCGCTCTTGCCGGGATCAAGAATCCCACTCTC

```

Figure 3. DNA sequences of UBC-895_350

**การวิเคราะห์หาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิดในประเทศไทย
ที่มีสารอนุพันธ์กลุ่ม Bibenzyl โดยเทคนิค Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR)**

```
Dendrobium catenatum uncharacterized LOC110109128 (LOC110109128), transcript
variant X1, mRNA Sequence ID: XM_020840059.1 Length: 1675

Score = 66.2 bits(72), Expect = 4e-07, Identities = 76/101(75%),
Gaps = 5/101(4%), Strand = Plus/Minus

Query 5 TACGGTCAGCAGCGCGTTGCTGCGCGAGGAAGAGTTCGCTAGGATTGTGGCCGATCAC 64
||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 350 TAAGGTTGGCAGCGCCTCTGCTGCAAGAGGAGGAGTTTCGA----ATTA-GGCTGAAGAC 296

Query 65 GCTGTTGCTAGGGTTGAAACAGGTGGTTGGGAGCttttttt 105
||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 295 GTTTTTGTAGGGTTGAGACCGGTGGTTGGGAGGTTTTTTT 255
```

Figure 4. Comparative sequencing of UBC-895_350 information to the database in genbank

```
Dendrobium catenatum bibenzyl synthase-like (LOC110105791)
Sequence ID: Query_153683 Length: 1173

Score = 21.1 bits(22), Expect = 0.95, Identities = 11/11(100%),
Gaps = 0/11(0%), Strand = Plus/Minus

Query 144 GAAACACCAAG 154
||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 538 GAAACACCAAG 528
```

Figure 5. Comparative sequencing of UBC-895_350 information to the database in genbank

วิจารณ์

ความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ได้มีปริมาณน้อย ทั้งนี้เนื่องจากกล้วยไม้มีสารโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และโพลีฟีนอล (polyphenol) สารละลายที่ได้มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวหนืด สีเขียวเข้ม ระหว่างสกัดดีเอ็นเอสารดังกล่าวมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ได้แก่ ligase, polymerase และ nucleases (Barra *et al.*, 2012) ถึงแม้สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle (1987) นั้นจะสามารถช่วยตกตะกอนกำจัดสารประกอบฟีนอลได้ก็ตาม ความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้ยังมีปริมาณน้อย มีรายงานว่า การเติมสาร polyvinyl pyrrolidone (PVP) โดยสาร PVP จะจับกับสารโพลีแซคคาไรด์และอยู่ในสภาพไม่ละลายน้ำจนแยกชั้นออกมา ส่งผลให้ดีเอ็นเอมีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น (Porebski *et al.*, 1997) และถ้าต้องการให้ได้ดีเอ็นเอที่มีปริมาณมากยิ่งขึ้นต้องเพิ่มปริมาณพืช และเพิ่มปริมาณบัฟเฟอร์ การเพิ่มปริมาณบัฟเฟอร์จะช่วยลดความหนืดของสารละลายในขั้นตอนการแยกดีเอ็นเอได้ (Salzman *et al.*, 1999)

ไพรเมอร์ ISSR ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในกล้วยไม้สกุลหวายได้นั้น เนื่องจากไพรเมอร์ดังกล่าวมีความจำเพาะกับช่วงดีเอ็นเอ หรือยีนหนึ่ง ๆ โดยไพรเมอร์จะต้องจับอยู่บนดีเอ็นเอทั้งสองเส้น ส่วนของดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้เป็นส่วนที่อยู่ระหว่างตำแหน่งไมโครแซทเทลไลต์ หรือ SSR 2 บริเวณที่อยู่ใกล้กัน (สุรินทร์, 2552) การเกิดโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) เป็นผลมาจากไพรเมอร์จับกับช่วงดีเอ็นเอตำแหน่งต่างกันส่งผลทำให้จำนวนและขนาดของดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ไม่เท่ากัน โดยจะแสดงผลในลักษณะการมีหรือไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งต่าง ๆ มากกว่าการเปลี่ยนขนาดของแถบดีเอ็นเอ แถบดีเอ็นเอ 4 แถบ ในการแยกความแตกต่างของกล้วยไม้ทั้ง 2 กลุ่มได้นั้น แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบางแถบไม่ชัดเจน เนื่องจากความเข้มข้นของดีเอ็นเอตั้งต้นมีปริมาณน้อย และเมื่อตัดแถบดีเอ็นเอจากอะกาโรสเจลอาจมีการปนเปื้อนจากแถบดีเอ็นเออื่น หรือปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดออกจากอะกาโรสเจลมีปริมาณน้อย ยากต่อการนำไปวิเคราะห์ลำดับเบส ซึ่งแถบดีเอ็นเอที่ขนาด 350 คู่เบส ที่ได้จากไพรเมอร์ UBC-895 เป็นแถบดีเอ็นเอที่สามารถสกัดดีเอ็นเอออกจากเจลอะกาโรสได้ เมื่อนำมาตรวจสอบเป็นตำแหน่งเดียวกับตำแหน่งที่ให้ความแตกต่าง ความเข้มข้นดีเอ็นเอมีปริมาณเพียงพอต่อการนำไปวิเคราะห์

ลำดับเบสและเป็นไพรเมอร์ที่นำมาตรวจสอบกับกล้วยไม้สกุลหวายที่พบในประเทศไทย ได้แก่ *D. officinale* ซึ่งมีรายงานว่าเป็นกล้วยไม้สกุลหวายชนิดที่พบสาร bibenzyl พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสารกลุ่ม bibenzyl ที่พบในประเทศไทย จึงเลือกแถบดีเอ็นเอดังกล่าวนำไปวิเคราะห์ลำดับเบส ผลการวิเคราะห์ลำดับเบส มีขนาด 289 คู่เบส เมื่อนำมาเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสกับดีเอ็นเออื่น ๆ พบว่าลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอ UBC895_350 ที่ได้มีความเหมือนกับลำดับเบส mRNA ของ *D. catenatum* และ ลำดับเบส *bibenzyl synthase-like* ของ *D. catenatum* ซึ่งระบุว่ามีความเหมือนกับการแสดงออกของยีน *bibenzyl synthase* แต่อย่างไรก็ตามลำดับเบสดังกล่าวไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นยีนที่ควบคุมการแสดงออกของ *bibenzyl synthase* เนื่องจากว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้มาจากเทคนิค ISSR เป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้จีโนมดีเอ็นเอซึ่งเป็นปริมาณดีเอ็นเอทั้งหมด จึงมีส่วนที่ถูกแปลรหัส (translation) และไม่ถูกแปลรหัส และพบว่าลำดับเบสไม่โครแซทเทลไลต์มีการกระจายตัวทั้งจีโนม และการกระจายตัวของไม่โครแซทเทลไลต์ส่วนใหญ่อยู่ในบริเวณที่ไม่ใช่ยีน หรือส่วนนำรหัสของยีน (non-coding region) (สุรินทร์, 2552) แสดงว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่ให้แถบดีเอ็นเอแสดงความแตกต่างของกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสาร และไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl นั้นยังไม่สามารถยืนยันได้ว่าเป็นเครื่องหมายที่มีความเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการผลิตสารกลุ่ม bibenzyl ข้อมูลลำดับเบสที่ได้จึงใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำลำดับเบสที่ได้ไปพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายต่อไป

สรุป

การใช้เทคนิคตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลจำเพาะเจาะจงกับกล้วยไม้สกุลหวาย 7 ชนิด ที่พบในประเทศไทย ด้วยไพรเมอร์ ISSR จำนวน 96 ไพรเมอร์สามารถใช้ได้ทั้งหมด 10 ไพรเมอร์ และได้แถบดีเอ็นเอที่แยกความแตกต่างจนเกิดเป็นพหุสัณฐานในกล้วยไม้สกุลหวายที่พบสาร และไม่พบสารกลุ่ม bibenzyl ได้ 4 แถบ

ตัดแถบดีเอ็นเอขนาด 350 คู่เบส ที่ได้จากไพรเมอร์ UBC-895 ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสมีขนาด 289 คู่เบส พบว่าลำดับเบสที่ได้มีความเหมือนกับลำดับเบส mRNA ของ *D. catenatum* และลำดับเบส *bibenzyl synthase-like* ของ *D. catenatum* ในฐานข้อมูล NCBI จึงสามารถนำข้อมูลลำดับเบสที่ได้ใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ได้รับทุนอุดหนุนการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัย ประเภททุนบัณฑิตศึกษาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติประจำปี 2560

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐดนัย สุเมธาโชติพงศ์ กวรวรรณ ศรีงาม วีนัน บัณฑิตย และ ณัฐา โพธาราณ. 2560. การวิเคราะห์องค์ประกอบของแอนโทไซยานิน และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของดอกกล้วยไม้ช้าง. วารสารเกษตร 33(3): 311-321.
- ยุพิน กลินเกษมพงษ์. 2558. โครงการวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ที่มีศักยภาพเป็นสมุนไพร. รายงานความก้าวหน้าโครงการปี 2558. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- สุรินทร์ ปิยะโชติณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 269 หน้า.
- Barra, M., E. Salazar, M. Beltrán and B. Sagredo. 2012. Simple and robust DNA extraction method for the large-scale analysis of genotypes containing high polyphenolic content, such as landraces of *Solanum tuberosum* and *Zea mays*. Ciencia e Investigación Agraria 39(3): 593-601.

- Bhattacharyya, P., S. Kumaria and P. Tandon. 2015a. Applicability of ISSR and DAMD markers for phyto-molecular characterization and association with some important biochemical traits of *Dendrobium nobile*, an endangered medicinal orchid. *Phytochemistry* 117: 306-316.
- Bhattacharyya, P., S. Kumaria and P. Tandon. 2015b. Phyto-molecular profiling and assessment of antioxidant activity within micropropagated plants of *Dendrobium thyrsiflorum*: a threatened, medicinal orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 122(3): 535-550.
- Chen, X.M., F.F. Wang, Y.Q. Wang, X.L. Li, A.R. Wang, C.L. Wang and S.X. Guo. 2012. Discrimination of the rare medicinal plant *Dendrobium officinale* based on naringenin, bibenzyl, and polysaccharides. *Science China Life Sciences* 55(12): 1092-1099.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19(1): 11-15.
- Hossain, M.M. 2011. Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances-An overview. *Fitoterapia* 82(2): 102-140.
- Kowitdamrong, A., P. Chanvorachote, B. Sritularak and V. Pongrakhananon. 2013. Moscatilin inhibits lung cancer cell motility and invasion via suppression of endogenous reactive oxygen species. *BioMed Research International*, doi: 10.1155/2013/765894.
- Liu, Y. N., S. L. Pan, C.Y. Peng, D.Y. Huang, J. H. Guh, C.C. Chen, C.C. Shen and C.M. Teng. 2010. Moscatilin repressed lipopolysaccharide-induced HIF-1 α accumulation and NF- κ B activation in murine RAW264.7 cells. *Shock* 33(1): 70-75.
- Porebski, S., L.G. Bailey and B.R. Baum. 1997. Modification of a CTAB DNA Extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter* 15 (1): 8-15.
- Salzman, R.A., T. Fujita, K. Zhu-Salzman, P.M. Hasegawa and R.A. Bressan. 1999. An improved RNA isolation method for plant tissues containing high levels of phenolic compounds or carbohydrates. *Plant Molecular Biology Reporter* 17(1): 11-17.
- Sanger, F., S. Nicklen and A.R. Coulson. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74(12): 5463-5467.
- Sritularak, B. and K. Likhitwitayawuid. 2009. New bisbibenzyls from *Dendrobium falconeri*. *Helvetica Chimica Acta* 92(4): 740-744.
- Sritularak, B., M. Anuwat and K. Likhitwitayawuid. 2011a. A new phenanthrenequinone from *Dendrobium draconis*. *Journal of Asian Natural Products Research* 13(3): 251-255.
- Sritularak, B., N. Duangrak and K. Likhitwitayawuid. 2011b. A new bibenzyl from *Dendrobium secundum*. *Zeitschrift für Naturforschung C* 66(5-6): 205-208.
- Tsai, A.C., S.L. Pan, C.H. Liao, J.H. Guh, S.W. Wang, H.L. Sun, Y.N. Liu, C.C. Chen, C.C. Shen, Y.L. Chang and C.M. Teng. 2010. Moscatilin, a bibenzyl derivative from the India orchid *Dendrobium loddigesii*, suppresses tumor angiogenesis and growth *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Letters* 292(2): 163-170.

Yang, L., Z. Wang and L. Xu. 2006. Simultaneous determination of phenols (bibenzyl, phenanthrene, and fluorenone) in *Dendrobium* species by high-performance liquid chromatography with diode array detection. Journal of Chromatography A 1104(1-2): 230-237.

การพัฒนาตาดอกของแวนดามนุวัตินรอบปี

Annual Flower Bud Development of *Vanda* Manuvadee

ถกวรรณ ศิริสวัสดิ์^{1, 2} และ โสระยา ร่วมรังษี^{1, 3*}

Takonwan Sirisawad^{1, 2} and Soraya Ruamrungsri^{1, 3*}

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

¹Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

²Science and Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

³ศูนย์บริการการพัฒนขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จ.เชียงใหม่ 50230

³H.M. The King's Initiative Centre for Flower and Fruit Propagation, Chiang Mai 50230, Thailand

*Corresponding author: Email: sorayaruamrung@gmail.com

(Received: 27 December 2018; Accepted: 30 May 2018)

Abstract: Flowering behavior and histological studies on the development of *Vanda* Manuvadee flower buds were investigated every 2 weeks interval during 2013-2014, to illustrate the periods of flower bud initiation, differentiation and development, which related to environments. Flower buds initiated from mature axillary buds were found almost the year under favorite environment as photoperiod of 9-12 hours/day, temperature range of 18-33°C and relative humidity of 60-96%. Apical shoot meristem of axillary bud changed its growth phase from vegetative to reproductive characters. The leaf and floral primordia at each leaf axil formed while the apical meristem grew, and those developed to bracteoles and florets located on elongated rachis with raceme type inflorescence. Flower bud initiated about 4-6 weeks before emerged through leaf base with slow elongation prior rapid one. It used about 12 weeks average from initiation to first flower opened. A few flower buds developed on the same period, but one or two buds could reach to the flower open while the others wilted. The longevity of inflorescence was average 2.8 weeks. In the period of blooming, new flower buds could occur and develop to mature inflorescence. They reached blooming 3 times per year. The environmental factors during March to April affected young inflorescence wilted, and absent of the flower bud development.

Keywords: Orchid, flower development, flowering, flower bud histology, environmental factors for flowering

บทคัดย่อ: ศึกษาพฤติกรรมการออกดอกของแวนดามนุวดีและศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของตาดอกทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลาหนึ่งปี ระหว่าง พ.ศ. 2555 ถึง 2556 มีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงช่วงเวลาการสร้างและการพัฒนาของตาดอกหรือช่อดอกซึ่งสัมพันธ์กับปัจจัยสภาพแวดล้อม พบว่าตาข้างที่เติบโตเต็มที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นตาดอกได้เกือบทุกช่วงของปีภายใต้สภาพความยาววัน 9-12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 18-33 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 60-96% โดยเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของตาข้างที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อเจริญด้านสืบพันธุ์มีการแบ่งเซลล์และยึดตัวขึ้นเป็นช่อดอก พร้อมกับสร้างใบอ่อนที่เจริญไปเป็นกาบรองดอกและสร้างดอกอ่อนที่ชอกของใบอ่อนบนแกนของช่อดอกแบบกระจะ ระยะนี้ช่อดอกอ่อนยืดยาวอย่างช้า ๆ ใช้เวลาประมาณ 4-6 สัปดาห์ จึงเจริญออกมาพ้นกาบใบที่หุ้มลำต้น หลังจากนั้นช่อดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ใช้เวลาพัฒนาจนถึงดอกแรกบานประมาณ 12 สัปดาห์ ในช่วงเวลาเดียวกันอาจมีตาดอกพัฒนาขึ้นหลายตา แต่มีเพียง 1-2 ตา ที่สามารถพัฒนาจนกระทั่งดอกบานได้ ช่อดอกมีอายุการบานเฉลี่ย 2.8 สัปดาห์ ขณะดอกบานเต็มที่พบว่าเริ่มมีการพัฒนาของตาดอกรุ่นใหม่ซึ่งจะพัฒนาเป็นช่อดอกที่สมบูรณ์ต่อไป ซึ่งมีการพัฒนาถึงดอกบาน 3 ครั้งต่อปี โดยปัจจัยสภาพแวดล้อมในช่วงเดือนมีนาคมถึงเมษายนมีผลให้ตาดอกฝ่อและไม่มีการพัฒนาขึ้นในช่วงนี้

คำสำคัญ: กล้วยไม้ การพัฒนาของตาดอก การออกดอก เนื้อเยื่อวิทยาของตาดอก ปัจจัยสภาพแวดล้อมของการออกดอก

คำนำ

แวนดาเป็นกล้วยไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนถึงกึ่งร้อนบริเวณทางตอนใต้ของจีน อินเดีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ถึงตอนเหนือของออสเตรเลีย ลำต้นมีลักษณะการเจริญแบบ monopodial stem ที่มีรากอากาศ (aerial root) มีทั้งอาศัยอยู่บนพื้นดินและแบบอิงอาศัยเจริญเติบโตได้ดีในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 60-80% (Grove, 1995) สามารถออกดอกได้หลายครั้งในรอบปี โดยช่อดอกออกทางด้านข้างของลำต้น เนื่องจากกล้วยไม้กลุ่มแวนดามีสีสันสวยงาม มีความหลากหลาย ช่อดอกใหญ่ ดอกบานได้นานถึง 3 สัปดาห์ขึ้นไปและปลูกเลี้ยงง่ายจึงเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่ได้รับความนิยมในประเทศไทยมีการปลูกเลี้ยงแวนดาเป็นการค้าทั้งขายเป็นไม้ตัดดอกและขายต้นที่ให้ดอกพร้อมบานซึ่งได้รับความนิยมและเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ ที่ผ่านมามีบริษัทผู้ส่งออกประสบปัญหาเกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพผลผลิตให้สม่ำเสมอและการผลิตให้สอดคล้องกับความต้องการของตลาด (คณะกรรมการกล้วยไม้แห่งชาติ กรมส่งเสริมการเกษตร, 2553) ซึ่งยังขาดข้อมูลพื้นฐานสำคัญเกี่ยวกับการออกดอกและปัจจัยที่มีผลต่อการออกดอกของพืชสกุลนี้

การออกดอกเป็นระยะที่มีความสำคัญในวงจรชีวิตพืช เมื่อพันธุกรรมเอวาร์วียและมีอาหารสะสมเพียงพอจะเปลี่ยนแปลงการเจริญทางลำต้นไปเจริญด้านสืบพันธุ์ตามช่วงเวลาที่เหมาะสมเพื่อให้ดอกสามารถเจริญเติบโตและผลิตเมล็ดสำหรับสืบพันธุ์ต่อไปได้ ซึ่งมีการชักนำกระบวนการออกดอกจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ความยาววัน คุณภาพแสง รวมถึงปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องที่เป็นสัญญาณกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเซลล์พืช ทำให้เนื้อเยื่อเจริญเปลี่ยนแปลงเป็นจุดกำเนิดดอก (flower initiation) มีการสร้างอวัยวะที่เป็นองค์ประกอบของดอก (flower differentiation) และมีการพัฒนาดอกจนกระทั่งดอกบานพร้อมผสมเกสร (anthesis) รวมถึงกิจกรรมต่าง ๆ ที่สนับสนุนการพัฒนาของดอก ผล และเมล็ด (Arditti, 1992; Thomas, 1993; Hew and Yong, 2004) เช่น เรพชิตต้องการอุณหภูมิต่ำ 12-25 องศาเซลเซียส ช่วงเวลาหนึ่งเพื่อกระตุ้นการแทงช่อดอก (ภรณ์พรพรณ และคณะ, 2560) ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในรอบปีมีอิทธิพลให้พืชมีฤดูกาลออกดอกแตกต่างกัน เช่น *Rhynchosstylis gigantea* เริ่มแทงช่อดอกเมื่อเริ่มเข้าฤดูหนาว ชักนำการออกดอกโดยสภาพวันสั้น 10 ชั่วโมงร่วมกับอุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส (วิทยา, 2547) ขณะที่ *Cattleya* ชักนำให้สร้างตาดอกได้ดีในสภาพวันสั้น

8-9 ชั่วโมง โดยสภาพวันยาวมีการเจริญทางลำต้น *Cymbidium* ต้องการสภาพกลางวันเย็นที่อุณหภูมิ 7-13 องศาเซลเซียสและแสงแดดจัดตอนกลางวันนานประมาณ 3 เดือนในการชักนำให้ออกดอก *Phalaenopsis* เจริญเติบโตทางลำต้นได้ดีที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส และออกดอกเมื่อได้รับอุณหภูมิในเวลากลางคืน 12-17 องศาเซลเซียส อุณหภูมิกลางวันไม่เกิน 27 องศาเซลเซียส นาน 2-5 สัปดาห์ โดยความเข้มแสง 160, 60 และ 8 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที มีผลให้จะเริ่มแทงช่อดอกเมื่อ 28, 34 และ 42 วัน ตามลำดับ (Arditti, 1992; Wang, 1995) แวนดาใบกลม (terete *Vanda*) และแวนดาก้างปลา (semi-terete *Vanda*) ออกดอกได้ดีเมื่อปลูกในสภาพแสงแดดจัดตลอดวัน หากได้รับแสงแดดน้อยเกินไปส่งผลให้ออกดอกน้อยครั้ง ดอกเล็ก สีซีด และจำนวนดอกต่อช่อสั้น (Grove, 1995) หวายตะมอยหรือแล้พระอินทร์ (*Dendrobium crumenatum*) มีการพัฒนาของดอกจนเกือบสมบูรณ์แล้วจะหยุดการพัฒนาจนกระทั่งได้รับน้ำฝนดอกจึงพัฒนาต่อถึงดอกบานหลังจากได้รับน้ำฝนแล้ว 9 วัน ทำให้กล้วยไม้ชนิดนี้ในแหล่งนั้น ๆ บานพร้อมกันเป็นจำนวนมาก ซึ่งมีประโยชน์ในการดึงดูดแมลงให้มาช่วยผสมเกสร (Arditti, 1992) เป็นต้น

การเปลี่ยนแปลงจากการเจริญเติบโตของยอดเป็นดอกที่สังเกตเห็นได้ทางเนื้อเยื่อวิทยา ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเรียงตัวของเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอดและการพัฒนาของใบเปลี่ยนเป็นการสร้างวงชั้นต่าง ๆ ของดอกที่ต่อมากลายเป็นกลีบเลี้ยง กลีบดอก วงเกสรเพศผู้และวงเกสรเพศเมีย (Thomas, 1993) สำหรับแวนดาซึ่งเป็นประเภทดอกช่อสั้น ตายอดที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นตาดอกมีรูปแบบการพัฒนาลำยการเจริญเติบโตของกิ่งก้าน โดยเกิดการยึดตัวของเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอดเป็นแกนช่อดอกและสร้างดอกอ่อนที่ช่อใบ (Arditti, 1992; Thomas, 1993)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพฤติกรรม การออกดอกของแวนดาในรอบปี โดยศึกษาช่วงเวลาการ พัฒนาของตาดอกระยะต่าง ๆ หาช่วงเวลาการเกิดการชัก นำให้สร้างตาดอกและการพัฒนาของช่อดอกอ่อน รวมถึง อธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง

โดยศึกษาในแวนตามนวดิ (*Vanda Manuvadee*) ซึ่งผล การศึกษาจะเป็นข้อมูลพื้นฐานและเป็นแนวทางใน การศึกษาการควบคุมการออกดอกของแวนดาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำต้นกล้วยไม้พันธุ์แวนตามนวดิซึ่งเป็นลูกผสม ของ *Vanda Pomipimol* X *Vanda coerulea* (The Royal Horticultural Society, 2011) อายุ 3-4 ปี และเคยออก ดอกแล้ว 1-2 ปี ซึ่งยังสามารถออกดอกได้ดี มาปลูกใน สภาพโรงเรือนพรางแสง 50% ด้านข้างเปิดออกโดยรอบ และสภาพพื้นเป็นดิน ตำแหน่งที่ตั้งละติจูด 18° 42' 51.5" N และลองจิจูด 98° 55' 13.1" E ในบริเวณศูนย์บริการ การพัฒนาขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจาก พระราชดำริ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ มีการให้น้ำ วันละ 2 ครั้งในตอนเช้าและเย็น ยกเว้นช่วงมีฝนรดน้ำวัน ละ 1 ครั้ง และให้ปุ๋ย N-P₂O₅-K₂O อัตราส่วน 21-21-21 ทางใบสัปดาห์ละครั้ง เริ่มศึกษาในเดือนมิถุนายน 2555 ถึงเดือนพฤษภาคม 2556 บันทึกระยะเวลาที่พบช่อดอก อ่อนที่ช่อใบและวัดการเจริญเติบโตของช่อดอกทุก 2 สัปดาห์จนถึงดอกสุดท้ายบาน โดยวัดความยาวจากโคน ช่อที่ติดกับลำต้นถึงปลายช่อดอก จำนวน 20 ต้น พร้อม กับบันทึกความยาววัน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ใน รอบปีด้วยตัวลงบันทึกข้อมูล (ชื่อการค้า HOBO external data logger รุ่น U12) ติดตั้งบริเวณที่ปลูกพืชทดลองสูง จากพื้น 170 เซนติเมตร ระดับต้นพืช และเก็บตัวอย่างตา ข้างหรือช่อดอกอ่อนที่อยู่เหนือช่อดอกสุดท้ายที่บานแล้ว ครั้งละ 3 ต้น ต้นละ 3 ตำแหน่ง (ตัวอย่างตาดอกแต่ละ ครั้งไม่ใช่ต้นเดียวกัน) ตั้งแต่เริ่มทำการศึกษาด้านเดือน มิถุนายนและระยะที่เริ่มมีการพัฒนาของตาดอกในรอบ ต่อ ๆ ไปจนถึงช่อดอกยาว 2 เซนติเมตร นำตาข้างที่ตัด ออกมาแช่ในสารละลายรักษาสภาพเซลล์ 50% FAA (formalin-acetic acid- alcohol) นาน 2 สัปดาห์ จากนั้น นำไปผ่านลำดับขั้นตอนเพื่อดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) โดยแช่ตามลำดับความเข้มข้น 50, 70, 85, 95 และ 100% ของสารละลาย TBA (tert-butyl alcohol procedure) ขั้นตอนละ 24 ชั่วโมง และแทนที่ด้วย พาราฟินเหลว : TBA สัดส่วน 1 : 1 (Johansen, 1940)

จากนั้นนำตัวอย่างตาแช่ในพาราฟิน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ก่อนย้ายมาแช่ในพาราฟินบริสุทธิ์ (ซื้อการค้า paraplax) จึงนำชิ้นส่วนตัวอย่างไปฝังในแท่งพาราฟิน (paraffin embedding) และตัดด้วยเครื่องไมโครทอม (rotary microtome) ตามแนวยาว (longitudinal section) ที่ความหนา 20 ไมโครเมตร เป็นแผ่นต่อเนื่อง จากนั้นนำเนื้อเยื่อวางบนกระดาษลอไรด์ ยึดด้วยสารละลายไซเทกซ์ ก่อนนำไปผ่านขั้นตอนละลายพาราฟินและย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลิน (hematoxylin) แล้วจึงศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง Olympus รุ่น CX31 พร้อมอุปกรณ์บันทึกภาพ รุ่น DP21

ผลการศึกษา

การพัฒนาของตาดอก

เมื่อเริ่มศึกษาการออกดอกของแวนดามนูวดีในสัปดาห์แรกของเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2555 พบว่าตาข้างที่อยู่เหนือช่อดอกเก่ามีลักษณะนูนเล็กน้อยอยู่ในระยะพักตัว

(ภาพที่ 1) เมื่อตัดเนื้อเยื่อของตาตามแนวยาว พบว่าตาดังกล่าวยังไม่พัฒนาเป็นตาดอก สังเกตจากเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอด (apical meristem) ของตาข้างที่มีลักษณะเป็นโดมครึ่งวงกลม อยู่ในระดับเดียวกับกาบหุ้มตา (bud scales) และกาบหุ้มตาซ้อนติดกัน (ภาพที่ 2)

เมื่อระยะ 2 สัปดาห์ต่อมา ตาข้างบริเวณข้อที่ 1-3 เริ่มนูนขึ้นและพบกาบหุ้มตาเป็นสีเขียว (ภาพที่ 3-A) เมื่อตัดเนื้อเยื่อตาตามแนวยาว พบว่าตาจากข้อที่ 1 และ 2 เนื้อเยื่อปลายยอด (shoot apex) ยึดขึ้น และกาบหุ้มตาชั้นในยกตัวสูงขึ้นเล็กน้อย (ภาพที่ 4-A) มีการสร้าง leaf primordia (ภาพที่ 4-B) ซึ่งเป็นลักษณะที่เริ่มมีการพัฒนาเป็นช่อดอก สำหรับตาจากข้อที่ 3 ซึ่งอยู่ตำแหน่งข้อบนมีลักษณะภายนอกค่อนข้างเรียบกว่าตาที่อยู่ต่ำกว่า (ข้อที่ 1 และ 2) shoot apex ยึดขึ้นเล็กน้อยแต่ยังไม่มี leaf primordia (ภาพที่ 5-A) ดังนั้นช่วงเวลานี้จึงน่าจะเป็นช่วงที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากตาใบเป็นตาดอก

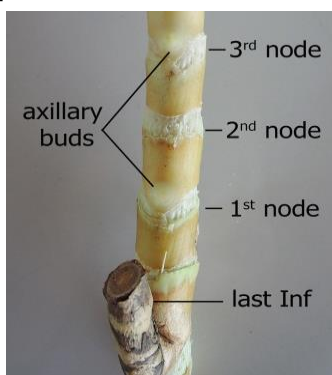


Figure 1. Three axillary buds above last inflorescence position look inactive in early June (Inf: inflorescence)

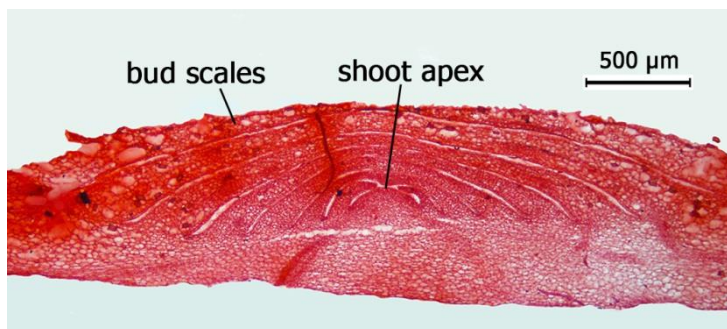


Figure 2. Longitudinal section of axillary bud of *Vanda Manuvadee* at the beginning observation in early June showed prior to the flower bud with shoot apex located on base line of bud scales

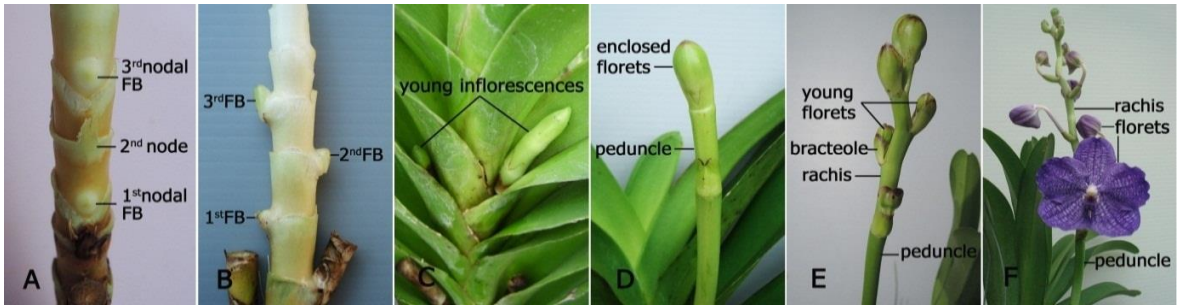


Figure 3. The developmental phases of *Vanda Manuvadee* inflorescence; A) buds in early development, B) developing flower buds (FB) inside the enclosed leaves, C) very young inflorescence emerged at leaf axil, D) rapid elongation of peduncle with enclosed florets, E) young florets were separated with rachis elongation, and colour appearing latter, and F) the first flower open phase

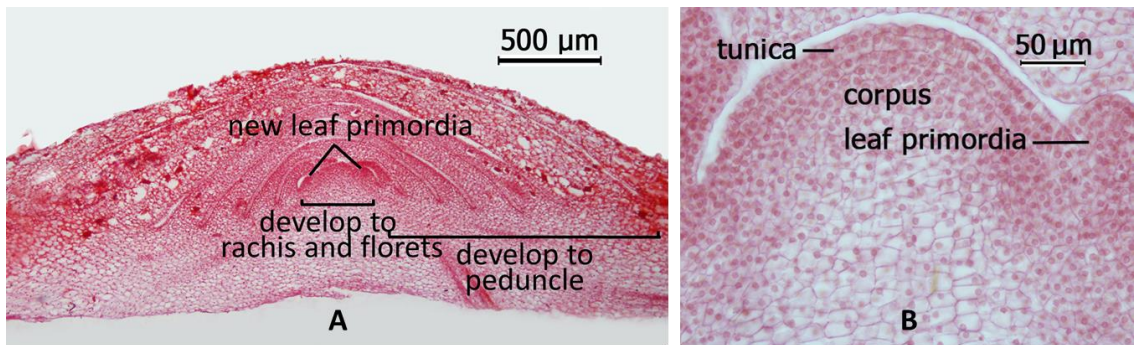


Figure 4. The initial flower bud with developing at apical dome (A), and cells arrangement in apical shoot meristem and leaf primordia formation (B)

ระยะปลายเดือนมิถุนายน (สัปดาห์ที่ 4) ตาดอกทั้งสามตามีขนาดใหญ่ขึ้น ความสูงเฉลี่ย 0.3 เซนติเมตร มีสีเขียว ปลายด้านบนของตาเรียว (ภาพที่ 3-B) shoot apex ยึดตัวและบิดตัวในแนวตั้งขึ้น (ภาพที่ 5-C)

ระยะกลางเดือนกรกฎาคม (สัปดาห์ที่ 6) ตาดอกมีขนาดใหญ่ ความยาวเฉลี่ย 0.6 เซนติเมตร และแทรกตัวออกจากกาบใบที่ห่อลำต้น ระยะนี้ shoot apex มีการพัฒนายาวขึ้นและสร้าง leaf primordia เพิ่มขึ้นอีก 1 คู่ (LP (2)) และพบกลุ่มเซลล์จุดกำเนิดดอกอ่อน (flower primordia) พัฒนาขึ้นที่ซอก leaf primordia ที่สร้างใหม่ชั้นแรก (LP(1)) (ภาพที่ 5-D และ E)

ระยะปลายเดือนกรกฎาคม (สัปดาห์ที่ 8) ตาดอกพัฒนาเป็นช่อดอกอ่อน (young inflorescence) มีปลายเรียว และเห็นข้อปล้องชัดเจน ความยาวเฉลี่ย

1.0 เซนติเมตร (ภาพที่ 3-C) shoot apex มีการพัฒนายาวขึ้นมาก สร้าง leaf primordia เพิ่มขึ้นอีก 2 คู่ (LP) และสร้างดอกอ่อนเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 5-F) โดยดอกอ่อนสร้างขึ้นก่อนที่ leaf primordia ชั้นแรกพัฒนาเป็นดอกที่สมบูรณ์ซึ่งสามารถเห็นดอกอ่อนชัดเจนขึ้นในตำแหน่งล่างของข้อ ส่วน leaf primordia ชั้นในสร้างดอกขึ้นภายหลังโดยอยู่ส่วนบนของข้อซึ่งดอกยังพัฒนาไม่สมบูรณ์

หลังจากช่อดอกอ่อนยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ส่วนปล้องของก้านช่อยาวขึ้นมากทำให้ช่อดอกอ่อนแสดงการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยดอกอ่อนอยู่รวมที่ปลายช่อดอกห่อหุ้มด้วยกาบหุ้มดอกที่เจริญจาก leaf primordia (ภาพที่ 3-D และ 5-G) จากนั้นใช้เวลา 2 สัปดาห์ เนื้อเยื่อระหว่างข้อของแกนช่อดอกมีการยึดตัวทำ

ให้ความยาวเพิ่มขึ้น ดอกตูมแยกห่างกันและเจริญเติบโตพ้นจากกาบหุ้มดอก (ภาพที่ 3-E และ 5-H) แล้วจึงเริ่มเห็นสีของกลีบดอกและสีปรากฏชัดเจนยิ่งขึ้นเมื่อดอกเจริญเติบโตมากขึ้น หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ดอกเริ่มบาน โดยบานจากดอกตำแหน่งล่างก่อน (ภาพที่ 3-F และ 5-I) และทยอยบานวันละ 1-2 ดอกจนถึงดอกตำแหน่งปลายสุด ซึ่งใช้เวลาการบานทั้งหมดเฉลี่ย 2.8 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาดังกล่าวขึ้นกับจำนวนดอกย่อยที่มีจำนวนดอก

ย่อยเฉลี่ย 14 ดอกต่อช่อ ซึ่งใช้เวลาตั้งแต่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเป็นตาดอกถึงดอกเริ่มบานเฉลี่ย 12 สัปดาห์ หรือตั้งแต่เริ่มเห็นช่อดอกอ่อนแทงออกมาถึงดอกแรกบานใช้เวลาเฉลี่ย 6.1 สัปดาห์ ช่อดอกมีอายุเฉลี่ย 4.3 สัปดาห์ ดอกย่อยมีอายุเฉลี่ย 2.8 สัปดาห์ ช่อดอกมีความยาวเฉลี่ย 46.24 เซนติเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเฉลี่ย 10.54 เซนติเมตร การเจริญเติบโตของช่อดอกแสดงด้วยกราฟความยาวของช่อดอก (ภาพที่ 5)

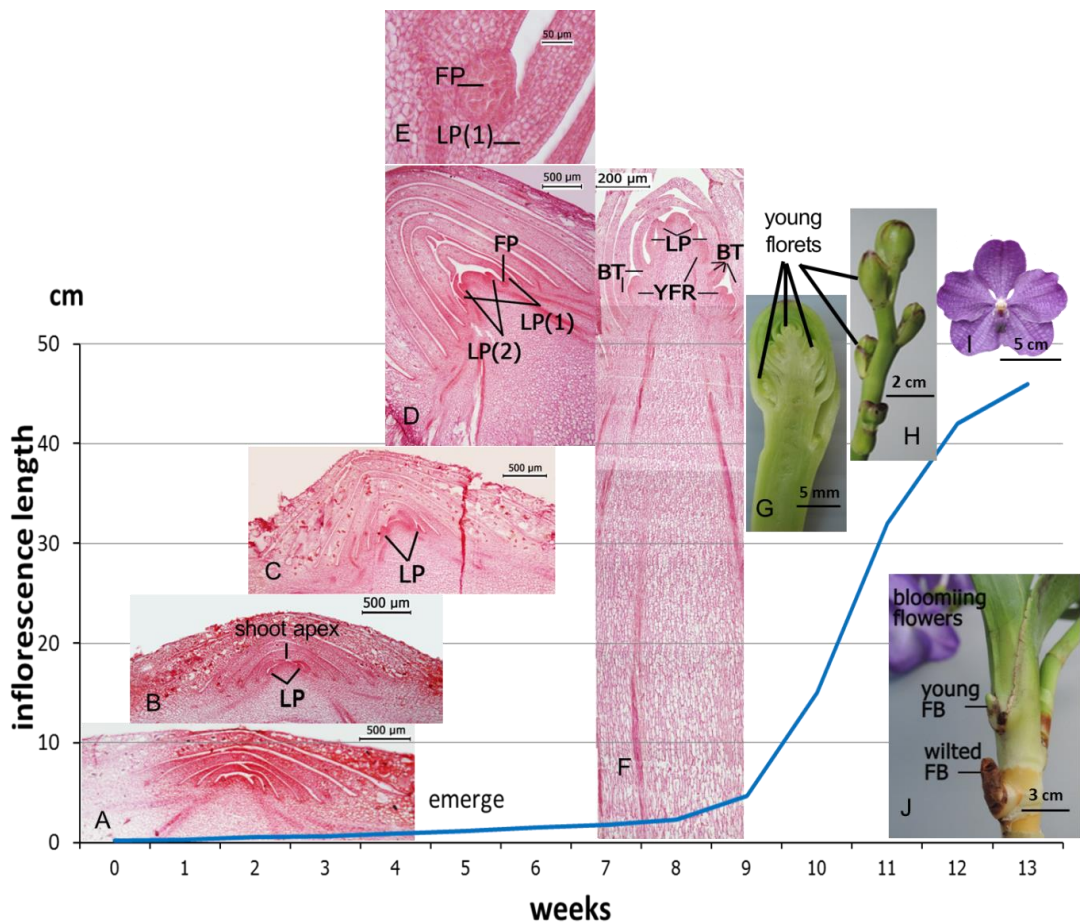


Figure 5. The flower bud differential and developmental phases of *Vanda Manuvadee* with growth curve (A-F) longitudinal sections of flower buds after its initiation until emerging through leaf base; A) prior to elongation of shoot apex, B) inflorescence axis was starting to elongate and beginning of the leaf primordia formation, C) axis was bending up with the floral primordia formation, D) inflorescence was elongating further and flower primordia appeared in young leaf axils, E) a flower primordium, F) further axis elongation and florets development, G) florets were closely in floral bracts, H) young inflorescence elongate with each floret, I) flower bloomed, and J) the new flower bud had emerged during the flower opening. (LP: leaf primordia, FP: flower primordia, YFR: young floret, BT: bracteole, FB: flower bud)

ระหว่างการพัฒนาของตาดอกหรือช่อดอกอ่อน มักพบการฝ่อของตาดอกหรือช่อดอกอ่อนที่มีขนาดไม่เกิน 3 เซนติเมตร โดยมีตาดอกเจริญเติบโตจนถึงระยะดอกบานได้ 1-2 ช่อ หากช่อดอกพัฒนาจนดอกย่อยแยกจากกันแล้วมักไม่มีตาดอกใหม่เกิดขึ้นมาอีก จนกระทั่งถึงระยะที่ดอกกำลังบานจึงพบว่ามิตาดอกรุ่นใหม่พัฒนาขึ้นแล้วแต่ยังไม่เจริญแทรกกาบใบออกมา (ภาพที่ 5-6) ซึ่งตาดอกมีการพัฒนาเป็นช่อดอกต่อไปตามรูปแบบการพัฒนาที่กล่าวข้างต้น

การออกดอกและปัจจัยสภาพแวดล้อม

แวนตามนวดิสามารถมีดอกได้ 3 ครั้งต่อปี ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงกลางเดือนมีนาคม (ภาพที่ 6-A)

ในสภาพแวดล้อมที่มีความยาววัน 9-12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 18-33 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ในเวลากลางวัน 60-78% กลางคืน 80-96% สำหรับช่วงกลางเดือนมีนาคมถึงเมษายน ที่มีความยาววัน 12-13 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27-34 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ในเวลากลางวัน 55-65% พบตาดอกหรือช่อดอกอ่อนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและฝ่อ และไม่มีช่อดอกใหม่เจริญออกมาในช่วงนี้ (ภาพที่ 6) เมื่อพิจารณาจากเนื้อเยื่อตาข้าง พบว่า shoot apex ไม่ยืดขึ้น คล้ายยังไม่เปลี่ยนเป็นตาดอก นอกจากนี้ยังพบตาดอกและช่อดอกอ่อนจำนวนมากเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและไม่เจริญเติบโตหลังจากผ่านเดือนมกราคม (ภาพที่ 7)

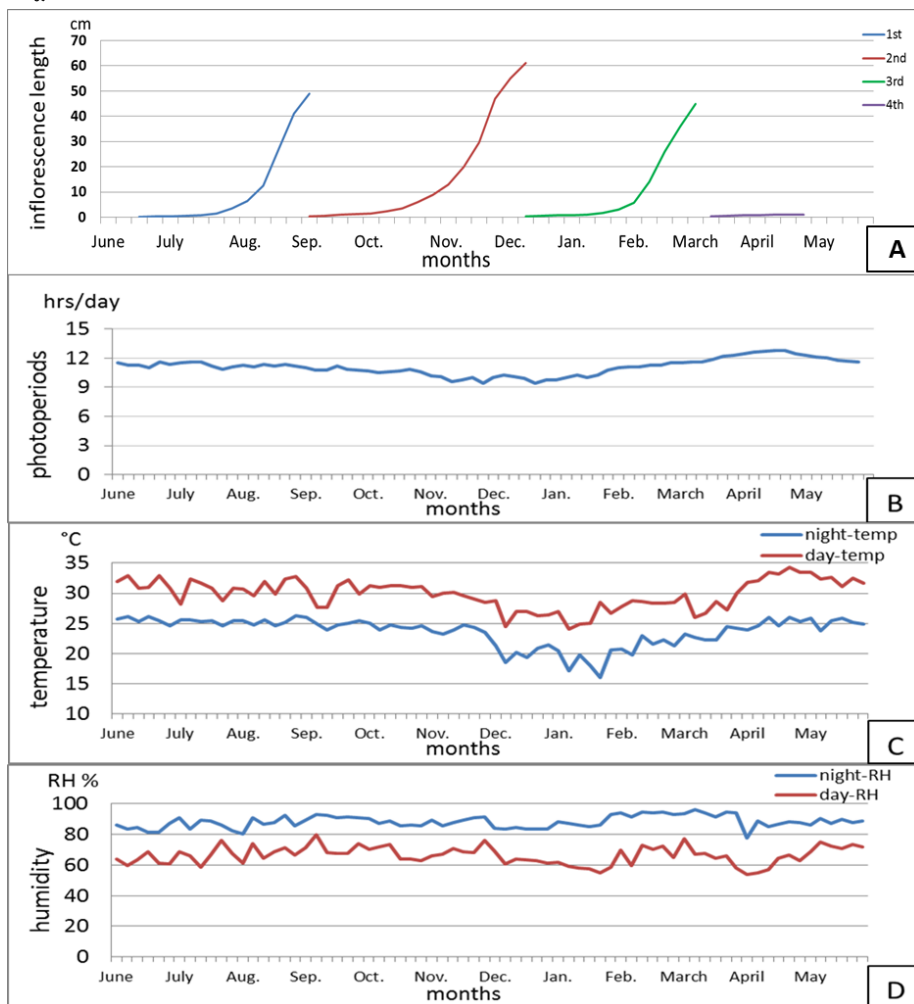


Figure 6. The growth of *Vanda Manuvadee* inflorescences (A), photoperiods (B), night and day-temperatures (C), and relative humidity (D) measured in greenhouse during 2013-2014



Figure 7. Flower blasting during January and February

การพัฒนาของตาดอก

แวนตามนวดี้มีตาดอกเป็นช่อแบบกระจับ (raceme) โดยเรียงเวียนบนแกนช่อ ดอกมีลักษณะกลมแบน สีม่วงครามและมีลายเส้นตัดกันเป็นช่อง (tessellation) ต้นแวนตามนวดี้ที่อายุ 2 ปีขึ้นไปจึงสามารถออกดอกได้ โดยมีช่อดอกอ่อนเจริญขึ้นที่ช่อใบประมาณเดือนกรกฎาคม ตุลาคม และมกราคม ช่วงเวลาที่ดอกบานอยู่ในช่วงประมาณเดือนกันยายนถึงกลางเดือนมีนาคม เมื่อพบช่อดอกเจริญออกจากช่อใบแสดงว่าตาดอกนั้นเกิดการพัฒนาริขึ้นก่อนแล้วประมาณ 4-6 สัปดาห์ ดังนั้นช่อดอกที่เจริญขึ้นที่ช่อใบในเดือนกรกฎาคม (ภาพที่ 6-A) น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นตาดอกตั้งแต่เดือนมิถุนายน ซึ่งตาในสัปดาห์ที่สามสามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงเป็นตาดอกได้จากลักษณะของ shoot apex ที่สูงขึ้นเจริญเป็นแกนช่อดอก (rachis) (ภาพที่ 4-A และ 5-A) ขณะที่มีการเจริญของ shoot apex มีการสร้าง leaf primordia (ภาพที่ 4-B และ 5-B) และสร้าง flower primordia ที่มีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงของดอกบนแกนช่อดอก (ภาพที่ 5-F-H) ขณะที่เนื้อเยื่อส่วนฐานระหว่างกาบหุ้มตาที่มีอยู่เดิม (ชั้นที่ 1-7) จะเจริญเป็นก้านช่อดอก (peduncle) (ภาพที่ 4-A) รูปแบบการพัฒนานี้คล้ายกับการเจริญเติบโตของยอดที่มีใบอ่อนที่ข้อและสร้างตาข้าง (axillary buds) ที่ช่อใบ (Arditti, 1992; Glover, 2014; Thomas, 1993) ซึ่งพบการพัฒนาของช่อดอกในลักษณะเช่นนี้ในกล้วยไม้ชนิดอื่นที่มี

ช่อดอกแบบกระจับ เช่น เอื้องพร้าว (วัชรภรณ์ และ พิมพิไล, 2551) กล้วยไม้เอื้องกลีบม้วน เอื้องหางกระรอก เอื้องฉัตรมรกต เอื้องมรกต และสิญจกุล (อภิชัย, 2553)

การเจริญเติบโตในระยะแรกหลังจากมีการเปลี่ยนแปลงเป็นตาดอก เป็นช่วงที่มีกิจกรรมการสร้างดอกอ่อนและส่วนประกอบต่าง ๆ ของดอก ระยะนี้ความยาวช่อดอกอ่อนเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ โดยเฉลี่ย 0.3 เซนติเมตร ต่อสัปดาห์ จนกระทั่งเมื่อเป็นช่อดอกอ่อนยาวประมาณ 1.8 เซนติเมตรแล้ว ความยาวจึงเพิ่มเร็วขึ้น (ภาพที่ 5) เป็นไปตามที่ Thomas (1993) ระบุว่าระยะที่มีการสร้างส่วนประกอบของดอก มีการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของใบในการเจริญของยอดเป็นการสร้างวงชั้นของดอกโดยไม่มีการเจริญด้านความยาวระหว่างข้อ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการนำอาหารที่สร้างขึ้นและที่สะสมไปใช้ระหว่างการสร้างดอกและส่วนประกอบที่ต้องใช้อาหารดังกล่าว เมื่อสร้างดอกอ่อนและส่วนประกอบของดอกครบแล้ว (ภาพที่ 5-F) อาหารและพลังงานจึงถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโตทางความยาวของก้านช่อดอกและแกนของช่อดอก (Arditti, 1992; Hew and Yong, 2004) ทำให้ระยะต่อมาความยาวของช่อดอกอ่อนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (เฉลี่ย 8.7 เซนติเมตรต่อสัปดาห์) ขณะที่ดอกอ่อนมีการเจริญเติบโตเพิ่มขนาดขึ้นและยึดพันจากกาบหุ้มดอกกลายเป็นดอกที่สมบูรณ์และมีการยึดของแกนดอกมีผลให้ดอกย่อยแยกห่างกันดังภาพที่ 5-G และ H

การออกดอกและปัจจัยสภาพแวดล้อม

ความยาววันเป็นปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของตาดอกในพืชหลายชนิด (Arditti, 1992; Glover, 2014; Hew and Yong, 2004) Grove (1995) รายงานว่ากล้วยไม้สกุลแวนดาต้องการความยาววันอย่างน้อย 11 ชั่วโมงต่อวันในการออกดอกและการเจริญเติบโตทางลำต้นที่ดี เช่น *Vanda Miss Joaquim* สำหรับแวนดามนุวัตินสามารถปลูกและออกดอกได้ในสภาพความยาววัน 9-12 ชั่วโมงต่อวันในช่วงเดือนมิถุนายนถึงกุมภาพันธ์ ส่วนเดือนมีนาคมและเมษายนแม้ว่ามีความยาววันยาวกว่า 11-12 ชั่วโมงต่อวัน แต่ไม่มีการออกดอก (ภาพที่ 6-A และ B) แสดงว่านอกจากความยาววันเป็นปัจจัยชักนำให้เกิดตาดอก (flower induction) แล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่มีอิทธิพลส่งเสริมการพัฒนาของตาดอกและการยืดตัวของช่อดอก (flower development and elongation) ทำนองเดียวกับ *Arabidopsis* ที่มีสภาพวันยาวเป็นปัจจัยสำคัญชักนำให้เกิดตาดอกและต้องการสภาพอุณหภูมิที่นานาน 1-3 เดือนเพื่อส่งเสริมการตอบสนองของสภาพความยาววันในการออกดอก หรือสตรอร์เบอริที่ออกดอกในสภาพวันสั้น และต้องการอุณหภูมิ 10-18 องศาเซลเซียสร่วมด้วย โดยมีกระบวนการทางสรีรวิทยาหลายอย่างที่ร่วมกันควบคุมการออกดอก (Glover, 2014)

Grove (1995) กล่าวว่ากล้วยไม้สกุลแวนดาประเภทไบแบนสามารถเจริญเติบโตและออกดอกได้ในสภาพอุณหภูมิกลางวัน 27-35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิกลางคืน 16-21 องศาเซลเซียส ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิกลางวันและกลางคืนไม่ควรเกิน 8 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสัมพัทธ์สูง 60-80% นอกจากนี้ Sirisawad *et al.* (2015) รายงานว่าแวนดามนุวัตินที่ปลูกในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิที่ 25-30 องศาเซลเซียส สามารถมีช่อดอกอ่อนในเดือนมีนาคมซึ่งพัฒนาได้จนดอกบานและช่อดอกบานนานขึ้น สำหรับศึกษานี้เป็นการปลูกในสภาพโรงเรือนธรรมชาติ ในเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายนมีอุณหภูมิตอนกลางคืนค่อนข้างสม่ำเสมอประมาณ 23-26 องศาเซลเซียส อุณหภูมิตอนกลางวัน 27-33 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6-C) และความชื้นสัมพัทธ์ 60-90% (ภาพที่ 6-D) ส่งผลให้แวนดามนุวัตินสามารถเจริญเติบโตและตาดอกและช่อดอกอ่อนพัฒนาได้ดี

แต่สภาพอุณหภูมิต่ำหรือสูงเกินไปมีผลให้ตาดอกชะงักการเจริญเติบโต

การพัฒนาช่อดอกในช่วงเดือนกันยายนถึงธันวาคมใช้ระยะเวลาดังแต่สร้างตาดอกจนกระทั่งดอกย่อยดอกแรกบานนานกว่าการพัฒนาในช่วงเดือนมิถุนายนถึงกันยายนประมาณ 2-3 สัปดาห์ และมีอายุดอกนานขึ้น (ภาพที่ 6-A) น่าจะเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมในเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคมที่มีอุณหภูมิตอนกลางคืนลดลงอยู่ระหว่าง 18-25 องศาเซลเซียสและมีความชื้นสัมพัทธ์สูง 60-89% (ภาพที่ 6-A, C และ D) มีผลให้ปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ peroxidase และ catalase ในกระบวนการหายใจ การสังเคราะห์ mRNA และโปรตีนดำเนินไปอย่างช้า ๆ (Arditti, 1992; Glover, 2014; Hew and Yong, 2004) ซึ่งส่งผลให้การพัฒนาของตาดอกและช่อดอกอ่อนเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ และใช้ระยะเวลาเจริญเติบโตนานขึ้น ผลดังกล่าวสอดคล้องกับกนกวรรณและคณะ (2561) รายงานว่าแวนดาลูกผสมทั้งกรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยและไม่ได้รับปุ๋ยมีระยะเวลาออกดอกจนถึงดอกแรกบานช่วงที่ 2 ในเดือนธันวาคมถึงมกราคมนานกว่าระยะเวลาที่ใช้ในช่วงที่ 1 ในเดือนสิงหาคมถึงกันยายน Yen *et al.* (2008) สรุปว่าอุณหภูมิและเวลาที่ได้รับความเย็นมีผลร่วมกันต่อระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาช่อดอก *Dendrobium Nobile* จนถึงดอกบาน และการพัฒนาช่อดอกของ *Oncidium Goldiana* ใช้เวลาในการพัฒนาช่อดอกเฉลี่ย 56-70 วัน โดยอัตราการเจริญเติบโตขึ้นกับสภาพการปลูกเลี้ยงและสภาพแวดล้อม (Hew and Yong, 2004)

ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเช่นในช่วงเดือนมกราคมตาดอกและช่อดอกอ่อนจำนวนมากไม่เจริญเติบโตและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ช่วงดังกล่าวอุณหภูมิกลางคืนลดต่ำถึง 16 องศาเซลเซียส ประกอบกับความชื้นสัมพัทธ์ตอนกลางวันต่ำกว่า 60% จึงมีผลกระทบต่อการพัฒนาของตาดอกและช่อดอกอ่อนตั้งแต่ระยะที่เพิ่งเจริญออกจากกาบใบจนถึงระยะที่สร้างส่วนประกอบของดอกย่อยแล้วและก้านช่อดอกยืดขึ้นมีความยาวกว่า 10 เซนติเมตร (ภาพที่ 7 ตำแหน่งที่ 1-3) เมื่อพ้นสภาพดังกล่าวแล้วมีตาดอกใหม่พัฒนาขึ้นอีก

(ภาพที่ 7 ตำแหน่งที่ 4 และ 5) ซึ่งพบการฝ่อของตาดอกเกิดได้มากใน *Dendrobium* เมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำเช่นเดียวกัน (Yen et al., 2008)

สำหรับช่วงเดือนมีนาคมถึงเมษายน ซึ่งมีอุณหภูมิสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง อุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 34 องศาเซลเซียส และตอนกลางวันมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำมีผลให้ตาดอกและช่อดอกอ่อนฝ่อ สภาพอุณหภูมิที่ยังคงสูงอยู่นี้ทำให้ไม่มีการพัฒนาของตาดอกเป็นเวลานานประมาณ 2 เดือน เมื่อพิจารณาจากเนื้อเยื่อตาพบว่าส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญส่วน shoot apex มีความโค้งงอเล็กน้อยและอยู่ในระดับเดียวกับกาบหุ้มตา ที่กลุ่มเซลล์ tunica และ corpus ไม่มีการแบ่งเซลล์และสร้าง primordia ซึ่งแตกต่างจากตาดอกที่มีการพัฒนา ตาที่พบนี้จึงน่าจะเป็นตาที่พักตัว อย่างไรก็ตามช่วงที่เว้นจากการออกดอกนี้พืชมีการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ เพื่อผลิตตาข้างและสร้างอาหารสะสมสำหรับการออกดอกต่อไป เมื่ออุณหภูมิลดลงและความชื้นสูงขึ้นในเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายนจึงน่าจะมีผลกระตุ้นให้ตาข้างเริ่มมีการพัฒนาเป็นตาดอกอีกครั้ง

อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมมีผลทางชีวเคมีในต้นพืชอาจเกี่ยวข้องกับการหายใจและการผลิตเอทิลีน ขณะที่ช่อดอกอ่อนมีอัตราการหายใจสูงมาก เมื่ออาหารและพลังงานไม่เพียงพอจึงเกิดการฝ่อ มีการศึกษาในภาวะเครียดจากอุณหภูมิของ *Phalaenopsis* และ *Aranda* พบว่าการแลกเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่ใบพืชลดลงและสูญเสียการถ่ายเทอเลคตรอน ทำให้ลดประสิทธิภาพการสังเคราะห์อาหารของพืชซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการออกดอก (Hew and Yong, 2004) Arditti (1992) ศึกษาอัตราการหายใจของตาดอกกล้วยไม้สกุล *Vanda*, *Aranda*, *Oncidium*, *Arachnis*, *Cattleya* และ *Phalaenopsis* ถูกผสมหลายพันธุ์ รายงานว่าตาดอกที่ยังเจริญไม่พ้นกาบหุ้มตามีอัตราการหายใจต่ำแต่เนื้อเยื่อตาดอกที่เริ่มเจริญออกจากกาบหุ้มตามีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นสูงมากจึงน่าจะต้องการอาหารและพลังงานมาก นอกจากนี้ Hew and Yong (2004) อธิบายจากการศึกษาใน *Dendrobium* Jacquelynn Thomas และ *Oncidium* Goldiana ว่าการฝ่อของตาดอกอาจจะเป็นลักษณะทางพันธุกรรมและสรีรวิทยาของพืชซึ่งพบมากในกล้วยไม้บาง

สายพันธุ์ หรือเกิดจากการได้รับอาหารไปเลี้ยงตาดอกไม่เพียงพอเป็นสาเหตุหลักโดยสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยเสริมให้ความสามารถในการแย่งอาหารลดลง สำหรับแวนดามนุวัตพบการฝ่อของตาดอกหรือช่อดอกอ่อนที่เกิดขึ้นมากในช่อดอกที่ยาวน้อยกว่า 3 เซนติเมตรเนื่องจากมีตาข้างที่พ้นระยะยาววิัยและเปลี่ยนเป็นตาดอกได้ในเวลาไล่เลี่ยกันหลายตาในสภาพวันยาวและได้รับอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม (ภาพที่ 3-A, B, และ C) แต่อาหารสะสมที่มีจำกัดถูกนำไปยังช่อดอกที่แข็งแรงเพียง 1-2 ช่อ เพื่อสร้างส่วนประกอบของดอกและมีการเจริญเติบโตเป็นดอกที่สมบูรณ์ต่อไป ส่วนช่อดอกที่ได้รับอาหารไม่เพียงพอจึงฝ่อ กรณีที่ช่อดอกอ่อนเสียไปขณะที่มีอายุน้อยมักมีตาดอกในตำแหน่งที่อยู่สูงขึ้นไปพัฒนาขึ้นทดแทน

สรุป

ตาข้างของแวนดามนุวัตที่พ้นระยะยาววิัยมีการเปลี่ยนแปลงเป็นตาดอกได้เกือบตลอดทั้งปีเมื่อได้รับปัจจัยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมด้วยความยาววัน 9-12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 18-33 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 60-96% โดยออกดอก ได้ 3 ครั้งต่อปี และมีช่วงเว้นการออกดอกประมาณปลายเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม การเปลี่ยนแปลงเป็นตาดอกเกิดขึ้นก่อนตาดอกเจริญออกจากกาบใบนาน 4-6 สัปดาห์ เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายยอดมีการพัฒนายืดขึ้นเป็นแกนช่อดอก พร้อมกับสร้าง leaf primordia และ flower primordia โดยมีการเจริญเติบโตด้านความยาวน้อยมาก หลังจากช่อดอกยืดยาวขึ้นแทรกกาบใบออกมาโดยดอกย่อยอยู่รวมกันในกาบหุ้มดอกที่ปลายช่อแล้ว ช่อดอกอ่อนมีความยาวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยแกนช่อดอกยืดยาวขึ้นทำให้ดอกย่อยห่างจากกันและพ้นออกจากกาบหุ้มดอก ใช้เวลาพัฒนาช่อดอกจนถึงดอกแรกบาน 12 สัปดาห์ อายุการบานของดอกประมาณ 3 สัปดาห์ โดยมีการพัฒนาตาดอกรุ่นต่อไปในระยะดอกบาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์บริการการพัฒนาขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจากพระราชดำริที่ให้การสนับสนุนการวิจัย และสวนนันทอรัลคิส ผู้สนับสนุนต้นพันธุ์แวนตามนวล

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ปัญจะมา ชัยอาทิตย์ อินคำ และ ไสระยา
ร่วมรังษี. 2561. ผลของระดับไนโตรเจนต่อการ
เติบโตและปริมาณของธาตุอาหารในกล้วยไม้
แวนดาผสม. วารสารเกษตร 34(1): 1-10.

คณะกรรมการกล้วยไม้แห่งชาติ กรมส่งเสริมการเกษตร.
2553. ยุทธศาสตร์การแข่งขันกล้วยไม้ไทยใน
ตลาดโลก พ.ศ. 2554-2559. (ระบบออนไลน์).
แ ห ล่ ง ขั อ มู ล : <http://www.doa.go.th/hort/images/BOOK/orchid--strage.pdf>
(5 มิถุนายน 2556).

ภรณ์พรรณ วงศ์สถาน ชูชาติ สันทรทรัพย์ และ ดรณิ
นาพรหม. 2560. ผลของยูเรียและแคลเซียม
ซัลเฟตต่อการเจริญเติบโตของเรพซิดที่ปลูกใน
ภาคเหนือของประเทศไทย. วารสารเกษตร
33(1): 71-80.

วัชรภรณ์ ชนะเคน และ พิมพิไล อาภาวัชรตม์. 2551.
การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาเกี่ยวกับการพัฒนาตา
ดอกของเอื้องพร้าว. วารสารเกษตร 24(2): 99-
105.

วิทยา ทีโสดา. 2547. ผลของความยาววันและอุณหภูมิ
กลางคืนที่มีผลต่อการเกิดดอกของกล้วยไม้ช้าง.
ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต, ภาควิชาพืช
สวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัย
แม่โจ้, เชียงใหม่. 27 หน้า.

อภิชัย ทหารไทย. 2553. การพัฒนาของดอกและหัวของ
กล้วยไม้ดินชนิดเอื้องกลีบม้วน เอื้องหาง
กระรอก เอื้องฉัตรมรกต เอื้องมรกต และสีğun
คล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต.
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 180 หน้า.

Arditti, J. 1992. Fundamentals of Orchid Biology.
John Wiley & Sons, New York. 691 p.

Glover, B. 2014. Understanding Flowers & Flowering:
An Integrated Approach. 2nd ed. Oxford
University Press, Oxford. 292 p.

Grove, D.L. 1995. *Vandas and Ascocendas and
Their Combinations with Other Genera*.
Timber Press, Inc., Portland. 241 p.

Hew, C.S. and J.W.H. Yong. 2004. The Physiology of
Tropical Orchids in Relation to the Industry.
2nd ed. The World Scientific Publishing Co.
Pte. Ltd., Singapore. 370 p.

Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-
Hill Book Co. Inc., New York. 523 p.

Sirisawad, T., N. Potapohn and S. Ruamrungsri.
2015. Effects of evaporative cooling
greenhouse growing on flowering of *Vanda*.
Acta Horticulturae 1078: 107-112.

The Royal Horticultural Society. 2011. The
international orchid register. (Online).
Available: apps.rhs.org.uk/horticulturaldatabase/orchidregister/orchidregister.asp (June 11, 2012).

Thomas, B. 1993. Internal and external controls on
flowering. pp. 1-19. *In*: B.R. Jordan (ed.).
The Molecular Biology of Flowering.
Redwood Books, Trowbridge. 266 p.

Wang, Y.T. 1995. *Phalaenopsis* orchid light
requirement during the induction of spiking.
HortScience 30(1): 59-61.

Yen, C.Y.T., T.W. Starman, Y.T. Wang and G. Niu.
2008. Effects of cooling temperature and
duration on flowering of the *Nobile Dendrobium*
orchid. *HortScience* 43(6): 1765-1769.

ผลของการพรางแสงระหว่างการเพาะปลูกต่อปริมาณคลอโรฟิลล์
และสาร 2-Acetyl-1-Pyrroline ของใบเตยหอม

Effects of Shading During Cultivation on Chlorophyll and 2-Acetyl-1-Pyrroline
Contents of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Leaves

ภาวิณี อารีศรีสม^{1*} นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์¹ รุ่งทิพย์ กาวารี² เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์¹
และ กอบลาภ อารีศรีสม¹

Pawinee Areesrisom^{1*}, Narin Toakaenchan¹, Rungtip Kawaree², Therdsak Thonnalak¹
and Koblap Areesrisom¹

¹สาขาวิชาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290

¹Medicinal Plant Science Program, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

²สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290

²Biotechnology Program, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

*Corresponding author: Email: agrsmw@ku.ac.th

(Received: 18 October 2017; Accepted: 16 March 2018)

Abstract: This research was to study the effect of shading net on chlorophyll and 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) contents of pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) leaves. The experiment was carried out based on randomized complete block design (RCBD) at four different levels of shading net (0, 50, 60 and 70%), with 3 replications and the leaves were harvested 6 months after planted. The results showed that there were significant differences in the chlorophyll and 2AP contents in leaves growing under different levels of shading net. The chlorophyll contents of pandan leaves cultivated under 50, 60 and 70% of shading net were higher than those exposed out of field. The chlorophyll contents were 0.56 ± 0.06 , 0.89 ± 0.02 , 0.77 ± 0.03 and 0.84 ± 0.12 mg/g fresh plant at shading net of 0, 50, 60 and 70%, respectively. The amount of 2AP of pandan leaves increased as shading net decreased. The 2AP content were 5.40 ± 0.01 , 5.40 ± 0.02 and 5.60 ± 0.01 $\mu\text{g/g}$ fresh plant at shading net of 70, 60 and 50%, respectively. However, when planted without shading net the 2AP content was decreased to be 5.55 ± 0.01 $\mu\text{g/g}$ fresh plant.

Keywords: Aroma compound, shading net, *Pandanus amaryllifolius* Roxb., chlorophyll, 2-acetyl-1-pyrroline

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้ได้ศึกษาอิทธิพลของการพรางแสงต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ของใบเตยหอม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ ด้วยตาข่ายพรางแสงต่างกัน 4 ระดับ (0, 50, 60 และ 70%) ระดับละ 3 ซ้ำ และเก็บเกี่ยวใบเตยหอมหลังจากปลูก 6 เดือน จากผลทดลองพบว่า การพรางแสงที่ให้การปลูกมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และสาร 2AP ในใบเตยหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเตยหอมที่ปลูกภายใต้ตาข่ายพรางแสง 50, 60 และ 70% จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่าเมื่อปลูกแบบไม่พรางแสง โดยมีปริมาณของคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.56 ± 0.06 , 0.89 ± 0.02 , 0.77 ± 0.03 และ 0.84 ± 0.12 มิลลิกรัม/กรัมพืชสด ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณสาร 2AP ในใบเตยหอมจะเพิ่มขึ้นเมื่อปลูกในสภาวะที่การพรางแสงลดลง คือ การพรางแสงที่ระดับ 70, 60 และ 50% มีสาร 2AP เท่ากับ 5.40 ± 0.01 , 5.40 ± 0.02 และ 5.60 ± 0.01 ไมโครกรัม/กรัมพืชสด ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อปลูกโดยไม่มีการพรางแสง จะส่งผลให้ปริมาณสาร 2AP ลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 5.55 ± 0.01 ไมโครกรัม/กรัมพืชสด

คำสำคัญ: สารหอม, ตาข่ายพรางแสง, เตยหอม, คลอโรฟิลล์, สาร 2-acetyl-1-pyrroline

คำนำ

เตยหอม เป็นพืชสมุนไพรกลิ่นหอมชนิดหนึ่งที่คนไทยรู้จักกันมาช้านาน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Pandanus amaryllifolius* Roxb. จัด อยู่ใน วงศ์ Pandanaceae เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียอาคเนย์ ชอบแสงแดดรำไร แต่ทนต่อแสงแดดจัดได้ เตยหอมเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบมีกลิ่นหอม แตกกอเป็นพุ่มขนาดเล็ก มีลำต้นสูงประมาณ 2-3 เมตร ชอบขึ้นในที่ใกล้น้ำ ขึ้นและขยายพันธุ์โดยใช้หน่อเล็ก ๆ (วันดี, 2538; สมพร, 2551) สามารถเก็บเกี่ยวใบไปใช้ประโยชน์ได้หลังจากปลูก 6 เดือน (Nadaf and Zanan, 2012) เตยหอมมีสรรพคุณเป็นยาบำรุงหัวใจให้ชุ่มชื้น ช่วยลดการกระหายน้ำ รากใช้เป็นยาขับปัสสาวะ และรักษาโรคเบาหวาน (สุนทรี, 2536) ส่วนใหญ่นิยมนำเตยหอมมาใช้ในการประกอบอาหาร ทำขนมหวาน เนื่องจากเป็นพืชที่ให้คุณค่าในเรื่องของสารที่ให้สีและกลิ่นหอมที่ปลอดภัยไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ใบเตยหอมประกอบไปด้วยสารสีเขียว ที่เรียกว่า คลอโรฟิลล์ และมีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด นองนุช และคณะ (2545) รายงานว่าสารที่ให้กลิ่นหอมหลักในใบเตยหอม คือสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ส่วน Laksanalamai and Ilangantileke (1993) สกัดสารหอมระเหยจากใบเตยสดและใบเตยแห้งโดยใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำ แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบว่า มีองค์ประกอบหลัก คือ สาร 2AP เช่นเดียวกับงานวิจัย

ของ นิสานันท์ และคณะ (2558) ที่ทำการสกัดเตยหอมด้วยน้ำ พบบองค์ประกอบทางเคมีหลัก คือ 1-hexanol, 2-penten-1-ol และ 2(5H)-furanone โดยมี 2AP เป็นสารให้กลิ่นหลักที่สำคัญ ปัจจุบันมีการนำสาร 2AP จากเตยหอมไปประยุกต์ใช้ในด้านแต่งกลิ่นของอาหาร เพื่อเป็นการเพิ่มราคาและความหลากหลายให้กับผลผลิตทางการเกษตร เช่น รัตนา และคณะ (2560) ศึกษาการสกัดสาร 2AP จากใบเตยร่วมกับการกักเก็บสารหอม 2AP ด้วยแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเกิดเจลาคัดในแช่น้ำแล้วภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอน้ำ และนำแป้งข้าวเจ้าที่ได้มาเคลือบบนข้าวขาวพิจิตร เพื่อเพิ่มความหอมให้กับข้าวขาว ซึ่งถือเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับใบเตยและข้าวขาวที่มีปริมาณผลผลิตมากในประเทศไทย

ใบเตยหอมมี papillae เป็นตำแหน่งที่เก็บสะสมสาร 2AP ซึ่ง papillae เป็นต่อมที่สร้างมาจากเนื้อเยื่อชั้น epidermis ด้านหลังใบของเตยหอม ซึ่งพบว่า มีแพร่กระจายอยู่ทั่วไปตลอดทั้งใบ (Nadaf et al., 2006; Wakte et al., 2007) ปัจจุบันยังไม่ทราบข้อมูลเกี่ยวกับการสังเคราะห์สาร 2AP ในใบเตยหอม แต่มีรายงานการศึกษาในข้าวหอมว่า 2AP เกิดจากการขาดหายไปของ betaine aldehyde dehydrogenase2 gene ทำให้เกิดการสะสมของ Δ^1 -pyrroline ซึ่งเป็นตัวที่ทาปฏิกิริยากับ methylglyoxal แล้วเกิดเป็นสาร 2AP ขึ้นมา (Nadaf et al., 2014) โดยคุณภาพและปริมาณของสารหอมในพืชขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมร่วมกับสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำ คุณภาพดินและแร่

ธาตุ ระยะเวลาที่พืชได้รับแสง และ ระยะการเจริญเติบโตของพืช เช่น อายุ และฤดูกาลเก็บเกี่ยว เป็นต้น

แสงเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดปัจจัยหนึ่งในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยมีคลอโรฟิลล์เป็นสารสีที่มีบทบาทสำคัญในการดูดซับพลังงานแสงสำหรับใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง เพื่อสร้างสารอาหารให้กับพืช (Gross, 1991) ถ้าพืชได้รับแสงมากเกินไปจะทำให้ปากใบปิด เกิดการเร่งอัตราการหายใจหรือการทำลายคลอโรฟิลล์ของพืช แต่ได้รับแสงน้อยเกินไป จะส่งผลให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำและให้ผลผลิตน้อย (Collard *et al.*, 1977) พืชแต่ละชนิดต้องการแสงในการเจริญเติบโตแตกต่างกันไป ซึ่งพืชส่วนใหญ่ต้องการแสงความเข้มสูงในการเจริญเติบโต มีพืชเพียงไม่กี่ชนิดที่ต้องการความเข้มแสงต่ำในการเจริญเติบโต (Shahak, 2000) เช่น หญ้าปากกิ้งเมื่อปลูกโดยไม่พรางแสง จะมีความยาวลำต้น น้ำหนักต้นและใบแห้ง และน้ำหนักแห้งรวมมากที่สุด แต่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบน้อยที่สุด ขณะที่ปลูกในสภาพพรางแสง 80% มีการเจริญเติบโตทางลำต้นน้อยและให้ผลผลิตต่ำสุด แต่จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมากที่สุด (สมยศ และคณะ, 2556) บัวบก ที่ปลูกในสภาพพรางแสงระดับ 80% มีคุณภาพด้านอัตราการเจริญเติบโตดี แต่การพรางแสงที่ 50% ให้คุณภาพด้านผลผลิต คือ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณสารสำคัญมากกว่าไม่พรางแสง (ประยงค์ และคณะ, 2558) และการพรางแสงทำให้บัวบกสายต้นนครศรีธรรมราช อุบลราชธานี และ ระยอง มีความยาวก้านใบ พื้นที่ใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มมากขึ้น (จิรพันธ์, 2553) มีรายงานว่า การพรางแสงข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังจากที่ยาวออกทรง ส่งผลให้มีการสร้างและสะสมสาร 2AP ในเมล็ดที่ระยะสุกแก่ทางสรีระ และคลอโรฟิลล์ในใบตั้งแต่ระยะเมล็ดนํามจนถึงระยะสุกแก่ทางสรีระสูงกว่าในสภาพไม่พรางแสง อาจเป็นเพราะการพรางแสงทำให้สภาพแวดล้อมรอบทรงพุ่มของข้าวเปลี่ยนแปลงไป เช่น การได้รับแสงลดลง อุณหภูมิต่ำ และความชื้นสัมพัทธ์สูง มีผลทำให้กระบวนการทางสรีระมีประสิทธิภาพต่ำ รวมทั้งการระเหยของน้ำในเมล็ดข้าวลดลงกว่าในสภาพไม่บังแสง ทั้งนี้เนื่องจากสาร 2AP เป็นสารที่ระเหยง่ายและไม่ค่อยเสถียร ซึ่งอาจจะเหวี่ยงออกมา

พร้อมกับการระเหยของน้ำในเมล็ด จึงทำให้ในสภาพไม่บังแสงมีปริมาณสาร 2AP ต่ำกว่าในสภาพบังแสง (สุทธกานต์, 2546)

เตยหอมเป็นพืชที่ชอบแสงแดดรำไร แต่สามารถทนต่อแสงแดดจัดได้ ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการปลูกในด้านของการพรางแสงที่มีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และสารหอมในใบเตยหอม ดังนั้นการวิจัยนี้จึงทำการปลูกเตยหอมภายใต้โรงเรือนที่คลุมด้วยตาข่ายพลาสติกพรางแสงสีดําที่ระดับแตกต่างกัน (50, 60 และ 70%) เปรียบเทียบกับสภาพที่ได้รับแสงอย่างเต็มที่ เพื่อหาสภาวะการพรางแสงที่เหมาะสมสำหรับการปลูกเตยหอมเพื่อให้ได้ปริมาณสารคลอโรฟิลล์ และสาร 2AP ในใบเตยหอมมากที่สุด ซึ่งคาดว่าจะงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ผลิตอย่างมาก สามารถนำไปเป็นแนวทางปฏิบัติในการปลูกเตยหอมที่ได้คุณภาพ และมีปริมาณสารสำคัญในปริมาณสูง ถือเป็นการสร้างคุณค่าและมูลค่าให้กับเตยหอม สามารถนำไปต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ด้านอาหาร และเครื่องหอมเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การปลูกเตยหอม

ปลูกเตยหอมโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) ทำการปลูกในโรงเรือนที่คลุมด้วยตาข่ายพรางแสงสีดําต่างกัน 4 ระดับ (0, 50, 60 และ 70%) ระดับละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 13 ต้น หลังจากนั้นเตรียมดินปลูกโดยใช้ดินผสม แกลบดิบและปุ๋ยคอก ในอัตราส่วน 3 : 1 : 1 ใส่กระถางพลาสติกติกสีดํา ขนาด 10 นิ้ว แล้วจึงนำต้นพันธุ์เตยหอมอายุ 2 เดือน จากจังหวัดเชียงใหม่ ปลูกลงไปในระยะทางที่เตรียมไว้ ดูแลรักษาโดยให้น้ำและจัดการศัตรูพืชอย่างสม่ำเสมอ ให้ปุ๋ยหมักอินทรีย์แบบไม่พลิกกลับกองของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ทุก ๆ 15 วัน โดยทดลองปลูกเตยหอมระหว่างเดือน มกราคม ถึง มิถุนายน 2559 ณ แปลงทดลองปลูกสาขาวิชาวิทยาการสมุนไพร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่

หลังปลูกครบ 6 เดือน จึงเก็บเกี่ยวใบเตยหอมโดยเก็บเฉพาะส่วนใบทั้งหมดมารวมกัน หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ

เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ และสาร 2AP ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

นำตัวอย่างใบเตยหอมที่เก็บเกี่ยวในแต่ละการทดลองมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (1990) สุ่มตัวอย่างใบเตย ซ้ำละ 50 กรัม บด หั่น ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วชั่งตัวอย่างมา 3.00 กรัม (W) เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร บดตัวอย่างใบเตยหอมจนละเอียด แล้วถ่ายตัวอย่างลงในหลอดทดลอง นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4500 รอบ/นาาที เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสที่ได้ด้วยกระดาษกรอง ลงในขวดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร นำตะกอนที่เหลือไปบดซ้ำอีกครั้งโดยทำตามขั้นตอนข้างต้นจนสีเขียวของตะกอนตัวอย่างหมด รวบรวมสารละลายที่สกัดได้ลงในขวดปริมาตร และปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยอะซีโตน 80% ปิดฝาขวดตัวอย่างที่เตรียมได้มา 3 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตร และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยอะซีโตน 80% นำไปวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง uv-visible spectrophotometer (910SUV-VIS) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ตามลำดับ นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ ดังสูตร

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัม/กรัมพืชสด)} = \frac{(20.2A_{645} + 8.02A_{663}) \times V_3 \times V_1}{V_2 \times W \times 1000}$$

- เมื่อ
- A_{645} = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ 645 นาโนเมตร
 - A_{663} = ค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ 663 นาโนเมตร
 - V_1 = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ 50 มิลลิลิตร
 - V_2 = ปริมาตรสารตัวอย่างที่ปิเปต มา 3 มิลลิลิตร
 - V_3 = ปริมาตรสารตัวอย่างที่ทำการเจือจาง 25 มิลลิลิตร
 - W = น้ำหนักตัวอย่างใบเตยที่ชั่ง (กรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณสาร 2AP

การเตรียมกราฟมาตรฐาน 2AP

เจือจางสารมาตรฐาน 2AP ที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัม/ลิตร ให้มีความเข้มข้น 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ด้วยไดคลอโรมีเทน และในแต่ละความเข้มข้นเติมสารละลาย 2,4,6-trimethylpyridine (TMP) ให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร เท่ากันทุกๆ ความเข้มข้น นำสารละลายมาตรฐาน 2AP ที่เตรียมได้ไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS (GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 plus; MS ยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น 5973)

การสกัดสาร 2AP จากตัวอย่างใบเตยหอม

สุ่มตัวอย่างใบเตยหอมที่ได้จากการเก็บเกี่ยวในแต่ละการทดลอง มาอย่างละ 1 กิโลกรัม จากนั้นนำไปบดหยาบในน้ำอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที ชั่งตัวอย่างใบเตยหอมที่เตรียมได้ ตัวอย่างละ 30 กรัม บดให้ละเอียดแล้วบรรจุลงในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 30 กรัม ปิดฝาขวดให้สนิท แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นเติมน้ำกลั่นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง ปิดฝาให้สนิท นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยให้สารละลายเกิดการแยกชั้น แล้วจึงเก็บสารละลายในชั้นของตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน สกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน นำสารสกัดที่ได้มารวมกันแล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ให้เหลือปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

นำสารสกัดตัวอย่างที่สกัดได้ไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS โดยฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องปริมาตร 2 ไมโครลิตร โดยใช้สภาวะในการแยกสารดังนี้ ส่วนของคอลัมน์ที่ใช้คือ HP-5MS (ขนาด 30.0 เมตร x 250 ไมโครเมตร x 0.25 ไมโครเมตร) ตั้งอัตราการไหลของก๊าซฮีเลียม (UHP 99.999%) เข้าคอลัมน์เป็น 2.0 มิลลิลิตรต่อ นาที ส่วนอุณหภูมิคอลัมน์ ตั้งโปรแกรมโดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 35 องศาเซลเซียส คงที่ 3 นาที จากนั้นเพิ่ม

อัตราเร็ว 2 องศาเซลเซียสต่อวินาที จนถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเพิ่มอัตราเร็ว 3 องศาเซลเซียสต่อวินาที จนถึงอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส คงที่อีก 3 นาที ส่วนฉีดสารตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 155 องศาเซลเซียส ส่วนของ MS ตั้งอุณหภูมิของส่วนเชื่อมต่อ (transfer line) ไว้ที่ 280 องศาเซลเซียส ใช้ scan mode ช่วง Mass 29 ถึง 250 AMU (atomic mass unit)

การรายงานผลของปริมาณสาร 2AP จะรายงานผลออกมาใน 2 รูปแบบ คือ อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟ สาร 2AP ต่อสารมาตรฐาน TMP (internal standard) โดยคำนวณได้ดังสูตร

$$\frac{\text{อัตราส่วน}}{2AP/TMP} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของ 2AP}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของ TMP}}$$

และ การคำนวณหาปริมาณสาร 2AP ในตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร 2AP

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง ไปวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

จากการทดสอบปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเตยหอมที่เพาะปลูกในโรงเรือนที่มีการพรางแสงแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 50, 60 และ 70% ผลที่ได้แสดงดัง

ตารางที่ 1 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50, 60 และ 70% มีปริมาณคลอโรฟิลล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 0.89 ± 0.02 , 0.77 ± 0.03 และ 0.84 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อกรัมพืชสด ตามลำดับ และมีปริมาณมากกว่าเตยหอมที่ปลูกโดยไม่พรางแสง ซึ่งมีปริมาณสารคลอโรฟิลล์เท่ากับ 0.56 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อกรัมพืชสด ทั้งนี้เนื่องจากเตยหอมมีการเจริญเติบโตได้ดีในสภาพร่มรำไร การที่ได้รับแสงมากเกินไป ทำให้ไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตและสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหาร ดังนั้นการได้รับแสงอย่างเต็มที่ จึงส่งผลให้การสร้างเซลล์และออร์แกเนลล์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ลดลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งคลอโรฟิลล์ จึงส่งผลให้เตยหอมที่ปลูกโดยไม่พรางแสงมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำกว่าในสภาพพรางแสง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Brand (1997) ที่ได้ทำการศึกษาผลของการพรางแสง 40 และ 60% ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบคาลเมีย (*Kalmia latifolia* L.) จำนวน 5 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับสภาพที่ได้รับความเข้มแสงเต็มที่ 100% พบว่าคาลเมียที่ปลูกภายใต้สภาพการพรางแสงมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าคาลเมียที่ได้รับความเข้มแสง 100% และจากการศึกษาของ สมยศ และคณะ (2556) พบว่าการพรางแสงมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบของหนุ่ยปากกิ้งคือหนุ่ยปากกิ้งที่มีการพรางแสงมากที่สุดที่ 80% มีปริมาณของคลอโรฟิลล์ภายในใบมากที่สุด และคลอโรฟิลล์ภายในใบมีค่าลดลงเมื่อหนุ่ยปากกิ้งได้รับการพรางแสงน้อยลงคือที่ 60 และ 50% ตามลำดับ ส่วนหนุ่ยปากกิ้งที่ไม่มีการพรางแสงจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบน้อยที่สุด

Table 1. Chlorophyll content in *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaves growing under various shading nets

Shading net (%)	Chlorophyll content (mg/g fresh plant)
0	0.56 ± 0.06^b
50	0.89 ± 0.02^a
60	0.77 ± 0.03^a
70	0.84 ± 0.12^a
F-test	*
CV (%)	18.98

Values are means of three replications $\pm$ standard error

* Indicate significant at $P < 0.05$. Values in the same column with the different letters are significantly different at $P < 0.05$

การวิเคราะห์ปริมาณสาร 2AP

เมื่อฉีดวิเคราะห์สารมาตรฐาน 2AP กับสารมาตรฐาน internal standard ด้วยเครื่อง GC-MS ผลที่ได้พบว่า สารมาตรฐาน 2AP มีค่า retention time เท่ากับ 11.71 นาที และ สารมาตรฐาน internal standard TMP มีค่า retention time เท่ากับ 15.60 นาที ดังแสดงในภาพที่ 1 เมื่อทำการแตกมวลแมสของ 2AP ในตัวอย่างสารสกัดใบเตยหอม จะมีมวลที่สำคัญ ได้แก่ 43, 68, 83 และ 111 m/z ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2 (A) โดยมีมวลตรงกันกับข้อมูลของสาร 2AP ที่ได้จากฐานข้อมูล

Wiley 275 ในภาพที่ 2 (B) และเมื่อนำสารสกัดที่ได้จากใบเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสงแตกต่างกันไปฉีดวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS พบว่าสาร 2AP ที่พบในใบเตยหอมกับสารมาตรฐาน 2AP มีค่า retention time และ แมสสเปกตรัมตรงกัน ดังแสดงในภาพที่ 3

จากผลการฉีดวิเคราะห์สาร 2AP ในสารสกัดใบเตยหอมที่ได้ พบว่าการพรางแสงระหว่างการเพาะปลูกมีผลต่อปริมาณสาร 2AP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50% จะให้สาร 2AP ในปริมาณมากที่สุด มีค่าเท่ากับ

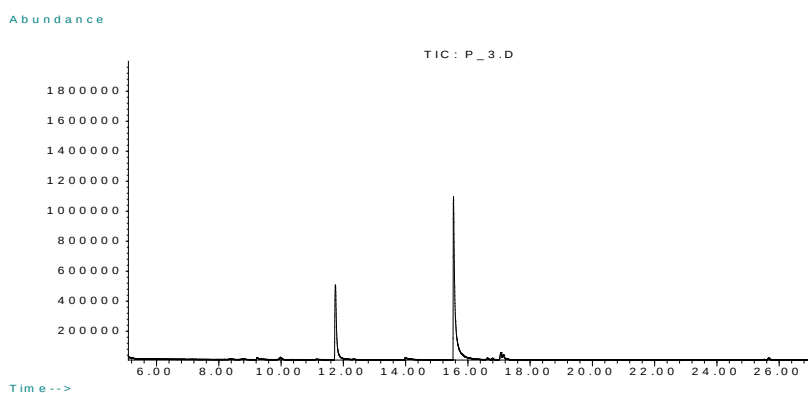


Figure 1. GC-MS chromatogram of standard 2AP and internal standard TMP

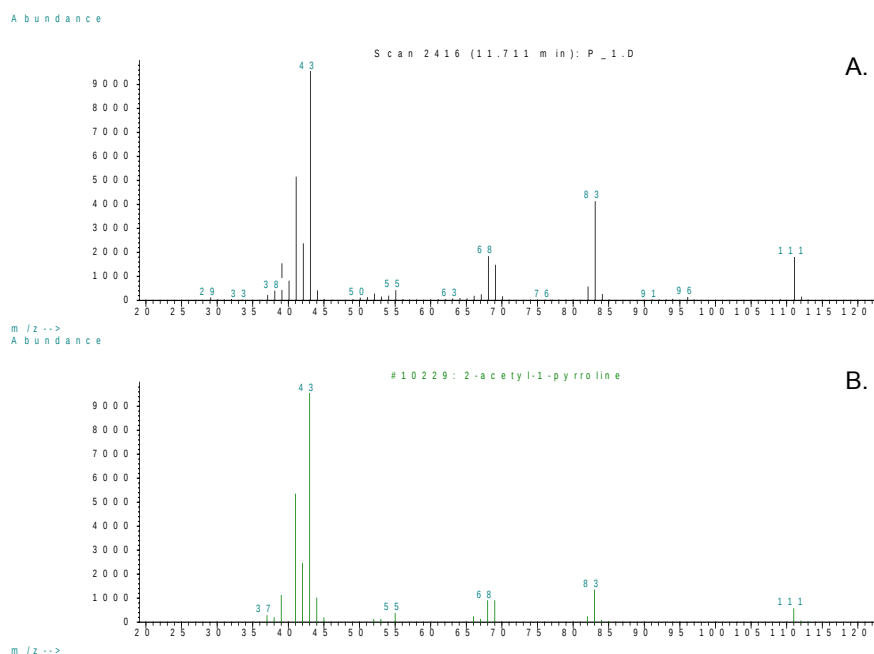


Figure 2. Mass spectrum of 2AP

(A. mass spectrum of 2AP in pandan leaves B. mass spectrum of 2AP from Wiley 275 library)

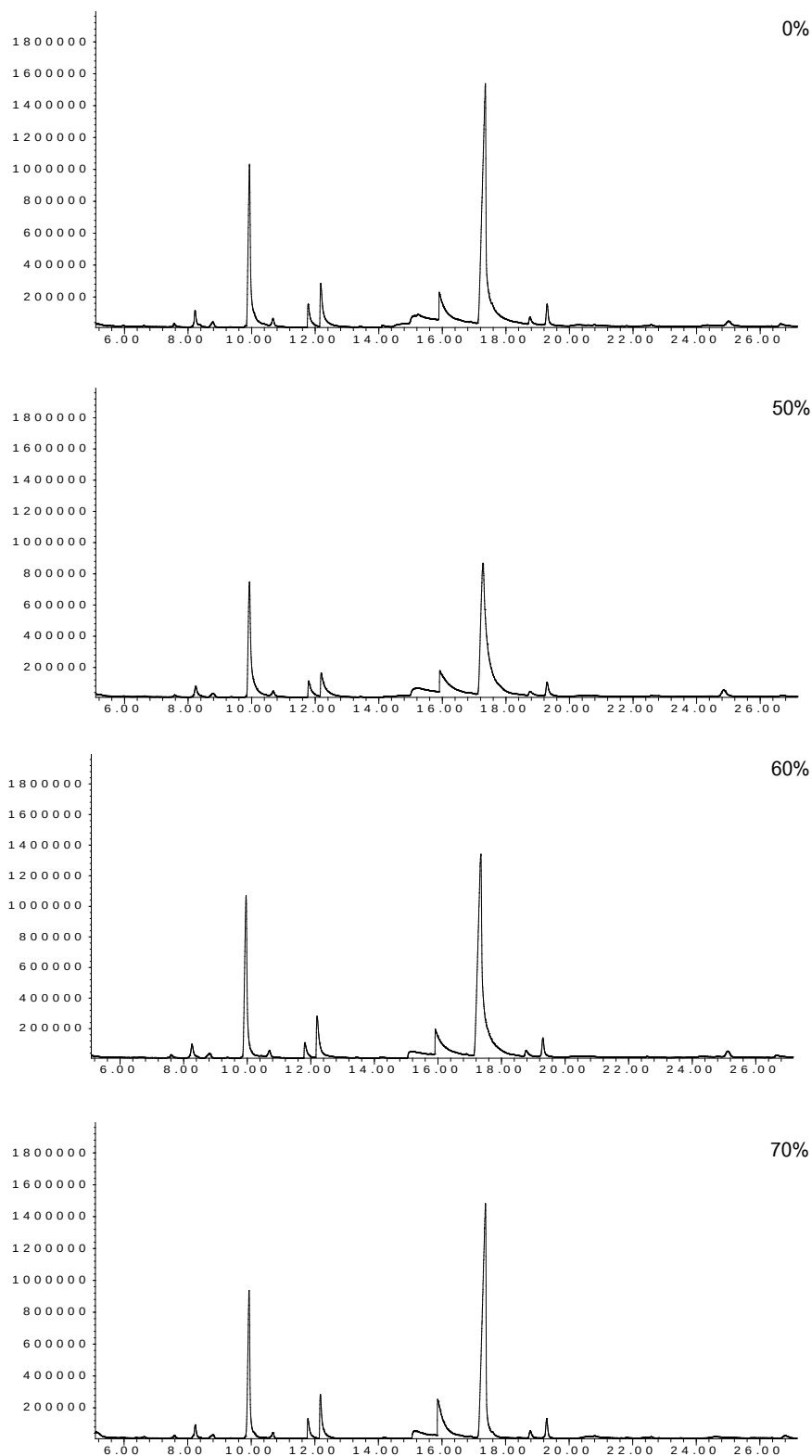


Figure 3. GC-MS chromatogram of extracts from pandan leaves growing under various shading net

Table 2. 2AP content in *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaves growing under various shading nets

Shading net (%)	2AP		TMP		Ratio peak area (2AP/TMP)	Amount of 2AP (µg/g fresh plant)
	RT (min)	Peak area	RT (min)	Peak area		
0	11.71	8974681 ± 15275	15.60	30143619 ± 5773	0.2977 ± 0.00045 ^b	5.55 ± 0.01 ^b
50	11.71	7735619 ± 1154	15.60	23849840 ± 5507	0.3243 ± 0.00012 ^a	5.60 ± 0.01 ^a
60	11.71	5858471 ± 10000	15.60	25122397 ± 11547	0.2332 ± 0.00041 ^c	5.40 ± 0.02 ^c
70	11.71	6458990 ± 5744	15.60	27888567 ± 5773	0.2316 ± 0.00023 ^d	5.40 ± 0.01 ^c
F-test					*	*
CV (%)					17.16	1.82

Values are means of three replications ± standard error

* Indicate significant at $P < 0.05$. Values in the same column with the different letters are significantly different at $P < 0.05$

5.60 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อกรัมพืชสด และมีความสอดคล้องกันกับอัตราส่วนของปริมาณสาร 2AP ต่อสาร TMP ซึ่งเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50% มีอัตราส่วนของสารดังกล่าวมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับใบเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสงระดับอื่น ๆ คือมีค่าเท่ากับ 0.3243 แต่เมื่อเพิ่มระดับของการพรางแสงขึ้นเป็น 60% และ 70% พบว่าสาร 2AP มีปริมาณลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจาก betaine aldehyde dehydrogenase2 ซึ่งมีส่วนในการสร้างสาร 2AP มักจะพบในปริมาณมากในใบพืชที่มีความสมบูรณ์ (Chen *et al.*, 2008) ซึ่งจากการศึกษาของผู้วิจัยพบว่าขนาดของลำต้นและใบของเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50% มีขนาดที่สมบูรณ์ที่สุดเมื่อเทียบกับสภาวะอื่น ๆ (ภาวิณี และคณะ, 2560) จึงส่งผลทำให้ปริมาณสาร 2AP มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสงสภาวะอื่น ๆ ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีความต้องการแสงในการสร้างสารหอมและสารสำคัญที่แตกต่างกันไป เช่น จากการศึกษาของ Mo *et al.* (2015) พบว่าการพรางแสงในทุก ๆ ระยะของการเจริญเติบโตของเมล็ดในข้าวสาลีพันธุ์ Yuxiangyouzhan และ Nongxiang 18 ส่งผลให้ปริมาณของสาร 2AP ในเมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าการพรางแสงมีผลต่อปริมาณสารหอมอื่น ๆ อีก 10 ชนิด ในเมล็ดข้าวด้วย ดังนั้นในการปลูกพืชเพื่อให้ได้ผลผลิต หรือสารสำคัญในปริมาณสูงจึงควรพิจารณาถึงปัจจัยเรื่องแสงเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย

สรุป

จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าการพรางแสงที่ให้ในระหว่างการเพาะปลูกเตยหอมมีผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ และสาร 2AP ในใบเตยหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเตยหอมที่ปลูกภายใต้การพรางแสง 50-70% มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมากที่สุด ส่วนปริมาณสาร 2AP มีมากที่สุดเมื่อทำการเพาะปลูกเตยหอมภายใต้การพรางแสง 50% ซึ่งผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเพาะปลูกเตยหอมเพื่อให้มีสารสำคัญในปริมาณมาก และสามารถนำไปใช้ต่อยอดในการวิจัยต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้สำเร็จลุล่วงได้ โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2559 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมการเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความอนุเคราะห์เรื่องสถานที่และอำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์สารเคมี ตลอดจนการทดลอง จนทำให้งานทดลองสำเร็จอย่างสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

- จิรพันธ์ ศรีทองกุล. 2553. อิทธิพลความแก่ใบ ความเข้มแสง และอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารเอเชียติโคไซด์และคุณภาพบัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urban.). วิทยานิพนธ์ปริญญา ดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ. 99 หน้า.
- น้องนุช เจริญกุล ญัฏฐา เลหากุลจิตต์ และ ดุษฎี อุตภาพ. 2545. การผลิตเจลปรับอากาศโดยใช้สารหอมที่สกัดได้จากใบเตยหอม. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 25(2): 185-201.
- นิตานันท์ ตามกาล ญัฏฐา เลหากุลจิตต์ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2558. คุณสมบัติทางกายภาพและสารหอมระเหยของใบเตยหอม (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) สกัดด้วยน้ำ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 46(3)(พิเศษ): 145-148.
- ประยงค์ ต้นเล รัชสา จันทาศรี เกรียงศักดิ์ ไพรวรรณ และ พนิดา อะริมิตรพิส. 2558. ผลของการพรางแสงต่อการเจริญเติบโตและปริมาณสารเอเชียติโคไซด์ของบัวบกสายพันธุ์สารคามก้านเขียว ในพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม. วารสารเกษตรพระวรุณ 12(1): 9-16.
- ภาวณี อารีศรีสม นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์ เพ็ญศักดิ์ โทณลักษณ กอบลาภ อารีศรีสม และ รุ่งทิพย์ กาวารี. 2560. อิทธิพลของการพรางแสงต่อการเจริญเติบโตของเตยหอม. หน้า 8-16. ใน: รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2560. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.
- รัตนาม่วงรัตน์ จารุวรรณ จินดากุล และ วรณัฐ อินันบุตร. 2560. การสกัดร่วมกับการกักเก็บสารหอม 2-Acetyl-1-Pyrroline จากใบเตยด้วยแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเกิดเจลในเซชันภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอน้ำเพื่อใช้เคลือบข้าวขาวพิจิตร. วารสารเกษตร 33(2): 299-310.
- วันดี กฤษณพันธุ์. 2538. สมุนไพรสารพัดประโยชน์. มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 164 หน้า.
- สมพร ภูติยานันต์. 2551. สมุนไพรใกล้ตัว เล่ม 13. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 502 หน้า.
- สมยศ เดชภีรตันมงคล ธวัชชัย อุบลเกิด และ สมมาตร อยู่สุขยิ่งสถาพร. 2556. ผลของการพรางแสงที่มีต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของหญ้าปากกิ้ง. หน้า 409-416. ใน: เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุทธกานต์ ใจกาวิล. 2546. ผลของการบังแสงและการจัดการน้ำต่อความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโพรงน้ำตาล คลอโรฟิลล์และสารหอม 2-อะเซติล-1-พิวโรลีนในข้าวขาวดอกมะลิ 105. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 99 หน้า.
- สุนทรี สิงหนุตตรา. 2536. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. คุณ 39, กรุงเทพฯ. 260 หน้า.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Arlington. 1289 p.
- Brand, M.H. 1997. Shade influences plant growth, leaf color, and chlorophyll content of *Kalmia latifolia* L. cultivars. HortScience 32(2): 206-208.
- Chen, S., Y. Yang, W. Shi, Q. Ji, F. He, Z. Zhang, Z. Cheng, X. Liu and M. Xua. 2008. Badh2, Encoding Betaine Aldehyde Dehydrogenase, Inhibits the Biosynthesis of 2-Acetyl-1-Pyrroline, a Major Component in Rice Fragrance. The Plant Cell 20: 1850-1861.
- Collard, R.C., J.N. Joiner, C.A. Conover and D.B. McConnell. 1977. Influence of shade and fertilizer on light compensation point of *Ficus benjamina* L. Journal of the American Society for Horticultural Science 102(4): 447-449.

- Gross, J. 1991. Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoid. Van Nostrand Reinhold, New York. 351 p.
- Laksanalamai, V. and S. Ilgantileke. 1993. Comparison of aroma compound (2-acetyl-1-pyrroline) in leaves from pandan (*Pandanus amaryllifolius*) and Thai fragrant rice (Khao Dawk Mali-105). Cereal Chemistry 70(4): 381-384.
- Mo, Z., W. Li, S. Pan, T. L Fitzgerald, F. Xiao, Y. Tang, Y. Wang, M. Duan, H. Tian and X. Tang. 2015. Shading during the grain filling period increases 2-acetyl-1-pyrroline content in fragrant rice. Rice 8: 9.
- Nadaf, A. and R. Zanan. 2012. Economical importance of Indian *Pandanus* species. pp. 127-137. In: A. Nadaf and R. Zanan (eds.). Indian Pandanaceae - An Overview. Springer, New Delhi.
- Nadaf, A.B., K.V. Wakte and R.I. Zanan. 2014. 2-acetyl-1-pyrroline biosynthesis: from fragrance to a rare metabolic disease. Journal of Plant Science & Research 1(1): 1-7.
- Nadaf, A.B., S. Krishnan and K.V. Wakte. 2006. Histochemical and biochemical analysis of major aroma compound (2-acetyl-1-pyrroline) in basmati and other scented rice (*Oryza sativa* L.). Current Science 91(11): 1533-1536.
- Shahak, Y. 2000. Colored shade nets a new agro-technology current research in ornamental. (Online). Available: <http://www.horticom.com/pd/imagenes/55/146/55146.pdf> (February 4, 2017).
- Wakte, K.V., A.B. Nadaf, S. Krishnan and R.J. Thengane. 2007. Studies on lower epidermal papillae, the site of storage of basmati rice aroma compounds in *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Current Science 93(2): 238-242.
-

การเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในใบเชียงดา

Comparison of Nutritional Value and Bioactive Compounds in *Gymnema inodorum* Decne. Leaves

ประทุมพร ยิ่งธงชัย¹ พรรัตน์ ศิริคำ² สุรินทร์ นิลสำราญจิต³ และ สุริยา ตาเที่ยง^{3*}
Pratoomporn Yingthongchai¹, Pornrat Sirikhum², Surin Nilsamranchit³ and Suriya Tateing^{3*}

¹สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

¹Science and Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จ.เชียงใหม่ 50220

²Huai Hong Khrai Royal Development Study Centre, Chiang Mai 50220, Thailand

³ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

³Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: suriya.t@cmu.ac.th

(Received: 8 January 2018; Accepted: 18 June 2018)

Abstract: *Gymnema inodorum* Decne. is indigenous plant distributed widely in the northern and northeastern regions of Thailand, also used for traditional Thai cuisines and healthy herbal product to prevent diabetics. Two groups of *G. inodorum*; broad and narrow leaves were found and two months of stem cuttings were planted in the natural condition at Huai Hong Khrai Royal Development Study Centre, Doi Saket, Chiang Mai province. After six months, the plants were harvested their leaves at positions 4 to 6 from the apex in the mature stages were collected for analysis. This research aims to compare the phenolic content using Folin-Ciocalteu colorimetric assay and active ingredient, gymnemic acid content by high performance liquid chromatography (HPLC) in *G. inodorum*. Results revealed that some nutritional values in *G. inodorum* leaves include protein, fat, and fiber contents were found and the value did not show significant differences between the two leaf types, whereas sugar content showed statistically significant difference ($P<0.05$) between broad and narrow leaves of 4.68 ± 0.28 and $6.70 \pm 0.81\%$, respectively. Moreover, total phenolic content was found that both the narrow (18.18 ± 0.04 mg GAE/g DW) and board leaves (17.09 ± 0.77 mg GAE/g DW) showed similar values. While, gymnemic acid content of narrow leaves (2.50 ± 0.11 g/100g) and board leaves (2.44 ± 0.02 g/100g) were not significant different. Therefore, the leaves of two groups of *G. inodorum* showed phenolic content and some bioactive compound that can control blood sugar levels by gymnemic acid, and both of two groups can be developed as the healthy herbal products.

Keywords: *Gymnema inodorum* Decne., phenolic content, gymnemic acid, HPLC

บทคัดย่อ: เชียงดาเป็นผักพื้นบ้านที่พบในแถบภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นิยมใช้ประกอบอาหารชนิดต่าง ๆ รวมถึงใช้เป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อป้องกันโรคเบาหวาน จากการสำรวจในพื้นที่พบเชียงดามีอยู่สองกลุ่ม ได้แก่ ไบร็กกว้าง และไบรแคบ ได้นำกิ่งปักชำอายุ 2 เดือน ปลูกรวบรวมที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ หลังจากปลูกในแปลงทดสอบนาน 6 เดือน จึงเก็บตัวอย่างใบระยะเพลสดของ ตำแหน่งที่ 4 - 6 จากปลายยอดเพื่อนำมาศึกษาต่อไป งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric assay และกรดจิมนิมิก ซึ่งเป็นสารสำคัญที่มีอยู่ในใบด้วยวิธี HPLC จากใบเชียงดาทั้งสองกลุ่ม ผลการศึกษาพบว่า การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของใบเชียงดาทั้งสองกลุ่มไม่พบความแตกต่างกันในเชิง ปริมาณของโปรตีน ไขมัน และกากใย ยกเว้นปริมาณน้ำตาลของเชียงดาไบรแคบพบได้มากกว่าในไบร็กกว้าง ร้อยละ 4.68 ± 0.28 และ 6.70 ± 0.81 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และให้ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สำหรับการ วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกในไบรแคบ (18.18 ± 0.04 mg GAE/g DW) และไบร็กกว้าง (17.09 ± 0.77 mg GAE/g DW) มี ปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ส่วนปริมาณกรดจิมนิมิกในใบเชียงดาพบในกลุ่มไบรแคบ (2.50 ± 0.11 g/100g) และกลุ่มไบร็กกว้าง (2.44 ± 0.02 g/100g) ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นใบเชียงดาทั้งสองกลุ่มมีปริมาณฟีนอลิกและกรดจิมนิมิกที่มี ประโยชน์ต่อการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เข้าสู่ภาวะปกติ จึงสามารถใช้เชียงดาทั้งสองกลุ่มพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ สมุนไพรเพื่อสุขภาพได้

คำสำคัญ: เชียงดา ปริมาณฟีนอลิก กรดจิมนิมิก โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

คำนำ

ผักพื้นบ้านโดยส่วนใหญ่นิยมนำมาประกอบอาหารหรือเป็นเครื่องเคียงเพื่อบริโภคตามวิถีชีวิตของ ชาวบ้าน ด้วยคุณประโยชน์ในด้านคุณค่าทางโภชนา วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ (ชาญชัย, 2552) ผักพื้นบ้าน หลายชนิดยังมีสรรพคุณเป็นพืชสมุนไพรใช้รักษาโรค ใน พืชประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะ สารฟลาโวนอยด์กลุ่มฟิลาฟีนอลและฟลาโวนอยด์เป็น องค์ประกอบหลัก ซึ่งมีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกันและลดความเสี่ยงของการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ (นวลศรี และอัญชนา, 2545) เช่น โรคความดัน โรคเบาหวาน และไขมันอุดตันในเส้นเลือด เป็นต้น โดยเฉพาะโรคเบาหวาน ปัจจุบันได้มีการนำส่วนต่าง ๆ ของพืชมาแปรรูปเป็นสมุนไพร เช่น ชาผงสำหรับชงดื่ม เพื่อลดน้ำตาลในเลือด เนื่องจากมีการรายงานของ องค์การอนามัยโลกในปี พ.ศ. 2560 ว่าโรคเบาหวาน เป็นโรคที่ติดอันดับ 1 ใน 10 โรคร้ายแรงและยังเป็น สาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตเป็นจำนวนมาก (WHO, 2017) ซึ่งยาที่ใช้ในการรักษาโรคชนิดนี้ไม่เพียงพอกับ ความต้องการต่อจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานจึงได้มีแนว

ทางการรักษาหรือควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้กลับสู่ ภาวะปกติโดยใช้พืชสมุนไพร ได้แก่ ชิง มะระ กระเจี๊ยบ แดง ดอกคำฝอย และพริก เป็นต้น ซึ่งใช้เป็นทางเลือกใน การรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานและได้มีการทดสอบใน ระดับห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผลการทดสอบอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีการรายงานข่าวสารสกัดจากพืชสมุนไพร บางชนิดสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ดี ได้แก่ ใบ ชะพลู บอระเพ็ด ว่านหางจระเข้ แมงลัก หญ้าหนวดแมว และหอมใหญ่ เป็นต้น (รุ่งระวี, 2536; อารียา และคณะ, 2551)

เชียงดา (*Gymnema inodorum* Decne.) หรือ ชื่อที่เรียกกันทั่วไปทางภาคเหนือว่า ผักเจียงดา ชาวบ้าน ให้ความสำคัญกับผักเชียงดาว่าเป็นราชินีแห่งผัก พื้นบ้านทางภาคเหนือ (เต็ม, 2544 ; นวลศรี และอัญ- ชนา, 2545) ชาวบ้านนิยมนำยอดและใบอ่อนที่มีรสขม อ่อน ๆ มารับประทานในรูปผักสด หรือนำมาปรุงอาหาร อาทิ ผักลวกจิ้มน้ำพริก แกงใส่ปลาแห้ง หรือ ผัดใส่ไข่ เป็นต้น ผักเชียงดามีลักษณะเป็นไม้เถาเลื้อย ใบเดี่ยวสี เขียวเข้ม รูปกลมรี ปลายใบแหลมฐานใบกลม ดอกเป็น ช่อแบบซี่ร่ม กลีบเลี้ยงสีเขียว กลีบดอกสีเหลือง ผลเป็น ผลเดี่ยว รูปกลมยาว สำหรับการศึกษาทางพฤกษเคมีใน

ใบเชียงดาพบกรดจิมนิมิก (gymnemic acid) (ภาพที่ 1) ที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยสารประกอบไตรเทอพีนอยด์ กรดไขมัน และสารคล้ายคลึงกับโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส เรียกว่า glucuronic acid (Sugihara *et al.*, 2000) เมื่อสารประกอบดังกล่าวเข้าสู่ร่างกาย ลำไส้เล็กจะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ดีกว่าน้ำตาล ส่งผลให้ร่างกายลดการดูดซึมน้ำตาลลง นอกจากนี้สารดังกล่าวยังช่วยเพิ่มปริมาณอินซูลินให้สูงขึ้น ซึ่งเป็นฮอร์โมนทำหน้าที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดี (Shanmugasundaram *et al.*, 1983) ดังนั้นผักเชียงดาจัดเป็นพืชทางเลือกอีกชนิดหนึ่งที่มีสรรพคุณช่วยลดระดับน้ำตาลและปรับสมดุลน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน จึงได้รับความนิยมนำไปเชียงดามาปรุงอาหาร เป็นผักเครื่องเคียง และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชาชงสมุนไพรเพื่อจำหน่ายเป็นสินค้าของชุมชน

ปัจจุบันมีการปลูกต้นเชียงดาอย่างแพร่หลายโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์ที่นำมาปลูก ซึ่งจากการวิจัยพบว่าต้นเชียงดาที่พบในแถบจังหวัดภาคเหนือตอนบนมีความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ความกว้างของใบ ความยาวของใบ ความยาวของก้านใบ น้ำหนักใบ และพื้นที่ใบ (พิทักษ์ และคณะ, 2559) โดยเฉพาะลักษณะใบที่มีความแตกต่างกันไป จากการสำรวจและเก็บรวบรวมเชียงดาของประทุมพร และคณะ (2556) พบว่าความหลากหลายของเชียงดาตามลักษณะใบแบ่งเป็นสองกลุ่มได้แก่ กลุ่มใบรีกว้างและกลุ่มใบรีแคบ ที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมของลักษณะทั้งสองกลุ่มนี้ด้วย ในการสำรวจต้นเชียงดาจากพื้นที่บริเวณโดยรอบศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ

โดยกลุ่มงานศึกษาและพัฒนาเกษตรกรรมแบบประณีตพบว่าต้นเชียงดาที่สำรวจและรวบรวมได้มีลักษณะใบที่แตกต่างกันสองกลุ่มเช่นกัน แต่ยังไม่พบการรายงานปริมาณสารสำคัญที่มีในใบเชียงดาทั้งสองกลุ่มนี้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบสารสำคัญในใบของเชียงดา โดยวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณฟีนอลิก และปริมาณกรดจิมนิมิกที่พบในใบ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการเก็บวัตถุดิบของเชียงดามาใช้ในการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำกิ่งพันธุ์เชียงดาของทั้งสองกลุ่มมาปักชำให้เกิดเป็นต้นใหม่อายุได้ 2 เดือน จึงย้ายต้นลงปลูกในแปลงทดลองของศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ใช้ระยะห่างระหว่างต้น 1X1 เมตร ดูแลบำรุงรักษาต้นโดยใส่ปุ๋ยให้เดือนละหนึ่งครั้ง เป็นเวลา 5 เดือน ใช้อัตราส่วนปุ๋ยอินทรีย์ 200 กรัมร่วมกับปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 จำนวน 5 กรัมต่อต้น (พรรัตน์ และคณะ, 2559) เมื่อต้นเชียงดาอายุ 6 เดือน จึงเก็บตัวอย่างใบในตำแหน่งที่ 4 - 6 นับจากปลายยอด นำมาทำความสะอาดแล้วอบแห้งในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างใบที่ได้เก็บไว้ในเครื่องดูดความชื้น (desiccator) เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

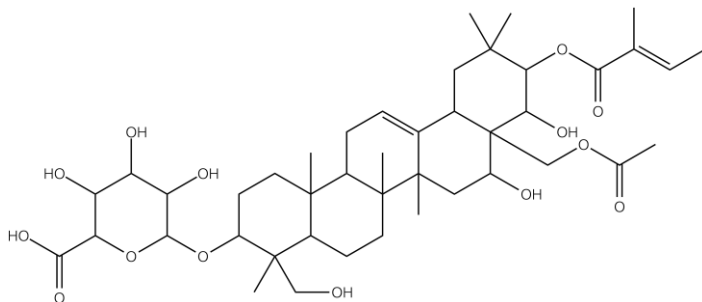


Figure 1. Chemical structure of gymnemic acid

การศึกษาลักษณะใบเชียงดา

เก็บใบเชียงดาจากต้นที่ปลูกไว้มาศึกษา ลักษณะทางกายภาพของใบของกลุ่มใบรีกว้างและกลุ่มใบรีแคบ โดยวัดขนาดใบ ได้แก่ ความกว้าง ความยาว และอัตราส่วนของความยาวต่อความกว้าง (length and width ratio)

วิธีการสกัดตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

การสกัดสารจากใบเชียงดาเลือกใช้วิธีการสกัดแบบร่อนโดยใช้วิธี soxhlet extraction เพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญสูงที่สุด ตามวิธีการสกัดของ Pandey and Yadav (2010) โดยเริ่มจากนำใบเชียงดาที่ผ่านการอบแห้งมาบดละเอียดด้วยโม่บด แล้วผ่านการร่อนด้วยตะแกรงเบอร์ 20 ให้เป็นผงขนาดน้อยกว่า 0.825 มิลลิเมตร จากนั้นชั่งตัวอย่างใบ จำนวน 1 กรัม ใส่ใน cellulose thimble เติมน้ำสกัดละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร จำนวน 50 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลม สกัดแบบไหลย้อนกลับนาน 30 นาทีและกรอง นำใบเชียงดาที่กรองได้ทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง นำสารละลายสกัดที่สกัดได้รวมกัน จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator) ได้สารสกัดหยาบใบเชียงดา เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

การเตรียมสารตัวอย่างด้วยวิธี acidic-basic hydrolysis เพื่อหาปริมาณกรดจิมนิมิก นำสารสกัดหยาบของใบ จำนวน 1 กรัม เติมน้ำสกัดละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร จำนวน 50 มิลลิลิตร และเติมน้ำสกัดละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 11 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร สกัดแบบไหลย้อนกลับนาน 1 ชั่วโมง รอให้สารสกัดมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง จึงเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จำนวน 0.9 มิลลิลิตร สกัดแบบไหลย้อนกลับอีกครั้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นปรับค่าความเป็นกรดของสารสกัดให้มีค่าเป็นกลาง แล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดจิมนิมิกด้วยเทคนิค HPLC ต่อไป

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

ใช้วิธีวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของใบเชียงดาแห้ง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และกากใย ตามวิธีการของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000) และปริมาณน้ำตาลตามวิธีของ James (1995)

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก

ใช้สารสกัดหยาบใบเชียงดาจำนวน 1 มิลลิกรัม มาละลายในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมน้ำสกัดละลาย Folin-Ciocalteu's phenol reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร หลังจากเวลาผ่านไป 5 นาที เติมน้ำสกัดละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 13 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ในสภาพที่มืด อุณหภูมิประมาณ 23 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำมาตรวจวัดด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิกมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 5-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวเทียบเคียง ตามวิธีการของ Kim *et al.* (2003)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดจิมนิมิก

ใช้เทคนิคการวิเคราะห์แยกสารผสมที่อยู่ในสถานะของเหลวโดยดัดแปลงตามวิธีของ Devi and Jain (2014) และ Pandey and Yadav (2010) ด้วยเครื่อง HPLC (ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น SLC-10Avp) บั๊มรุ่น LC-10ADvp ต่อกับเครื่อง Degasser (รุ่น DGU-14A) และเครื่องตรวจวัดชนิด Photo-diode array (รุ่น SPD-M10Avp) สารละลายตัวอย่างถูกฉีดแบบระบบอัตโนมัติ (ด้วยเครื่องรุ่น SIL-10ADvp) สารละลายจะถูกแยกโดยคอลัมน์ชนิด Kromasil C18 (ขนาด 100x4.6 มิลลิเมตร ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5 ไมโครเมตร) เฟสคงที่เป็นแบบผันกลับได้ และเชื่อมต่อกับการ์ดคอลัมน์ ขนาด 4x3 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมระหว่าง $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ ในอัตราส่วน 80:20 โดยปริมาตร การแยกสารภายใต้ระบบนี้ใช้อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่คงที่ด้วยอัตราการไหลเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร

ก่อนนำที่ ตรวจวัดโดยใช้ photodiode array detector (PDA) ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร เป็นเวลา 15 นาที โดยมีกรดจิมนิมีกมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 5 - 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวเทียบเคียง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลและนำเสนอในรูปแบบของ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ S.D.) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีทางสถิติ T-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาลักษณะใบเชียงดา

ขนาดของใบเชียงดาในระยะเฟสลาดมีลักษณะแตกต่างกันของกลุ่มใบรีกว้างและกลุ่มใบรีแคบ (ภาพที่ 2) โดยวัดความกว้างใบจากขอบใบด้านซ้ายถึงขวาและความยาวใบจากฐานใบถึงปลายใบ พบว่าใบของกลุ่มใบรีกว้างมีความกว้างเฉลี่ย 11.17 ± 0.56 เซนติเมตร และความยาวเฉลี่ย 15.70 ± 0.20 เซนติเมตร ส่วนใบของกลุ่มใบรีแคบมีความกว้างเฉลี่ย 9.10 ± 0.49 เซนติเมตร และความยาวเฉลี่ย 18.07 ± 0.12 เซนติเมตร สำหรับอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของใบเชียงดา พบว่าอัตราส่วน

ความยาวต่อความกว้างใบของทั้งสองกลุ่มแสดงค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยกลุ่มใบรีกว้างมีสัดส่วนความยาวต่อความกว้าง เท่ากับ 1.41 ± 0.10 และกลุ่มใบรีแคบมีสัดส่วน เท่ากับ 2.00 ± 0.21

จากผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของ ใบเชียงดาแห้งทั้งสองกลุ่ม พบว่าเชียงดากลุ่มใบรีกว้างพบปริมาณโปรตีน ไขมัน และกากใย อยู่ที่ร้อยละ 20.63 ± 1.08 , 3.88 ± 0.31 และ 16.66 ± 0.98 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนเชียงดากลุ่มใบรีแคบพบปริมาณโปรตีน ไขมัน และกากใย ที่ร้อยละ 21.52 ± 0.50 , 3.44 ± 0.56 และ 16.58 ± 0.34 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในเชิงปริมาณของโปรตีน ไขมัน และกากใยในใบเชียงดาของทั้งสองกลุ่มนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) แต่ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในเชียงดากลุ่มใบรีแคบ ให้ค่าที่ร้อยละ 6.70 ± 0.81 ซึ่งพบในปริมาณมากกว่ากลุ่มใบรีกว้าง ที่มีค่าร้อยละ 4.68 ± 0.28 ของน้ำหนักแห้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จึงแสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์และการสะสมน้ำตาลของใบเชียงดาทั้งในรูปแบบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่มีปริมาณที่แตกต่างกัน ทั้งนี้โมเลกุลของน้ำตาลเป็นสารประกอบปฐมภูมิและเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์สารทุติยภูมิของสารประกอบไกลโคไซด์ในพืช และยังขึ้นอยู่กับชนิดหรือสายพันธุ์ของพืชด้วย (Spencer, 1988)

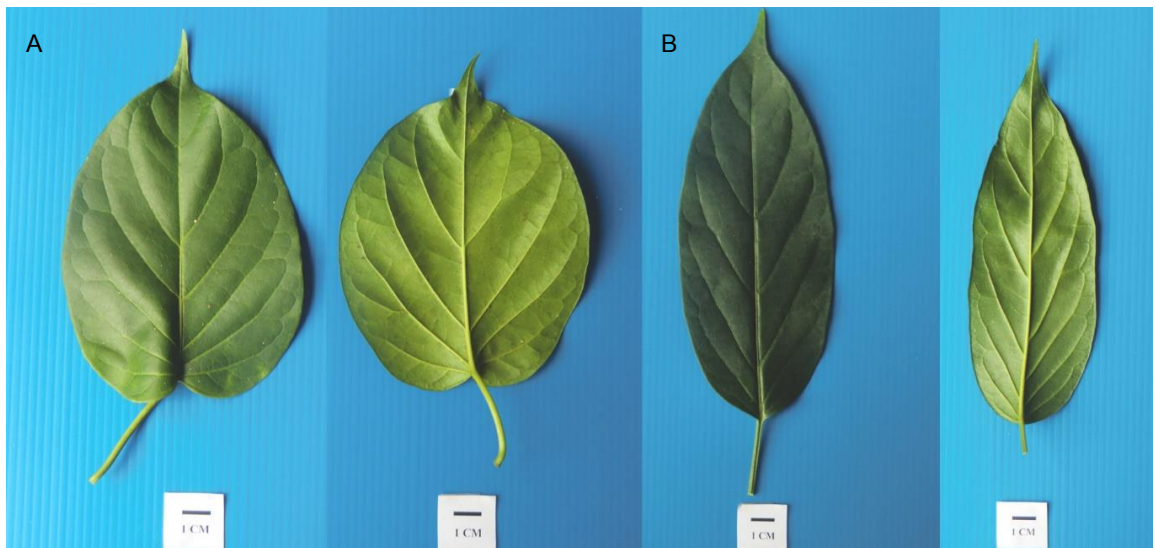


Figure 2. Leaf characteristic of *Gymnema inodorum* Decne. (A: Broad leaf group; B: Narrow leaf group)

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกในใบเชียงดา โดยใช้เทคนิค spectrophotometry เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกที่สมมูลกับกรดแกลลิก (gallic acid) พบว่าสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกที่มีการสะสมในใบเชียงดาทั้งสองกลุ่มไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติในเชิงปริมาณ (ตารางที่ 2) โดยพบปริมาณฟีนอลิกในใบเชียงดาของกลุ่มที่มีใบรีแคบและกลุ่มที่มีใบรีกว้าง เท่ากับ 18.18 ± 0.04 และ 17.09 ± 0.77 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณในใบใกล้เคียงกับในงานของ วารี และวิพัทธ์ (2554) ได้รายงานว่ามีปริมาณฟีนอลิกในใบเท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานเช่นเดียวกัน แต่ให้ผลแตกต่างจากรายงานของ ภัทราภรณ์ และคณะ (2555) ที่พบปริมาณฟีนอลิกอยู่เพียง 2.44 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ทั้งนี้ความแตกต่างของปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในใบเชียงดาอาจมีสาเหตุมาจากปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ สายพันธุ์ การปฏิบัติดูแลรักษา สภาพแวดล้อม เป็นต้น ที่ส่งผลต่อปริมาณการสะสมในใบเชียงดาได้ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกับพืชชนิดอื่น จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบจากใบเชียงดามีปริมาณฟีนอลิกใกล้เคียง

กับข้าวกล้องงอกสังข์หยดของจังหวัดพัทลุง (อุไรวรรณ และคณะ, 2554) และในดอกไม้กินได้บางชนิด เช่น ดาวเรือง เพ็ญฟ้า เข็ม พุดซ้อน และกุหลาบมอญ (พสุธร และสรณะ, 2559)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดจิมนิมิก

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดจิมนิมิกในใบเชียงดาด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง แสดงด้วยโครมาโทแกรม (ภาพที่ 3) โดยกรดจิมนิมิกมาตรฐานที่ความเข้มข้น 5 - 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวเทียบเคียง พบที่ retention time 2.496 นาที ขณะที่สารสกัดใบเชียงดากลุ่มใบรีกว้างและกลุ่มใบรีแคบพบที่ retention time 2.368 และ 2.379 นาที ตามลำดับ เมื่อคำนวณปริมาณกรดจิมนิมิกที่มีการสะสมในใบเชียงดาของกลุ่มใบรีกว้างและกลุ่มใบรีแคบ พบปริมาณอยู่ที่ร้อยละ 2.44 ± 0.02 และ 2.50 ± 0.11 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าการเลือกใช้ใบเชียงดาในทั้งสองกลุ่มนี้สามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรสำหรับควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดจะให้ผลได้ใกล้เคียงกันและเป็นไปในทำนองเดียวกับงานของ ปรีทัศน์ และคณะ (2557)

Table 1. Nutritional analysis in two groups of *Gymnema inodorum* Decne. leaves

Leaf types	Protein (%)	Crude fat (%)	Fiber (%)	Total sugar (%)
Broad leaves	20.63 ± 1.08	3.88 ± 0.31	16.66 ± 0.98	4.68 ± 0.28 b
Narrow leaves	21.52 ± 0.50	3.44 ± 0.56	16.58 ± 0.34	6.70 ± 0.81 a
T-test	ns	ns	ns	*
CV (%)	4.24	13.00	3.99	21.70

Means in the same column followed by different letters are significantly difference (n = 3), * = significant (P<0.05),

ns = non-significant, CV = coefficient of variation

Table 2. Comparison of phenolic content in two groups of *Gymnema inodorum* Decne. leaves

Leaf types	Total phenolic content (mg GAE/g DW)
Broad leaves	17.09 ± 0.77
Narrow leaves	18.18 ± 0.04
T-test	ns
CV (%)	5.14

GAE = equivalent gallic acid, means in the same column followed by different letters are significantly difference (n = 3)

ns = non-significant, CV = coefficient of variation

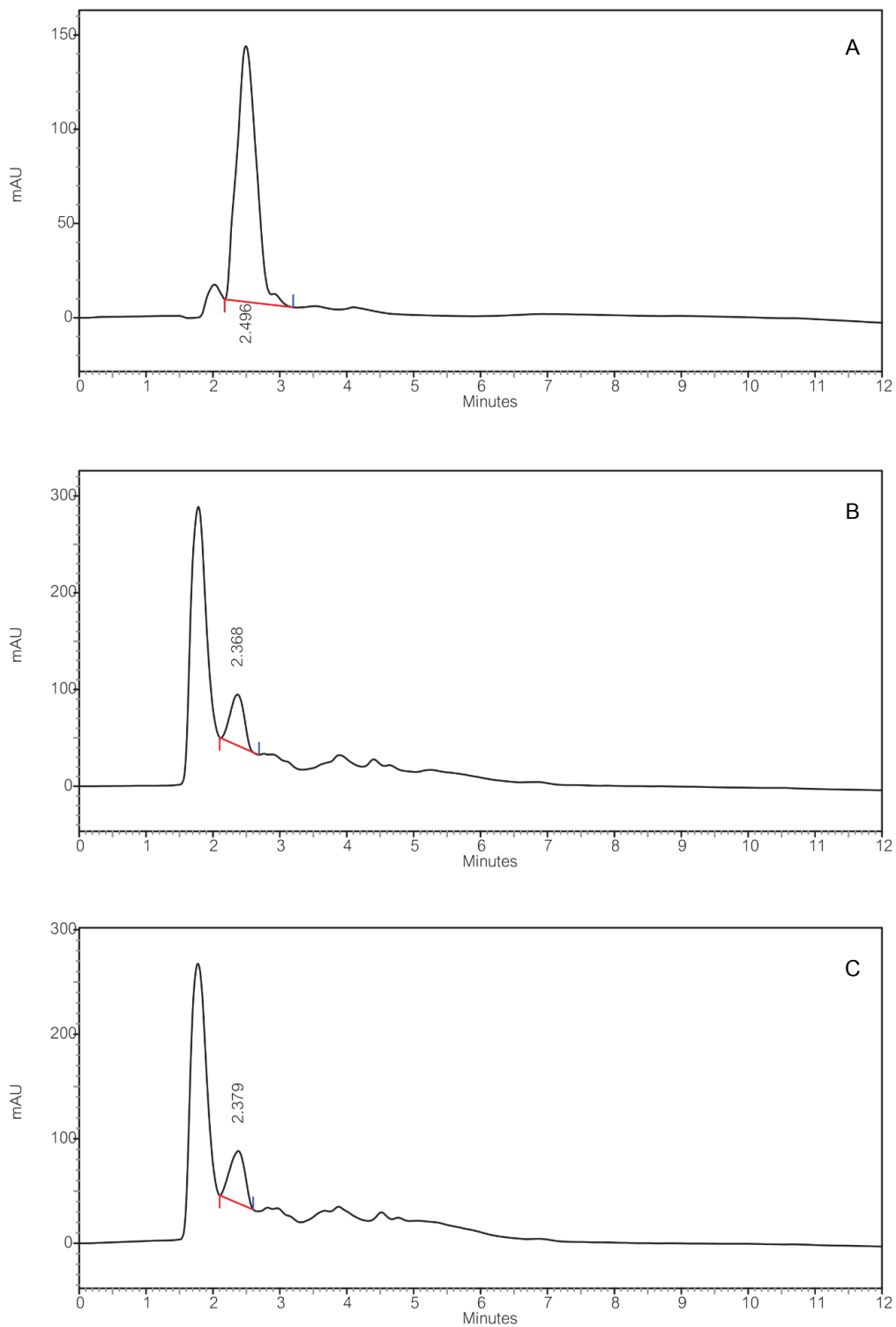


Figure 3. Representative HPLC-PDA chromatograms of gymnemic acid at 210 nanometers. (A: Standard gymnemic acid at 100 ug/mL; B: *Gymnema inodorum* Decne. board leaves extracted; C: *Gymnema inodorum* Decne. narrow leaves extracted)

Table 3. Gymnemic acid content in *Gymnema inodorum* Decne. leaves detected by HPLC-PDA

Leaf types	Gymnemic acid content (g/100g DW)
Broad leaves	2.44 ± 0.02
Narrow leaves	2.50 ± 0.11
T-test	ns
CV (%)	3.86

Means in the same column followed by different letters are significantly difference (n = 3)

ns = Non-significant, CV = Coefficient of variation

ที่กล่าวว่าในใบเชียงดาจะสะสมกรดจิมนิมิกสูงกว่าในใบอ่อนเกือบถึงสองเท่า (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ซึ่งกรดจิมนิมิกเริ่มมีการสะสมมาตั้งแต่ในระยะใบอ่อนและพบปริมาณผันแปรไปได้ตามอายุของใบเชียงดา

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดจิมนิมิกของพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Apocynaceae เช่นเดียวกันกับเชียงดา เช่น ในใบ *Gymnema sylvestre* มีปริมาณการสะสมของกรดจิมนิมิกอยู่ร้อยละ 2.77 (Manohar *et al.*, 2009) ให้ผลในการทำงานเหมือนกับในงานของ Pandey and Yadav (2010) ได้พบปริมาณกรดจิมนิมิกในใบ *G. sylvestre* อยู่ระหว่างร้อยละ 0.96 - 1.58 ของน้ำหนักแห้ง แต่ผลการวิเคราะห์ในใบของ *G. sylvestre* ในประเทศอินเดีย พบปริมาณกรดจิมนิมิกถึงร้อยละ 3.9 - 4.6 (Trivedi *et al.*, 2011) และยังมีรายงานผลการวิเคราะห์ในใบ *G. sylvestre* ของประเทศญี่ปุ่น ซึ่งพบถึงร้อยละ 3.9 - 9.6 (Toshihiro *et al.*, 1994) ซึ่งมีปริมาณที่วิเคราะห์ได้มากที่สุดด้วย ดังนั้น อาจแสดงให้เห็นว่าปัจจัยภายนอกต่าง ๆ เช่น พื้นที่ปลูก สภาพแวดล้อม และสภาพอากาศ เป็นต้น อาจมีผลต่อการสะสมปริมาณกรดจิมนิมิกในใบพืชได้

สรุป

การศึกษาความแตกต่างของลักษณะใบเชียงดาสองกลุ่มที่มีใบรีกว้างและใบรีแคบนั้น พบว่าปริมาณฟีนอลิกและกรดจิมนิมิกที่วิเคราะห์ได้ในใบของทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน โดยปริมาณฟีนอลิกในกลุ่มใบรีกว้างและกลุ่มใบรีแคบ เท่ากับ 17.09 และ 18.18 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดจิมนิมิกในกลุ่มใบรีกว้างและกลุ่มใบรีแคบ เท่ากับ 2.44 ± 0.02 และ 2.50 ± 0.11 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

จากผลการทดลองครั้งนี้ จึงสรุปได้ว่าการนำใบเชียงดาทั้งสองกลุ่มที่มีลักษณะใบแตกต่างกันไปใช้ประโยชน์เป็นพืชสมุนไพรให้คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณสารสำคัญได้ใกล้เคียงกัน ดังนั้น การเลือกใช้ใบเชียงดาของทั้งสองลักษณะนี้ จึงมีศักยภาพและเหมาะสมสำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรได้เช่นเดียวกัน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้งบประมาณสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริและศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเชียงใหม่ และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการกลาง และห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- ชาญชัย สาดแสงจันทร์. 2552. เกษตรโภชนา กินผักให้เป็นยา. บัณฑิต ฑู ฑู, กรุงเทพฯ. 286 หน้า.
- เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. สอนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ. 810 หน้า.
- นวลศรี รักธริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิสิฐ. 2545. แอนติออกซิเดนท์: สารต้านมะเร็งในผักและสมุนไพรไทย. นพบุรีการพิมพ์. เชียงใหม่. 281 หน้า.
- ประทุมพร ยิ่งธงชัย พรรัตน์ ศิริคำ พงศธร ธรรมณอม และ บาจริย์ ฉัตรทอง. 2556. ความหลากหลาย

- ทางพันธุกรรมและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวเคมีของผักพื้นบ้าน (ระยะที่ 2). รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 125 หน้า.
- ปริทัศน์ แสนโสม ญัฐพล มิตรสันเทียะ และ วราภรณ์ ภูตะลุน. 2557. ปริมาณกรดโคโรซิกในอินทนิลน้ำและอินทนิลบก และสารจีไอเอวันในผักเชียงดาโดยวิธีโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 9: 162.
- พรรตน์ ศิริคำ สุริยา ตาเที่ยง ลัดดาวัลย์ ยอดเพชร และ ฐิฎิพันธ์ ปันทะศรีวิชัย. 2559. อัตราการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยเคมีที่มีผลต่อผลผลิตและปริมาณธาตุอาหารในผักเชียงดา. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, กรุงเทพฯ. 60 หน้า.
- พสุธร อุ๋นอมรรมาศ และ สรณะ สมโน. 2559. การวิเคราะห์หาสารสำคัญและฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้บางชนิด. วารสารเกษตร 32(3): 435-445.
- พิทักษ์ พุทธรชัช ชีรวัดย์ ชาญฤทธิเสน ปริญญาวดี ศรีตันทิพย์ และ นภา ชันสุภา. 2559. การจำแนกผักเชียงดา (*Gymnema inodorum* (Lour.) Decne.) ตามลักษณะพื้นฐานของใบ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 3(ฉบับพิเศษ III): M10/23-29.
- ภัทรภรณ์ ศรีสมรรถการ ชีรวัดย์ ชาญฤทธิเสน ปัทมา ไทยอยู่ ญัฐธมณ คิตชัย และ ปาริชาติ ณ น่าน. 2555. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากผักเชียงดา (*Gymnema inodorum* (Lour.) Decne.). รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา, ลำปาง. 118 หน้า.
- รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. 2536. สมุนไพรรักษาโรคเรื้อรังบางชนิด. ภาควิชาเภสัชพิษวิทยา ศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 145 หน้า.
- วาริ ใจวิเสน และ วรพัทธ์ อารีกุล. 2554. การวิเคราะห์กิจกรรมในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านไทยบางชนิด. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 29: 41-50.
- อารียา สุนันทบุตร ชูศรี ตลับมุข และ สอนอง จอมเกาะ. 2551. ผลของผงและสารสกัดจากใบชะพลูและลำต้นบอระเพ็ดต่อระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและค่าทางโลหิตวิทยาในหนูเบาหวาน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 27(3): 227-232.
- อุไรวรรณ วัฒนกุล วัฒนา วัฒนกุล นพรัตน์ มะเห และ พิฑูรย์ จรุงรัตน์. 2554. อายุการเก็บเกี่ยวและอายุการเก็บรักษาต่อคุณค่าทางโภชนาการบางประการของข้าวกล้องอกสังข์หยดอินทรีย์. วารสารเกษตร 27(2): 165-174.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD. 2200 p.
- Devi, K. and N. Jain. 2014. A validate HPLC for estimation of gymnemic acids as deacyl gymnemic acid in various extracts and formulations of *Gymnema sylvestre*. International Journal of Phytomedicine 6: 165-169.
- James, C.S. 1995. Analytical Chemistry of Foods. Blackie Academic & Professional, Glasgow, U.K. 177 p.
- Kim, D.O., S.W. Jeong and C.Y. Lee. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chemistry 81: 321-326.
- Manohar, S.H., P.M. Naik, N. Praveen and H.N. Murthy. 2009. Distribution of gymnemic acid in various organs of *Gymnema sylvestre*. Journal of Forestry Research 20: 268-270.
- Pandey, A.K. and S. Yadav. 2010. Variation in gymnemic acid content and non-destructive harvesting of *Gymnema*

- sylvestre* (Gudmar). Pharmacognosy Research 2: 309-312.
- Shanmugasundaram, K.R., C. Panneerselvam, P. Samudram and E.R. Shanmugasundaram. 1983. Enzyme changes and glucose utilization in diabetic rabbits: the effect of *Gymnema sylvestre* R. Br. Journal of Ethnopharmacology 7: 205-234.
- Spencer, K.C. 1988. Glycosides the interface between plant secondary and insect primary metabolism. American Chemical Society Symposium Series 380: 403-416.
- Sugihara, Y., H. Nojima, H. Matsuda, T. Murakami, M. Yoshikawa and I. Kimura. 2000. Antihyperglycemic effects of gymnemic acid IV, a compound derived from *Gymnema sylvestre* leaves in streptozotocin-diabetic mice. Journal of Asian Natural Products Research 2: 321-327.
- Toshihiro, Y., M. Kenzi, O. Kenzo and T. Osamu. 1994. Quantitative analysis of gymnemic acids by high performance liquid chromatography. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi 41: 202-205.
- Trivedi, P.D., K. Pundarikakshudu and K. Shah. 2011. A validated reverse phase liquid chromatographic method for quantification of gymnemagenin in the *Gymnema sylvestre* R. Br. leaf samples, extract and market formulation. International Journal of Applied Science and Engineering 9: 25-31.
- WHO. 2017. Global report on diabetes. (Online). Available: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf (November 3, 2017).
-

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากวัชพืชบางชนิด

Antioxidant Capacity of Some Weed Crude Extracts

จุฑามาศ เมรสนัด¹ วณิดา สืบสายพรหม² ทศพล พรพรหม¹ และ จำเนียร ชมภู^{1*}

Jutamas Merasanud¹, Wanida Suebsaiprom², Tosapon Pornprom¹
and Jamnian Chompoo^{1*}

¹ภาควิชาพืชไร่และ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

¹Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140, Thailand

²ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

²Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: Email: agrjnc@ku.ac.th

(Received: 25 January 2018; Accepted: 30 April 2018)

Abstract: Utilization of weeds as medicinal plants is an alternative weed control and valued added. The objectives of this study were to determine phytochemical contents and investigate antioxidant activity of crude extracts from leaf of nine weed species including *Bidens pilosa* L., *Eclipta prostrata* L., *Borreria laevis* (Lam.) Griseb, *Tribulus cistoides* L., *Limnocharis flava* (L.) Buchenau, *Amaranthus spinosus* L., *Vernonia cinerea* (L.) Less, *Cleome viscosa* L. and *Phyllanthus niruri* L. Dry leaves were homogenized to powder and then extracted with an aqueous comparing with ethanol (80%). Phytochemical contents viz. phenolics and flavonoids of sample extracts were analyzed and antioxidant capabilities using 2,2-diphenyl-1-picryl-1-hydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazole-6-sulphonic acid (ABTS), phenazine methosulfate- nicotinamide adenine dinucleotide (PMS-NADH) and nitric oxide radical scavengings were tested. The results showed that ethanolic extracts from all weed species had greater phenolic and flavonoid contents than aqueous extracts. We found that ethanolic extracts of *B. laevis* and *P. niruri* had higher in both phytochemical contents than the others. Moreover, ethanolic extracts of *B. laevis* and *P. niruri* had greater inhibiting DPPH (IC_{50} = 58.69 and 89.90 μ g/mL, respectively) and ABTS radical scavenging (IC_{50} = 96.63 and 113.58 μ g/mL, respectively) than the others. Furthermore, ethanolic extract of *B. laevis* has similar activity to tocopherol (IC_{50} = 51.65 μ g/mL) against DPPH radical scavenging. In case of inhibiting PMS-NADH and nitric oxide scavengings, the effects of all leaf extracts from weeds were not pronounced. However, further research on identification of chemical compounds from *B. laevis* and *P. niruri* extracts should be conducted.

Keywords: Weed, phytochemical, antioxidant

บทคัดย่อ: การนำวัชพืชมาใช้เป็นประโยชน์เพื่อเป็นยาสมุนไพรเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมวัชพืช และเป็นการเพิ่มมูลค่า การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมีและทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบของวัชพืช จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ก้านจันทน์ กะเม็ง เขมรเล็ก โคกกระสุน ตาลปัตรฤๅษี ผักโขมหนาม ผักละออง ผักเสี้ยนผี และลูกใต้ใบ โดยนำส่วนของใบวัชพืชอบให้แห้ง และบดละเอียด สกัดด้วยน้ำที่เปรียบเทียบกับเอทานอล (80%) แล้ววิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบพวก phenolics และ flavonoids และทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยปฏิกิริยา DPPH, ABTS, PMS-NADH และ nitric oxide radical scavengings ผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากวัชพืชทุกชนิดมีปริมาณของสารพฤกษเคมีพวก phenolics และ flavonoids มากกว่าสารสกัดด้วยน้ำ โดยที่สารสกัดด้วยเอทานอลจากเขมรเล็กและลูกใต้ใบมีปริมาณสารพฤกษเคมีทั้งสองชนิดนี้มากกว่าสารสกัดจากวัชพืชชนิดอื่น นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากเขมรเล็กและลูกใต้ใบมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา DPPH (IC_{50} เท่ากับ 58.69 และ 89.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) และ ABTS radical scavengings (IC_{50} เท่ากับ 96.63 และ 113.58 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ได้สูงกว่าสารสกัดจากวัชพืชอื่น โดยที่สารสกัดด้วยเอทานอลจากเขมรเล็กสามารถยับยั้งปฏิกิริยา DPPH radical scavenging ได้ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน tocopherol (IC_{50} เท่ากับ 51.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดจากวัชพืชทดสอบในการต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา PMS-NADH และ nitric oxide radical scavenging นั้นมีผลการทดลองไม่เด่นชัดมากนัก อย่างไรก็ตามจะทำการศึกษานิตของสารพฤกษเคมีในสารสกัดจากเขมรเล็ก และลูกใต้ใบต่อไป

คำสำคัญ: วัชพืช พฤกษเคมี ต้านอนุมูลอิสระ

คำนำ

การเกิดโรคภัยไข้เจ็บของมนุษย์มีสาเหตุมาจากการเสื่อมสภาพของเซลล์ ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้จากอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นภายในและนอกร่างกายของมนุษย์ (Ames *et al.*, 1993) อนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นได้จากมลพิษ ควันบุหรี่ ความเครียด ความเจ็บป่วย แม้กระทั่งการออกกำลังกายก็สามารถเพิ่มการรับสารอนุมูลอิสระได้ โดยที่การรับอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเมื่อร่างกายนำออกซิเจนเข้าไปใช้ มีผลต่อกระบวนการชรา และการเกิดโรคในมนุษย์ (Percival, 1998) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) มีบทบาทสำคัญในการชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของอนุมูลอิสระของ oxygen (reactive oxygen species; ROS) ที่จะเกิดขึ้นกับ lipid, protein และ DNA ในร่างกายของมนุษย์ (Sharma *et al.*, 2012) จากผลการวิจัยทางด้านเภสัชวิทยาว่า สารพฤกษเคมี (phytochemical) ซึ่งเป็นสารเคมีตามธรรมชาติที่พบในพืช มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ทั้งนี้สารประกอบพวก phenolics และ flavonoids

เป็นกลุ่มสารที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เพราะสารกลุ่มนี้มีสรรพคุณทางยาหลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Ghasemzadeh *et al.*, 2010) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดเป็นส่วนประกอบที่สะสมอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด โดยปริมาณของสารจะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดและพันธุ์พืช การจัดการแปลง สภาพแวดล้อม และวิธีการสกัดสาร (King and Young, 1999)

วัชพืช (weeds) เป็นพืชที่มีคุณสมบัติโตเร็ว สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และมีการขยายพันธุ์ได้จำนวนมากและรวดเร็ว จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญที่สามารถแก่งแย่งปัจจัยที่ใช้ในการเจริญเติบโตกับพืชปลูก ส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพผลผลิตของพืชปลูกที่ลดลง ทำให้เกษตรกรมีต้นทุนเพิ่มขึ้นในการจัดการวัชพืชในแปลงปลูก (พรชัย, 2540) ในทางกลับกันวัชพืชบางชนิดถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้วัชพืชหลายชนิดยังมีรายงานสรรพคุณทางเภสัชวิทยาสามารถนำมาใช้เพื่อเป็นยา

สมุนไพร ตัวอย่างเช่น ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*) มีรายงานว่าพืชชนิดนี้มีสรรพคุณในการแก้ชัก เต้น โรคลมบ้าหมู และสามารถนำมาใช้เป็นยาชาระงับความรู้สึกได้ (Beck *et al.*, 2018) ส่วน Zalke *et al.* (2013) รายงานว่า โคกกระออม (*Cardiospermum halicacabum*) สามารถนำมาใช้เป็นยาสำหรับลดอาการปวดเมื่อย รักษาอาการไขข้ออักเสบ บรรเทาอาการระคายเคือง และมีฤทธิ์เป็นยาชา ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากวัชพืชนั้นจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการควบคุมวัชพืชและเป็นการสร้างรายได้ให้กับเกษตรกร จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในวัชพืช พบว่าวัชพืชหรือพืชมีสารพฤกษเคมี (phytochemicals) มากมายที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) (โอบา, 2549) ซึ่งสารในกลุ่ม polyphenolic, flavonoids, carotenoids, tocopherols และ ascorbic acid เป็นสารพฤกษเคมีกลุ่มที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (Sexena *et al.*, 2013) การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมี และทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากวัชพืช จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ก้านจ้าวขาว กะเม็ง เขมรเล็ก โคกกระสุน ตาลปัตรฤาษี ผักโขมหนาม ผักละออง ผักเสี้ยนผี และลูกใต้ใบ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างวัชพืช

ตัวอย่างวัชพืช จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ก้านจ้าวขาว (*Bidens pilosa* L.) กะเม็ง (*Eclipta prostrata* L.) เขมรเล็ก (*Borreria laevis* (Lam.) Griseb.) โคกกระสุน (*Tribulus cistoides* L.) ตาลปัตรฤาษี (*Limncharis flava* (L.) Buchenau) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.) ผักละออง (*Vernonia cinerea* (L.) Less) ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.) และลูกใต้ใบ (*Phyllanthus niruri* L.) เก็บจากพื้นที่ทั่วไปในบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม นำส่วนของวัชพืช ล้างน้ำให้สะอาด นำไปอบแห้งในตู้อบแห้งแบบลมร้อน อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วบดให้เป็นผง

บดละเอียดคล้ายแป้งด้วยเครื่องบด นำตัวอย่างวัชพืชบดละเอียดแช่ในตัวทำละลาย อัตรา 1:10 (กรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับการสกัดด้วยน้ำ ทำการสกัดโดยวิธีการต้มเดือด นาน 20 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ส่วนสกัดด้วยเอทานอล ทำการสกัดด้วยวิธีการหมัก (maceration) โดยแช่ตัวอย่างวัชพืชบดละเอียดในเอทานอล 80% อัตราส่วนดังกล่าวข้างต้น วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 หลังจากนั้นนำสารละลายจากวัชพืชไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง evaporator ที่ภาวะควบคุมอุณหภูมิ 50°C ได้เป็นสารสกัดหยาบ (crude extract)

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี

2.1 ปริมาณสาร total phenolics

เตรียมสารละลายตัวอย่างด้วยการละลายสารสกัดหยาบจากวัชพืชด้วยตัวทำละลายน้ำหรือเอทานอล 80% ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณของ total phenolics โดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ตามวิธีของ Kahkonen *et al.* (1999) สารละลายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate เติมน้ำ 50 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติม 50 ไมโครลิตร ของ Folin-phenol reagent (อัตราส่วน 1:1; reagent: water) และ 80 ไมโครลิตร ของ sodium carbonate (7.5%) เขย่าสารละลายให้เข้ากัน นำไปวางไว้ในที่มืด หลังจาก 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid (GAE) เมื่อ $y = 0.004x + 0.087$ ($R^2 = 0.994$) มีหน่วยเป็น mg GAE/ g extract

2.2 ปริมาณสารพวก flavonoids

วิเคราะห์ปริมาณของ total flavonoids ตามวิธีของ Djeridane *et al.* (2006) นำสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงใน 96-well plate เติมน้ำ 200 ไมโครลิตร ของสารละลาย aluminium chloride (2%) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร

เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ rutin (Ru) เมื่อ $y = 0.007x - 0.003$ ($R^2 = 0.999$) มีหน่วยเป็น mg RE/ g extract

3. การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

3.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยใช้ปฏิกิริยา DPPH radical scavenging

ทำการทดลองตามวิธีของ Boskou *et al.* (2006) เตรียมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และ sodium acetate buffer (pH 5.5) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับน้ำและเอทานอล 80% โดยใช้ tert-butyl hydroxytoluene (BHT) และ tocopherol เป็นสารมาตรฐานหรือ positive control

3.2 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยใช้ปฏิกิริยา ABTS radical scavenging

ผสมสารละลาย 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) กับ potassium persulfate (ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมล) นำไปไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา oxidation อย่างสมบูรณ์ ได้เป็น $ABTS^{\bullet+}$ หลังจากนั้น 16 ชั่วโมง นำสารละลายวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.700 ± 0.050 ใส่สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากตัวอย่างพืชความเข้มข้น 10-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงในสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับน้ำและเอทานอล 80% โดยใช้ BHT และ tocopherol เป็นสารมาตรฐาน (Hsu *et al.*, 2011)

3.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยใช้ปฏิกิริยา PMS-NADH system superoxide-radical scavenging

เตรียมสารผสมของ nicotinamide adenine dinucleotide-reduced (NADH) (ความเข้มข้น 105 ไมโครโมล) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร กับ nitro blue tetrazolium (NBT) (ความเข้มข้น 66 ไมโครโมล) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ละลายใน phosphate buffer (ความเข้มข้น 0.1 โมล pH เท่ากับ 7.4) และสารสกัดจากตัวอย่างพืชความเข้มข้น 10-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเติมสาร phenazine methosulfate (PMS) (ความเข้มข้น 30 ไมโครโมล) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับน้ำและเอทานอล 80% โดยใช้ BHT และ tocopherol เป็นสารมาตรฐาน (Lau *et al.*, 2002)

3.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยใช้ปฏิกิริยา Nitric oxide radical scavenging

ทดสอบการเกิดปฏิกิริยา nitric oxide radical scavenging ด้วย Griess Illosvoy reaction ตามวิธีของ Govindarajan *et al.* (2004) นำสารผสม 300 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย sodium nitroprusside (SNP) (10 mM, 200 ไมโครลิตร) phosphate buffer saline (50 ไมโครลิตร) และสารสกัดจากพืชความเข้มข้น 10-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (50 ไมโครลิตร) ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 150 นาที เติม sulfanilic acid reagent (0.33% ใน acetic acid (20%)) หลังจากนั้น 5 นาที ใส่ *N*-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NEDH) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับน้ำ โดยใช้ BHT และ tocopherol เป็นสารมาตรฐานหรือ positive control

คำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา DPPH, ABTS, PMS-NADH และ nitric oxide radical scavenging จากสูตรดังนี้

$$\text{การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{[(\text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}} - \text{OD}_{\text{ตัวอย่าง}}) / \text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}}] \times 100}{}$$

เมื่อ $\text{OD}_{\text{ชุดควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของน้ำและเอทานอล 80%

$\text{OD}_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง และ positive control

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 6 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์

สารฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นสารประกอบทางเคมีที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติซึ่งพบได้ในพืชเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพมนุษย์ (Hasler and Blumberg, 1999) จากรายงานการวิจัยต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่าพืชหลายชนิดเป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยสาร

ต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเช่น polyphenolics, flavonoids, carotenoids, tocopherol และ ascorbic acid (Saxena *et al.*, 2013) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ได้แก่ phenolics และ flavonoids จากสารสกัดหยาบด้วยน้ำและเอทานอลของวัชพืชทั้ง 9 ชนิด (ตารางที่ 1) พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากลูกใต้ใบและเขมรเล็กมีปริมาณสาร phenolics สูงที่สุดแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวัชพืชชนิดอื่น ๆ รองลงมาคือ สารสกัดด้วยน้ำจากลูกใต้ใบ และสารสกัดด้วยเอทานอลจากกันจ้าว ตามลำดับ ส่วนปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ จะพบในสารสกัดด้วยเอทานอลจากเขมรเล็กมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดด้วยเอทานอลจากผักโขมหนาม นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างวัชพืชชนิดเดียวจากการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล พบว่าตัวอย่างของวัชพืชที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ phenolics และ flavonoids มากกว่าการสกัดด้วยน้ำจากคุณสมบัติของสารประกอบพวก phenolics และ flavonoids เป็นสารประกอบที่มีความเป็นขั้วปานกลางถึงสูง จึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วสูง ละลายในน้ำได้เล็กน้อย และจะละลายได้ดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (Pokorny *et al.*, 2001) ซึ่ง Fayaz *et al.* (2017) รายงานว่า น้ำเป็นตัวทำละลายสารในกลุ่ม alkaloid และ glycoside ได้ดี ส่วนเอทานอลจะมีประสิทธิภาพที่ดีใน

Table 1. Total phenolic and flavonoids contents of crude extracts from nine weed species

Weed species	Total phenolic content (GAE mg/g extract)		Total flavonoid content (Ru mg/g extract)	
	Aqueous extract	Ethanollic extract	Aqueous extract	Ethanollic extract
<i>Bidens pilosa</i> L.	31.57 ± 1.57 e ¹	54.50 ± 2.41 c	7.58 ± 0.76 f	87.82 ± 8.87 c
<i>Eclipta prostrata</i> L.	8.07 ± 0.09 i	44.17 ± 0.19 d	3.67 ± 0.33 f	74.98 ± 3.65 d
<i>Borreria laevis</i> (Lam.) Griseb	3.79 ± 0.36 j	95.17 ± 1.15 a	0.29 ± 0.29 f	171.79 ± 6.86 a
<i>Tribulus cistoides</i> L.	12.52 ± 0.54 h	29.57 ± 1.55 e	3.35 ± 0.02 f	55.29 ± 1.20 e
<i>Limnocharis flava</i> (L.) Buchenau	14.12 ± 0.36 gh	29.05 ± 0.93 e	8.94 ± 0.04 f	51.95 ± 2.74 e
<i>Amaranthus spinosus</i> L.	14.14 ± 0.03 gh	25.21 ± 0.65 f	6.00 ± 0.88 f	75.17 ± 4.83 d
<i>Vernonia cinerea</i> (L.) Less	16.12 ± 0.11 g	31.19 ± 1.07 e	0.77 ± 0.14 f	76.00 ± 7.08 d
<i>Cleome viscosa</i> L.	23.36 ± 1.27 f	30.39 ± 1.05 e	4.21 ± 0.23 f	68.86 ± 2.88 d
<i>Phyllanthus niruri</i> L.	78.98 ± 0.14 b	96.64 ± 4.10 a	55.13 ± 3.04 e	148.69 ± 5.03 b

¹ The data represent the mean ± SD of four determinations. Values with the same letter are not significantly different (P=0.01) from each other

การสกัดสารพวก sterol, flavonoid, phenolic และ alkaloid เช่นเดียวกับ Liu *et al.* (2011) รายงานว่า methanol และ ethanol สามารถละลายสารที่มีสภาพเป็น ขั้วสูงได้ดี เช่น สารพวก sugar, amino acid, phenolics, aglycon flavonoid, anthocyanin, terpenoid, sponin, tanin, xanthoxilin, totarol, quacinoind, lacton, flavone, phenone และ polyphenol ในขณะที่ น้ำ จะมี ประสิทธิภาพในการสกัดสารพวก glycoside, amino acid และ sugar ได้ดี (Dehkharghanian *et al.*, 2010) ส่วน Visht and Chaturvedi (2012) รายงานว่า ตัวทำละลายที่ดีควรมีค่าความเป็นขั้วที่เหมาะสมกับตัวถูกละลาย และมีความหนืด (viscosity) ต่ำ เพื่อให้มีการไหลเวียนภายใน เซลล์พืชที่ดี และเป็นการลดความหนาแน่นของตัวถูกละลายที่อยู่โดยรอบเซลล์ ซึ่งน้ำมีหมู่ hydroxyl อยู่ในโมเลกุลเป็นจำนวนมาก การแทรกซึมของตัวทำละลายจึงเกิดได้ดีขึ้น แต่มักใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำกับตัวทำละลายอื่น ๆ ในสัดส่วนที่เหมาะสม เพื่อช่วยในการแทรกซึมของตัวทำละลายเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้น ดังนั้นตัวทำละลายผสมของน้ำกับเอทานอลจึงดีกว่าการใช้ น้ำหรือเอทานอลเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ King and Young (1999) ยังรายงานว่ สารพฤษเคมีที่สามารถพบในพืช จะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด พันธุ์ ขึ้นส่วนของพืช การเพาะปลูก และวิธีการสกัด โดยที่ รัตนา และคณะ (2560) พบว่า ปัจจัยในการสกัด ได้แก่ อัตราส่วนโดย น้ำหนักของพืชต่อน้ำ อุณหภูมิในการสกัด และเวลาในการสกัด มีผลต่อความเข้มข้นของสารพวก anthocyanin ที่สกัดได้จากเมล็ดแห้งของข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง ซึ่ง Arya *et al.* (2012) พบว่า การสกัดใบฝรั่ง (*Psidium guajava*) ด้วยเอทานอลและไฮโดรเอทานอลจะมีปริมาณของสารพวก alkaloids, sponins, crbohydrates, tannin และ flavonoids สูงเมื่อเปรียบเทียบกับสารทำละลายอื่น เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และน้ำ จากการเปรียบเทียบปริมาณ สารพฤษเคมีจากใบของ *Sarracenia purpurea* ที่สกัดด้วยการต้มน้ำให้เดือดกับเอทานอล 80% พบว่า สารสกัดจากใบของพืชนี้ด้วยเอทานอลมีปริมาณของสารพวก phenolics สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำ

2. การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วยน้ำและเอทานอลจากวัชพืชทั้ง 9 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับต้านปฏิกิริยา DPPH, ABTS, PMS-NADH และ nitric oxide radical scavengings ผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากกันจ้ำขาว และลูกใต้ใบ และสารสกัดด้วยเอทานอลจากกันจ้ำขาว กะเม็ง เขมรเล็ก โคกกระสุน ตาลปัตรฤๅษี ผักเสี้ยนผี และลูกใต้ใบ สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของ stable radical DPPH[•] ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1A) ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยปฏิกิริยา ABTS radical scavenging พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากกันจ้ำขาว ผักเสี้ยนผี และลูกใต้ใบ และสารสกัดด้วยเอทานอลจากกันจ้ำขาว กะเม็ง เขมรเล็ก โคกกระสุน ผักเสี้ยนผี และลูกใต้ใบ มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของ ABTS^{•+} ในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1B)

สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยปฏิกิริยา oxidation ของสารในระบบ PMS-NADH ได้เป็นอนุมูลอิสระของ superoxide radical ($O_2^{\bullet-}$) พบว่าวัชพืชทั้ง 9 ชนิด ที่สกัดด้วยน้ำ มีประสิทธิภาพในการต้านปฏิกิริยา PMS-NADH ในขณะที่ สารสกัดด้วยเอทานอลไม่พบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านการเกิด $O_2^{\bullet-}$ โดยที่ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระด้วยปฏิกิริยา PMS-NADH radical scavenging ของสารสกัดด้วยน้ำจากวัชพืชทั้ง 9 ชนิดนี้อยู่ในช่วง 3.70-17.46 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1C) นอกจากนี้ ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ $NO^{\bullet}$ พบว่า สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากวัชพืชทั้ง 9 ชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา nitric oxide radical scavenging อยู่ใน ช่วง 3.49-33.61 เปอร์เซ็นต์ โดยที่พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากวัชพืชเกือบทุกชนิดที่ใช้ทดสอบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ $NO^{\bullet}$ ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ ยกเว้น สารสกัดจากผักโขม ผักละออง และลูกใต้ใบ (ภาพที่ 1D)

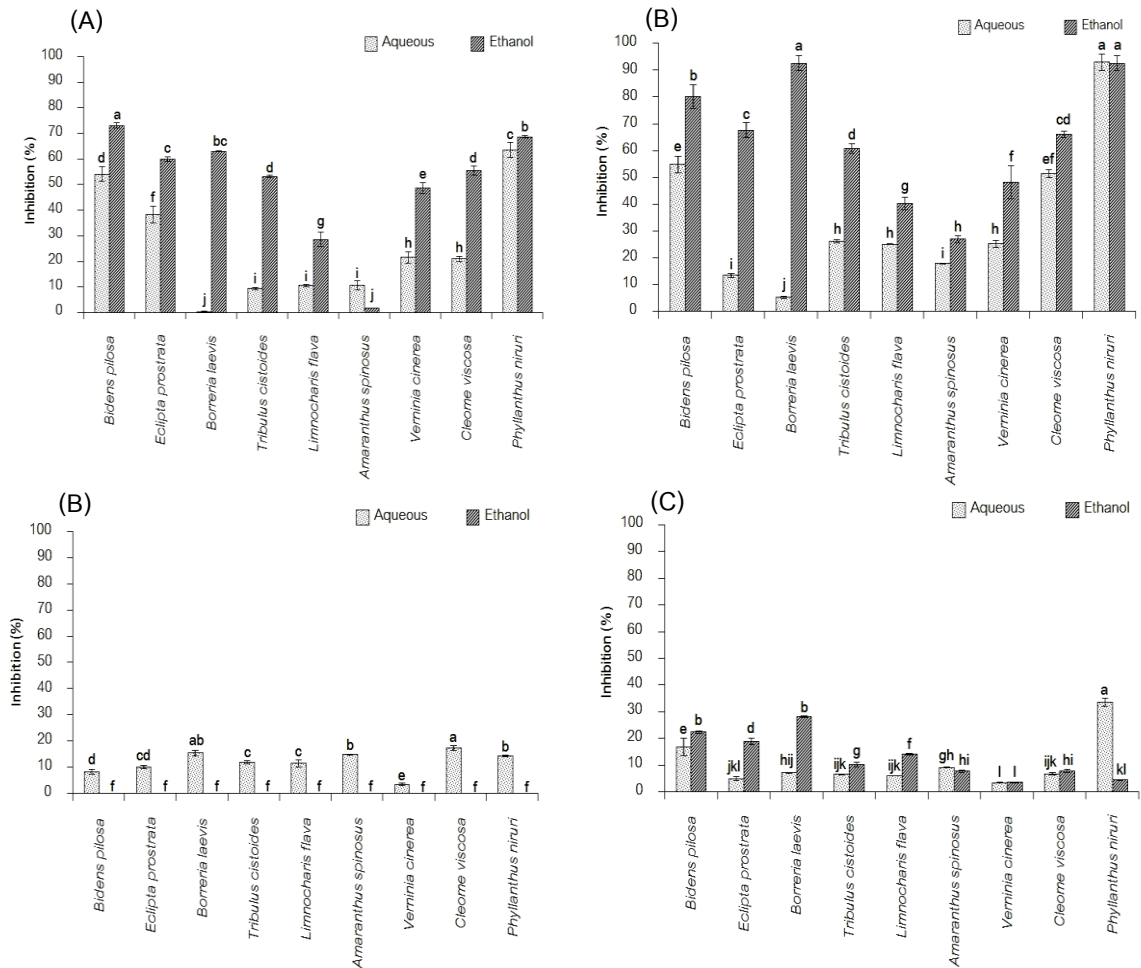


Figure 1. Percent inhibition of aqueous and ethanol extracts from nine weed species at concentration of 500 µg/mL on DPPH (A), ABTS (B), PMS-NADH (C) and nitric oxide (D) radical scavengings

เมื่อทราบผลการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากวัชพืช 9 ชนิด จึงนำสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาต่าง ๆ มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบเพื่อหาความเข้มข้นของสารที่ต้องใช้ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ 50 เปอร์เซ็นต์ (the half maximal inhibitory concentration; IC_{50}) เปรียบเทียบกับ สารมาตรฐาน BHT และ tocopherol ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยปฏิกิริยา DPPH radical scavenging พบว่า สารสกัดหยาบจากวัชพืชส่วนใหญ่ที่ทดสอบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH $\cdot$ ได้ต่ำกว่าสารมาตรฐาน BHT และ

tocopherol ซึ่งมี ค่า IC_{50} เท่ากับ 23.26 และ 51.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ตามลำดับ ยกเว้น สารสกัดด้วยเอทานอลจากเขมรเล็ก (IC_{50} เท่ากับ 58.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยา oxidation ของอนุมูลอิสระ DPPH $\cdot$ ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน tocopherol (ภาพที่ 2A) สำหรับการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากวัชพืชชนิดต่าง ๆ ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา ABTS radical scavenging พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากใบของเขมรเล็ก และลูกใต้ใบ มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติในการต้านอนุมูลอิสระของ ABTS $\cdot$ ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัด

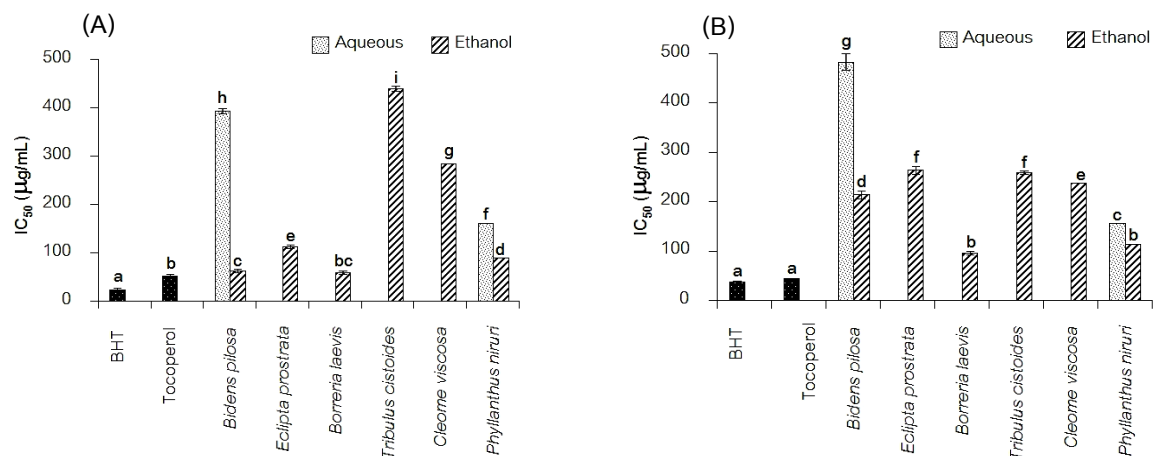


Figure 2. The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of aqueous and ethanolic extracts of nine weed species by DPPH (A) and ABTS (B) radical scavenging radicals

จากวัชพืชชนิดอื่น ๆ ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 96.63 และ 113.58 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ โดยที่พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากวัชพืชทั้งสองชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ต่ำกว่าสารมาตรฐาน BHT และ tocopherol ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 36.89 และ 44.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 2B) จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากเอทานอลของวัชพืชทดสอบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของอนุมูลอิสระ DPPH[•] และ ABTS^{•+} ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ

ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dhanani *et al.* (2017) พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจาก *Withania somnifera* มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา DPPH และ ABTS มากกว่าสารสกัดด้วยน้ำ และจากการศึกษาของ Bae *et al.* (2012) พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจาก *Rumex acetosa* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยา DPPH radical scavenging และ NO production ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ ในทางกลับกัน Joel *et al.* (2017) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากผลของ *Tetrapleura tetraptera* พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากผลของพืชชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา ABTS, ferric antioxidant potential (FRAP), DPPH, nitric oxide, anti-lipid peroxidation และ metal

chelating ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำมีปริมาณของ total phenolic สูงกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล

จากการศึกษาชนิดสารพฤกษเคมีที่เป็นส่วนประกอบในเขมรเล็กของ Noiarsa *et al.* (2007) พบ สาร asperulosidic acid, kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside, kaempferol 3-O-rutinoside, quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside และ rutin นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าสารประกอบพวก alkaloids, iridoids, flavonoids และ terpenoids โดยที่พืชชนิดนี้ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคมาลาเรีย ท้องร่วงและระบบทางเดินอาหารอื่น ๆ ปัญหาโรคผิวหนัง ปวดศีรษะ เหนื่อย อักเสบ รักษาโรคมะเร็ง ต้านจุลินทรีย์บางชนิด ต้านอนุมูลอิสระ รักษาอาการผื่นคันของตับ (Conserva and Ferreira, 2012) ส่วนลูกใต้ใบมีรายงานพบสารประกอบพวก tannins เช่น geraniin, corilagin, 1,6-digalloylglucopyranoside rutin, quercetin-3-O-glucopyranoside, amarulone, phyllanthusiin D และ amarin (Foo, 1993; Foo and Wong, 1992) สารประกอบพวก alkaloids ได้แก่ isobubbialine และ epibubbialine (Houghton *et al.*, 1996) ซึ่งมีการนำลูกใต้ใบมาใช้ประโยชน์เป็นยาสมุนไพรในการรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น ใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย แก้โรคบิด อาการท้องมาน โรคดีซ่าน นอกจากนี้ยังใช้เป็นยารักษา

โรคหนองใน โรคเบาหวาน โรคบิดเรื้อรัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถใช้สำหรับรักษาผิวที่เป็นแผล ปวดบวม และมีอาการคัน แก่รอยฟกช้ำ แผลพุพอง กลากเกลื้อน โดยที่ส่วนต่าง ๆ จะใช้รักษาอาการดังนี้ ต้นอ่อนของลูกใต้ใบสามารถใช้รักษาโรคบิดเรื้อรัง ส่วนของใบสดสามารถใช้รักษาแผลและใช้รักษากลากเกลื้อนบนผิวหนัง ส่วนของน้ำคั้นใช้แก้ปัญหามันคัน ส่วนรากใช้แก้อาการปวดท้อง สำหรับส่วนดอกสามารถใช้เป็นยาทาภายนอกแก้พิษงูกัด (Adegoke *et al.*, 2010; Chandewar and Dhongade 2013; Patel *et al.*, 2011) จากการศึกษาของ Szakiel *et al.* (2010) รายงานว่า ปัจจัยทางสภาพแวดล้อม เช่น ความเข้มแสง อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ ชนิดและองค์ประกอบของดิน มีผลกระทบต่อชนิด คุณภาพ และปริมาณของสารฟลักซ์เคมีภายในพืช ซึ่งพืชชนิดเดียวกันแต่มีการเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันจะมีการสร้างสารฟลักซ์เคมีได้ต่างชนิดและมีปริมาณที่ต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Liu *et al.* (2015) ที่รายงานว่า ชนิด ปริมาณ และสัดส่วนของสารฟลักซ์เคมีภายในพืชขึ้นอยู่กับลักษณะทางภูมิอากาศ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน ความชื้น ที่จะช่วยสนับสนุนให้พืชสามารถสร้างสารฟลักซ์เคมีมากขึ้น ซึ่งพบว่าปัจจัยทางภูมิอากาศนี้มีผลกระทบต่อการสร้างสารดังกล่าวได้มากกว่าปัจจัยทางดิน นอกจากนี้ Radušienė *et al.* (2012) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและความเข้มแสงต่อการสะสมสารฟลักซ์เคมีในพืช *Hypericum perforatum* พบว่า ปริมาณสาร phenolics จะมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อมและช่วงระยะเวลาของการเจริญเติบโตของพืช โดยที่สภาพที่อุณหภูมิและความเข้มแสงสูงพืชชนิดนี้จะมีการสะสมสาร phenolics สูง และมีการสะสมสารมากในระยะการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ดังนั้นการจำแนกชนิดของสารฟลักซ์เคมีในสารสกัดจากใบของเขมรเล็ก และลูกใต้ใบ ที่ใช้สำหรับการทดลองนี้จึงควรมีการศึกษาต่อไป

สรุป

สารสกัดด้วยเอทานอลจากใบของเขมรเล็ก และลูกใต้ใบ มีสารฟลักซ์เคมีพวก phenolics และ flavonoids ปริมาณที่สูง จึงส่งผลให้สารสกัดด้วยเอทานอลจากวัชพืช

ทั้งสองชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา DPPH และ ABTS radical scavenging ได้สูงกว่าสารสกัดจากวัชพืชชนิดอื่น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ โครงการทุนการศึกษาระดับปริญญาโท ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และทุนอุดหนุนงานวิจัยพืชไร่ฯ 2561 ซึ่งเป็นโครงการสนับสนุนและส่งเสริมการวิจัยของภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่มอบทุนอุดหนุนสำหรับการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. วัชพืชศาสตร์. โรงพิมพ์ลินคอร์น, กรุงเทพฯ.
- รัตนา ม่วงรัตน์ กรรณิการ์ เรือนหล้า และ ธัญชนก กันทองศ์. 2560. ปัจจัยที่มีผลต่อสารแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากเมล็ดแห้งข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงด้วยเทคนิคการสกัดด้วยน้ำที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด. วารสารเกษตร 33(1): 141-151.
- โสภา วัชรศุภปต์. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. สำนักพิมพ์พี.เอส.พริน, กรุงเทพฯ.
- Adegoke, A.A., P.A. Iberi, D.A. Akinpelu and P. Aiyegoro. 2010. Studies on phytochemical screening and antimicrobial potentials of *Phyllanthus amarus* against multiple antibiotic resistant bacteria. International Journal of Applied Research in Natural Products 3(3): 6-12.
- Ames, B.N., M.K. Shigenaga and T.M. Hagen. 1993. Review: oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging (cancer/mutation/endogenous DNA adducts/oxygen radicals). Proceedings of

- the National Academy of Sciences of the United States of America 90: 7915-7922.
- Arya, V., N. Thakur and C.P. Kashyap. 2012. Preliminary phytochemical analysis of the extracts of *Psidium* leaves. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 1(1): 1-5.
- Back, S., H. Mathison, T. Todorov, E.A. Calderón-Juárez and O.R. Kopp. 2018. A review of medicinal uses and pharmacological activities of *Tridax procumbens* (L.). Journal of Plant Science 7(1): 19-35.
- Bae, J.Y., Y.S. Lee, S.Y. Han, E.J. Jeong, M.K. Lee, J.Y. Kong, D.H. Lee, K.J. Cho, H.S. Lee and M.J. Ahn. 2012. A comparison between water and ethanol extracts of *Rumex acetosa* for protective effects on gastric ulcers in mice. Biomolecules and Therapeutics 20(4): 425-430.
- Boskou, G., F.N. Salta, S. Chrysostomou, A. Mylona, A. Chiou and N.K. Andrikopoulos. 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. Food Chemistry 94: 558-564.
- Chandewar, A. and H. Dhongade. 2013. Pharmacognostical and Phytochemical studies of *Phyllanthus amarus* leaves. International Journal of Biomedical and Advance Research 4(6): 382-389.
- Cieniak, C., B. Walshe-Roussel, R. Liu, A. Muhammad, A. Saleem, P.S. Haddad, A. Cuerrier, B.C. Foster and J.T. Arnason. 2015. Phytochemical comparison of the water and ethanol leaf extracts of the cree medicinal plant, *Sarracenia purpurea* L. (Sarraceniaceae). Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 18(4): 484-493.
- Conserva, L.M. and J.C. Ferreira. 2012. *Borreria* and *Spermacoce* species (Rubiaceae): A review of their ethnomedicinal properties, chemical constituents, and biological activities. Pharmacognosy Reveiws 6(11): 46-55.
- Dehkharghanian, M., H. Adenier and M.A. Vijayalakshmi. 2010. Analytical methods study of flavonoids in aqueous spinach extract using positive electrospray ionisation tandem quadrupole mass apectrometry. Food Chemistry 121: 863-870.
- Dhanani, T., S. Shah, N.A. Gajbhiya and S. Kumar. 2017. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. Arabian Journal of Chemistry 10: S1193-S1199.
- Djeridane, A., M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker and N. Vidal. 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolics. Food Chemistry 97(4): 654-660.
- Fayaz, M., M.H. Bhat, A. Kumar and A.K. Jain. 2017. Comparative studies on different solvents used for the extraction of phytochemicals from the plant parts of *Arnebia benthamii* (Wall Ex. G. Don) Johnston. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 9(1): 220-224.
- Foo, L.Y. 1993. Amariin a di-dehydrohexa-hydroxydiphenoyl hydrolysable tannin from *Phyllanthus amarus*. Phytochemistry 33(2): 487-491.
- Foo, L.Y. and H. Wong. 1992. Phyllanthusiin D, an unusual hydrolysable tannin from *Phyllanthus amarus*. Phytochemistry 31(2): 711-713.

- Ghasemzadeh, A., H.Z.E. Jaafar and A. Rahmat. 2010. Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale roscoe*). *Molecules* 15: 4324-4333.
- Govindarajan, R., M. Vijayakumar, C.V. Rao, A. Shirwaikar, A.K.S. Rawat, S. Mehrotra and P. Pushpangadan. 2004. Antioxidant potential of *Anogeissus latifolia*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 27(8): 1266-1269.
- Hasler, C.M. and J.B. Blumberg. 1999. Symposium on phytochemicals: biochemistry and physiology. *Journal of Nutrition* 129: 756S-757S.
- Houghton, P.J., T.Z. Woldemariam, O.S. Siobhan and S.P. Thyagarajan. 1996. Two securiniga type alkaloids from *Phyllanthus amarus*. *Phytochemistry* 43(3): 715-717.
- Hsu, C.F., H. Peng, C. Basle, J. Travas-Sejdic and P.A. Kilmartin. 2011. ABTS^{•+} scavenging activity of polypyrrole, polyaniline and poly(3,4-ethylenedioxythiophene). *Society of Chemical Industry* 60: 69-77.
- Joel, J.S., O.E. Sheena, O.E. Martins, N.S.C. Onyemauchekw and A.A. Emmanuel. 2017. Comparative antioxidant capacity of aqueous and ethanol fruit extract extracts of *Tetrapleura ttraptera*. *Journal of Biological Science* 17: 185-193.
- Kahkonen, M.P., A.I. Hopia, H.J. Vuorela, J.P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala and M. Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3954-3962.
- King, A. and G. Young. 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association* 24: 213-218.
- Lau, K.M., Z.D. He, H. Dong, K.P. Fung and P.P.H. But. 2002. Anti-oxidative, anti-inflammatory and hepato-protective effects of *Ligustrum robustum*. *Journal of Ethnopharmacology* 83: 63-71.
- Liu, J., C. Wang, Z. Wang, C. Zhang, S. Lu and J. Liu. 2011. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry* 126: 261-269.
- Liu, W., J. Liu, D. Yin and X. Zhao. 2015. Influence of ecological factors on the production of active substances in the anti-cancer plant *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) T.S. Ying. *PLOS ONE* 10(4): 1-22.
- Noiarsa, P., Q. Yu, K. Matsunami, H. Otsuka, S. Ruchirawat and T. Kanchanapoom. 2007. (Z)-3-Hexenyl diglycosides from *Spermacoce laevis* Roxb. *Journal of Natural Medicines* 61: 406-409.
- Patel, J.R., P. Tripathi, V. Sharma, N.S. Chauhan and V.K. Dixit. 2011. *Phyllanthus amarus* ethnomedicinal uses phytochemistry and pharmacology: A review. *Journal of Ethnopharmacology* 138(2): 286-313.
- Percival, M. 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights* 31: 1-4.
- Pokorny, J., N. Yanishlieva and M. Gordon. 2001. Antioxidant in Food: Practical Applications. Woodhead Publishing, Cambridge. 380 p.
- Radušienė, J., B. Karpaviciene and Z. Stanius. 2012. Effect of external and internal factors on secondary metabolites accumulation in St. John's wort. *Botanica Lithuanica* 18(2): 101-108.

- Saxena, M., J. Saxena, R. Nema, D. Singh and A. Gupta. 2013. Phytochemistry of medicinal plants. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 1(6): 168-182.
- Sharma, P., A.B. Jha, R.S. Dubey and M. Pessarakli. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany, Article ID 217037, 26 p.
- Szakiel, C. Paczkowski and M. Henry. 2010. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. Phytochemistry Reveiws 10(4): 471-491.
- Usman, U.Z., A.B.A. Bakar and M. Mohamed. 2016. Phytochemical screening and comparison of antioxidant activity of water and ethanol extract propolis from Malasia. Internationa; Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 8(5): 419-415.
- Visht, S. and S. Chaturvedi. 2012. Isolation of natural product. Current Pharma Research 2(3): 584-599.
- Zalke, A.S., B. Duraiswamy, U.B. Gandagule and N. Singh. 2013. Pharmacognostical evaluation of *Cardiospermum halicacabum* Linn. leaf and stem. Ancient Science of Life 33(1): 15-21.
-

ผลของการทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม

Effects of Seed Treatment with Plant Growth Promoting Bacteria on Germination and Growth of Lettuce

จักรพงษ์ กางไสภา^{1,2} Russell K. Hynes² และ บุญมี สิริ^{1*}
Jakkrapong Kangsopa^{1,2} Russell K. Hynes² and Boonmee Siri^{1*}

¹สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

¹Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

²Agriculture and Agri-Food Canada, 107 Science Place, Saskatoon, SK, Canada

*Corresponding author: Email: boonmee@kku.ac.th

(Received: 28 November 2017; Accepted: 29 March 2018)

Abstract: The application of seed treatment with microbial probiotics for plant growth promotion plays an important role in optimizing the use of seeds for maximum benefit. The purposes of this experiment were to evaluate seed treatment with microbial probiotics plant growth promotion of lettuce seeds, and tracking germination and seedling growth and cultivation in soilless culture conditions. The experiment was carried out at the Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), Canada. This study was divided into two experiments: The first experiment was carried by selected two microorganisms: *Pseudomonas fluorescens* 31-12 and *Bacillus subtilis*. Each type of microorganism was used for seed treatment consisting of soaking, coating, and pelleting, and then the germination and seedling growth were examined. The laboratory results revealed that seed germination was not significantly different. However, seed coating and pelleting with *P. fluorescens* 31-12 had the best shoot length, at 41.16 and 41.23 mm, respectively, and seed pelleting with *B. subtilis* had the best root length of 124.26 mm. The greenhouse results revealed that seed coating and pelleting with *P. fluorescens* 31-12 had the best shoot length of 60.10 and 57.85 mm, respectively, and had the best shoot fresh weight of 747.72 and 743.06 mg, respectively. The seed pelleting with *P. fluorescens* 31-12 had the best shoot dry weight of 28.83 mg and there was significantly different compared to untreated seed. The second experiment, selected coating and seed pelleting with *P. fluorescens* 31-12 to cultivate in soilless culture conditions. The results showed that seed coating and pelleting with *P. fluorescens* 31-12 had better leaf fresh weight, leaf dry weight, root fresh weight, and root dry weight, and there were significantly different when compared to untreated seeds.

Keywords: Lettuce seed, seed treatments, probiotic, seed quality

บทคัดย่อ: การประยุกต์วิธีการทำ seed treatment ร่วมกับจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช มีบทบาทสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้เมล็ดพันธุ์ให้เกิดประโยชน์สูงสุด ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการทำ seed treatment ด้วยจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม และติดตามการงอก การเจริญเติบโตของต้นกล้า และการเพาะปลูกในระบบการปลูกพืชไร่นา โดยทดลองที่ Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC) ประเทศแคนาดา แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 คัดเลือกจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *Pseudomonas fluorescens* 31-12 และ *Bacillus subtilis* ซึ่งแต่ละชนิดนำมาทำ seed treatment ประกอบด้วยวิธีการ แช่เมล็ดพันธุ์ เคลือบเมล็ดพันธุ์ และพอกเมล็ดพันธุ์ จากนั้นนำมาตรวจสอบความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า จากผลการตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่การเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 มีความยาวต้นดีที่สุด คือ 41.16 และ 41.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ และการพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *B. subtilis* มีความยาวรากดีที่สุด คือ 124.26 มิลลิเมตร ส่วนการตรวจสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า การเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ด้วย *P. fluorescens* 31-12 มีความยาวต้นดีที่สุด (60.10 และ 57.85 มิลลิเมตร ตามลำดับ) และมีน้ำหนักสดลำต้นดีที่สุด (747.72 และ 743.06 มิลลิกรัม ตามลำดับ) ส่วนการพอกเมล็ดพันธุ์ด้วย *P. fluorescens* 31-12 มีน้ำหนักแห้งลำต้นดีที่สุด คือ 28.83 มิลลิกรัม และแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการทำ seed treatment ส่วนการทดลองที่ 2 คัดเลือกวิธีการเคลือบและพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 มาเพาะปลูกในระบบการปลูกพืชไร่นา พบว่าการเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ด้วย *P. fluorescens* 31-12 มีน้ำหนักสดใบ น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งใบ และน้ำหนักแห้งรากมากกว่าและแตกต่างกันในทางสถิติอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดควบคุม

คำสำคัญ: เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม seed treatments จุลินทรีย์ คุณภาพเมล็ดพันธุ์

คำนำ

จุลินทรีย์ที่มีวงชีวิตอยู่ร่วมกันกับพืช มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชในด้านสารอาหาร และการต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ หรือช่วยลดสารพิษที่มีอยู่ในดิน (Bardi and Malusà, 2012; Malusa and Vassilev, 2014; Vessey, 2003) โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสามารถสร้างสารอาหารที่ต้นพืชต้องการเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในสกุล *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* และ *Serratia* เป็นต้น จุลินทรีย์เหล่านี้มีกลไกที่สำคัญคือ สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชโดยการผลิตฮอร์โมนพืชหรือสนับสนุนให้พืชหาอาหารและการดูดซึมจากดินผ่านกลไกต่าง ๆ มากขึ้น อีกทั้งจุลินทรีย์เหล่านี้ยังสามารถตรึงไนโตรเจนในบรรยากาศ (Lakshminarayana *et al.*, 1992) กระตุ้นการละลายของฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ (Kundu and Gaur, 1980) การสังเคราะห์สารประกอบธาตุเหล็ก (Glick *et al.*, 2007) การผลิตกรดอินทรีย์กรดอะมิโน (IAA) ซึ่งช่วยเพิ่ม

การเจริญของราก (Oteino *et al.*, 2015) และลำต้น (จิราภรณ์ และคณะ, 2560) การลดความเป็นพิษของโลหะหนักในพืช และลดการเกิดโรคในพืช โดยการผลิตโคตินเนส β -1, 3-glucanase และ pectinase เพื่อลดการสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา (Bloemberg and Lugtenberg, 2001; Turan *et al.*, 2005)

การทำ seed treatment เป็นวิธีการปฏิบัติต่อเมล็ดพันธุ์เพื่อยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้มีคุณภาพดีขึ้นจากเดิม (ธิดารัตน์, 2560) เช่น การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ และสรีรวิทยาของเมล็ดพันธุ์ เป็นต้น ปัจจุบันวิธีการที่ได้รับความนิยม ยกตัวอย่างเช่น การแช่เมล็ดพันธุ์ การเคลือบเมล็ดพันธุ์ และการพอกเมล็ดพันธุ์ เป็นต้น (Taylor *et al.*, 1998) ซึ่งวิธีการดังกล่าวสามารถปรับปรุงเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้เหมาะสมสำหรับนำไปใช้เพื่อการเพาะปลูกได้ โดยเฉพาะผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) ซึ่งเป็นพืชผักที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายในทวีปเอเชียและทั่วโลก (Kim *et al.*, 2016) แต่เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมมีรูปร่างขนาดเล็กแบนบาง และน้ำหนักเบา จึงยากต่อการเพาะปลูก

อีกทั้งการเพาะปลูกผักกาดหอมต้องการเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูง มีความงอกสม่ำเสมอ ต้นกล้าแข็งแรง ปราศจากการเข้าทำลายของโรคและแมลง และสะดวกสายต่อการเพาะปลูก จึงทำให้ปัจจุบันเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่ผ่านการทำ seed treatment เป็นที่ต้องการเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันการเพาะปลูกผักกาดหอมในระบบการปลูกพืชไร้ดินมีความสำคัญต่อการผลิตผักกาดหอม เนื่องจากเป็นวิธีการใช้พื้นที่เพาะปลูกน้อยและสามารถทำการผลิตได้อย่างสม่ำเสมอและต่อเนื่องได้ตลอดปี อีกทั้งประหยัดเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายในการเตรียมดินและกำจัดวัชพืช รวมทั้งสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของพืชได้อย่างถูกต้องแน่นอนและรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม การทำ seed treatment มีวัตถุประสงค์จำเพาะเจาะจงต่อการปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์หลายประเภท ซึ่งวิธีการที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือ วิธีการเคลือบเมล็ดและพอกเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากเป็นวิธีการสนับสนุนการเพาะกล้าผักกาดหอมที่มีความสะดวก และมีประสิทธิภาพสูง โดยวิธีการเคลือบและพอกเมล็ดพันธุ์สามารถนำพาสารออกฤทธิ์ชนิดต่าง ๆ ที่มีความจำเป็นต่อการงอกและการเจริญเติบโตให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ ยกตัวอย่างเช่น จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ธาตุอาหารพืช สารป้องกันโรคและแมลง และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น โดยเฉพาะการเลือกใช้จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมาใช้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะปลูก เนื่องจากจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมีบทบาทสำคัญจากการตรึงไนโตรเจน การละลายธาตุอาหารพืช และสามารถสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้ (Glick, 2012) ยกตัวอย่างการรายงานการใช้ 12 สายพันธุ์ของ *Pseudomonas* ที่มีผลต่อการช่วยละลายฟอสเฟต และผลิตฮอริโมน (Cipriano *et al.*, 2016) ที่มีความสำคัญต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอม นอกจากนี้ Olivera *et al.* (2016) รายงานว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีร่วมกับ arbuscular mycorrhiza พบว่า สามารถเพิ่มความเข้มข้นของโพแทสเซียม (K) กำมะถัน (S) และสังกะสี (Zn) ในดินมากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการเกิดโรครากเน่าพร้อมทั้งส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ เช่น ในการ

เพาะปลูก mungbean (Ramzan *et al.*, 2016) แต่ปัจจุบันยังคงขาดเอกสารรายงานวิจัยเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้วิธีการทำ seed treatment ร่วมกับจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการทำ seed treatment ร่วมกับจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และติดตามการเปลี่ยนแปลงของความงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอมตลอดจนติดตามการเจริญเติบโตเมื่อตรวจสอบการเพาะปลูกผักกาดหอมในระบบการปลูกพืชไร้ดิน ดังนั้นผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ และการเพาะปลูกผักกาดหอมในระบบการปลูกพืชไร้ดินให้มีผลผลิตและคุณภาพเพิ่มสูงขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

ได้รับความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* 31-12 และ *Bacillus subtilis* และทดลองที่ห้องปฏิบัติการ Agriculture and Agri-Food Canada, Saskatoon, Canada ประเทศแคนาดา ส่วนเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมพันธุ์ RUTLL 58-1 ได้รับความอนุเคราะห์จาก คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์ลำปาง และทำการวิจัยระหว่าง มิถุนายน-ธันวาคม 2559 โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การคัดเลือกวิธีการทำ seed treatment และเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม

1. การเตรียมจุลินทรีย์

P. fluorescens 31-12 และ *B. subtilis* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 เปอร์เซ็นต์ trypticase soy broth (TSB, Difco, Becton-Dickinson) ในเครื่องเขย่า 150 รอบ/นาที่ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และหลังจากตรวจสอบด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

พบว่าปริมาณแบคทีเรียของ *P. fluorescens* 31-12 และ *B. subtilis* คือ 1.534 และ 0.631 cfu/ml ตามลำดับ

2. การทำ seed treatments

ทุกวิธีการทดลองใช้เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม 10 กรัม โดยวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์ (seed soaking) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการเพาะเลี้ยง *P. fluorescens* 31-12 และ *B. subtilis* ในปริมาตร 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ส่วนการเคลือบเมล็ดพันธุ์ (seed coating) ใช้ carboxymethyl cellulose (CMC) อัตรา 0.1 เปอร์เซ็นต์ (Sigma Aldrich) เป็นสารเคลือบ และการพอกเมล็ดพันธุ์ (seed pelleting) ใช้ CMC อัตรา 0.3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเป็นวัสดุประสาน และใช้ calcium sulfate อัตรา 250 กรัม เป็นวัสดุพอก โดยมีวิธีทดลอง 9 วิธีการ จำนวน 4 ซ้ำ ตามตารางที่ 1 จากนั้นนำทั้ง 3 วิธีการ มาลดความชื้นในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. การตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม

3.1 การตรวจสอบความงอกในสภาพห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบความงอกในสภาพห้องปฏิบัติการ ทำโดยสุ่มเมล็ดพันธุ์แต่ละวิธีการจำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 เมล็ด มาทดสอบความงอกโดยใช้ถุงเพาะความงอก (growth pouch bag) จากนั้นนำไปไว้ในตู้เพาะความงอก อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 12 ชั่วโมง 15 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 30-50 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาประเมินผลความงอกตามหลักสากล (ISTA, 2013)

3.2 การตรวจสอบความงอกในสภาพเรือนทดลอง

ตรวจสอบความงอกโดยสุ่มเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านกระบวนการทำ seed treatment และเมล็ดควบคุมจำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด มาทดสอบความงอกในถาดหลุม ซึ่งใช้พีทมอสเป็นวัสดุเพาะต้นกล้า แล้วประเมินผลการงอกที่ 4-7 วัน และการตรวจสอบความยาวลำต้น ประเมินเช่นเดียวกันกับวิธีการตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ (ISTA, 2013)

4. การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอม

การตรวจสอบความยาวต้น และความยาวราก ประเมินที่ 14 วันหลังปลูก ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง โดยมีวิธีการตรวจสอบดังนี้

4.1 การตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

การประเมินในสภาพห้องปฏิบัติการใช้ถุงเพาะความงอก เพื่อประเมินความยาวต้นและความยาวราก ทั้งหมดทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น โดยการตรวจวัดความยาวต้นจะวัดตั้งแต่บริเวณโคนต้นจนถึงปลาย ส่วนความยาวรากจะวัดตั้งแต่โคนรากจนถึงปลายราก (มิลลิเมตร) หลังจากการตรวจวัดความยาวต้นและความยาวราก แล้วนำต้นกล้าไปตรวจสอบน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้า โดยทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น โดยการประเมินน้ำหนักแห้ง ทดสอบในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง (กรัม)

Table 1. Method and formulation of seed treatments

Seed treatment	Control	Coating	Pelleting	Soaking		Coating		Pelleting	
substance	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Carboxymethyl cellulose	-	0.1%	0.3%	-	-	0.1%	0.1%	0.3%	0.3%
<i>P. fluorescens</i> 31-12	-	-	-	50 ml	-	1 ml	-	1 ml	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	50 ml	-	1 ml	-	1 ml
Water	-	99.9 ml	99.7 ml	-	-	98.9 ml	98.9 ml	98.7 ml	98.7 ml

4.2 การตรวจสอบในสภาพเรือนทดลอง

การประเมินในสภาพเรือนทดลอง จะตัดต้นพืชบริเวณโคนต้นชิดวัสดุปลูก ทั้งหมดทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น จากนั้นนำต้นกล้าที่ได้จากมาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเช่นเดียวกันกับหัวข้อ 4.1

การทดลองที่ 2 การศึกษาการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในระบบการปลูกพืชไร้ดิน

คัดเลือกกรรมวิธีการทำ seed treatments ที่มีผลส่งเสริมต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหอมที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 มา 2 กรรมวิธีการนั้นนำแต่ละวิธีการมาเพาะปลูกลงในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร จำนวน 6 ซ้ำ โดยใช้เพอร์ไลท์และเวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 70:30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เป็นวัสดุปลูก ส่วนสารละลายธาตุอาหารพืชเตรียมโดยใช้ 10 เปอร์เซ็นต์ ของสารละลาย Hoagland's solution ประกอบไปด้วย 2 M $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 M K_2HPO_4 , 1 M KH_2PO_4 , 1 M $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.02 M $FeC_6H_5O_7 \cdot H_2O$ ผสมรวมกับธาตุอาหารรอง 6 ชนิด คือ $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, HBO_3 , $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ และ $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ จากนั้นนำไปเพาะปลูกใน growth chamber (อุณหภูมิสถับ 25/18 องศาเซลเซียส กลางคืน/กลางวัน; ความชื้นสัมพัทธ์ 55±5 เปอร์เซ็นต์) เป็นเวลา 45 วัน แล้วบันทึกข้อมูล โดยตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต กรรมวิธีละ 6 ซ้ำ จากนั้นชั่งน้ำหนักสดใบ และน้ำหนักสตราก แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำมาซึ่งตรวจสอบหาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งใบ และน้ำหนักแห้งรากด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง บันทึกผล

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แปลงข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์เพื่อวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี arcsine transformation วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในการทดลองที่ 1 โดยวิธี Duncan's

multiple range test (DMRT) โดยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SAS (Version 9.3) และการทดลองที่ 2 เปรียบเทียบความแตกต่างของวิธีการเคลือบและการพอกเมล็ดโดยวิธี paired t-test โดยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Statistix 10

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การคัดเลือกวิธีการทำ seed treatment และเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม

1. ผลของจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อการงอกของผักกาดหอม

ในสภาพห้องปฏิบัติการเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังการทำ seed treatment ด้วยวิธีการแตกต่างกันพบว่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ส่วนความยาวต้นพบว่า การเคลือบเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 (F6) และการพอกเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 (F8) มีความยาวต้นมากที่สุด คือ 41.16 และ 41.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* (F9) มีความยาวรากมากกว่าชุดควบคุม (124.26 มิลลิเมตร) แต่ไม่แตกต่างกันกับวิธีการพอกเมล็ดด้วยวิธีการอื่น ๆ และการพอกเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 (F8) มีน้ำหนักสดต้นดีมากกว่า F1, F2, F4, F5 และน้ำหนักแห้งต้นดีมากกว่า F1, F2, F6 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ และมีความแตกต่างกันในทางสถิติ (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาวิธีการทำ seed priming พบว่าความยาวต้นและความยาวรากมากกว่าเมล็ดชุดควบคุมและแตกต่างกันในทางสถิติ โดยการทำ seed priming เป็นวิธีการแช่เมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 และ *B. subtilis* เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งวิธีการดังกล่าวทำให้จุลินทรีย์สามารถเกาะติดไปกับผิวเมล็ดได้ (Ashraf and Foolad, 2005) แต่การทำ seed priming ร่วมกับจุลินทรีย์มีข้อจำกัดคือ ระยะเวลาการแช่ และอุณหภูมิหลังการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ (Kasim et al., 2013) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะมีผลต่อความมีชีวิตของจุลินทรีย์ที่ติดไปกับเมล็ด และเมื่อพิจารณาผลการทดลองหลังการทำ seed priming ด้วยจุลินทรีย์ร่วมกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมมีผลทำให้

Table 2. Germination percentage, shoot length, root length, seedling fresh and dry weight after tested under laboratory conditions

Treatments ¹	Germination (%) ²	Shoot length (mm)	Root length (mm)	Seedling fresh weight (mg)	Seedling dry weight (mg)
F1	96	36.06 b ³	102.83 b	180.81 d	10.83 c
F2	100	38.36 ab	104.76 ab	206.75 bcd	12.62 bc
F3	100	36.33 ab	113.26 ab	226.70 abc	16.66 abc
F4	100	40.63 ab	112.40 ab	203.63 cd	14.31 abc
F5	93	36.73 ab	112.03 ab	198.85 cd	13.84 abc
F6	100	41.16 a	113.70 ab	231.62 abc	12.60 bc
F7	100	36.36 ab	118.33 ab	222.17 abc	19.54 abc
F8	100	41.23 a	120.33 ab	246.74 a	22.32 a
F9	100	37.43 ab	124.26 a	243.19 ab	21.56 ab
F-test	NS	*	*	*	**
CV(%)	4.35	6.76	8.92	9.45	9.89

ns, *, **: not significantly difference, significantly different at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$ respectively

¹ F1: non-treated seed, F2: seed coating alone, F3: seed pelleting alone, F4: seed soaking + *P. fluorescens* 31-12, F5: seed soaking + *B. subtilis*, F6: seed coating + *P. fluorescens* 31-12, F7: seed coating + *B. subtilis*, F8: seed pelleting + *P. fluorescens* 31-12 and F9: seed pelleting + *B. subtilis*

² Data are transformed by the arcsine before statistical analysis and back transformed data are presented

³ Means within a column with different letters are significantly different $P \leq 0.05$ according to DMRT

ความยาวต้น ความยาวราก และน้ำหนักสดของต้นกล้า ผักกาดหอมมากกว่าเมล็ดพันธุ์ชุดควบคุม นอกจากนี้ Bennett (1998) รายงานว่า การทำ seed priming ร่วมกับ จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชสามารถเพิ่มความสม่ำเสมอในการงอกและลักษณะการเจริญเติบโตของพืชเพิ่มขึ้นจากเดิม

และเมื่อพิจารณาวิธีการเคลือบและพอกเมล็ดพันธุ์พบว่า หลังการเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ไม่มีผลขัดขวางต่อกระบวนการงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีการเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 สามารถส่งเสริมความสูงต้นของต้นกล้า ผักกาดหอมได้ดีมากกว่าชุดควบคุม โดย *P. fluorescens* บางสายพันธุ์สามารถผลิต IAA (Indole-3-acetic acid) และ HCN (Hydrogen cyanide) ซึ่งทั้งหมดนี้มีส่วนช่วยในการส่งเสริมการยืดขยายของต้นกล้าผักกาดหอมได้เป็นอย่างดี (Cipriano et al., 2016) ส่วนความยาวรากพบว่า วิธีการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* มีการเจริญเติบโตดี

มากกว่าชุดควบคุม เพราะวิธีการพอกเมล็ดพันธุ์มีสารเชื้อยปริมาณมากห่อหุ้มรอบ ๆ เมล็ดพันธุ์ ทำให้สามารถนำพา *B. subtilis* และ *P. fluorescens* 31-12 ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ดีมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการแช่เมล็ด และการเคลือบเมล็ด จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า วิธีการพอกเมล็ด F8 และ F9 มีการเจริญเติบโตของลำต้นและรากอย่างชัดเจน ทั้งนี้เนื่องจาก *B. subtilis* และ *P. fluorescens* สามารถสังเคราะห์ phytohormone ในกลุ่ม auxin ที่มีบทบาทต่อการกระตุ้นการงอกราก รวมทั้งส่งเสริมพัฒนาการการเจริญเติบโตของต้นกล้า (Glick, 2012) ได้ดีมากกว่าเมล็ดผักกาดหอมที่ไม่ได้ผ่านการทำ seed treatment ซึ่งเมื่อพิจารณาวิธีการเคลือบและพอกเมล็ดพบว่า ทั้ง 2 วิธีการมีหลักการที่เป็นกฎเกณฑ์สำคัญที่เหมือนกัน คือ สามารถนำพาสารออกฤทธิ์ให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ (Taylor et al., 1998; Pedrini et al., 2017) โดยวิธีการเคลือบเมล็ดพันธุ์เป็นการนำพาจุลินทรีย์ให้ติดไปกับเมล็ดด้วยพอลิเมอร์หรือสารเคลือบ ซึ่งสาร

เคลือบชนิด carboxymethyl cellulose เป็นสารเคลือบเมื่ออยู่ในรูปเป็นแผ่นฟิล์มจะมีความแข็งแรง และยืดเกาะกันแน่นหนา แต่สามารถละลายน้ำได้ง่าย (Khorasani and Shojaosadati, 2017) จากเหตุผลดังกล่าวจึงมีส่วนทำให้วิธีการเคลือบเมล็ดสามารถยืดเกาะจุลินทรีย์ให้เกาะติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ เช่นเดียวกันกับวิธีการพอกเมล็ดพันธุ์ที่สามารถนำพาจุลินทรีย์ให้ติดไปกับเมล็ด แต่เนื่องจากวิธีการพอกเมล็ดเป็นการรวมตัวกันระหว่างวัสดุพอก วัสดุประสาน และเมล็ดพันธุ์ จึงทำให้จุลินทรีย์สามารถเกาะติดไปกับสารพอกเมล็ดพันธุ์ได้ในปริมาณที่มากกว่าวิธีการทำ seed priming และวิธีการเคลือบเมล็ดพันธุ์ จึงส่งผลให้ปริมาณของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตติดรวมอยู่กับเมล็ดพันธุ์ในอัตราสูง และสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีมากกว่าวิธีการทำ seed treatment วิธีการอื่น ๆ เพราะฉะนั้นวิธีการพอกเมล็ดด้วย *P. fluorescens* 31-12 จึงเห็นผลความแตกต่างเมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการของความยาวต้น ความยาวราก น้ำหนักสดต้นกล้า และน้ำหนักแห้งต้นกล้าดีมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดชุดควบคุม

2. ผลของจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอม

เมื่อพิจารณาในสภาพเรือนทดลองยังคงไม่พบความแตกต่างกันในทางสถิติของความงอกเมล็ดพันธุ์และการเคลือบเมล็ดด้วย *P. fluorescens* 31-12 (F6) และการพอกเมล็ดด้วย *P. fluorescens* (F8) มีความยาวต้นมากที่สุด คือ 60.10 และ 57.85 มิลลิเมตร ตามลำดับ และแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับทุกกรรมวิธี (F1) ส่วนการตรวจสอบน้ำหนักสดลำต้นพบว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *P. fluorescens* 31-12 (F6) และการพอกเมล็ดด้วย *P. fluorescens* 31-12 (F8) มีน้ำหนักสดลำต้นดีที่สุด คือ 747.72 และ 743.06 มิลลิกรัม ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ และจากการพิจารณาน้ำหนักแห้งลำต้นพบว่า การพอกเมล็ดด้วย *P. fluorescens* 31-12 (F8) มีน้ำหนักแห้งลำต้นมากที่สุด (28.83 มิลลิกรัม) และแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ F1 และ F5 (ตารางที่ 3)

Table 3. Germination percentage, shoot length, shoot fresh and dry weight after tested under greenhouse condition

Treatments ¹	Germination (%) ²	Shoot length (mm)	Shoot fresh weight (mg)	Shoot dry weight (mg)
F1	93	48.85 b ³	548.75 cd	21.27 c
F2	96	49.35 b	559.07 cd	23.81 abc
F3	100	52.50 b	624.43 bc	25.24 abc
F4	96	52.65 b	601.13 bcd	24.60 abc
F5	96	47.85 b	518.27 d	23.44 bc
F6	97	60.10 a	747.72 a	28.37 ab
F7	100	52.20 b	645.84 b	26.30 ab
F8	100	57.85 a	743.06 a	28.83 a
F9	98	54.56 b	539.59 cd	27.55 ab
F-test	NS	**	**	**
CV.(%)	4.83	5.46	7.59	10.30

ns, **: not significantly difference, significantly different at $P \leq 0.01$ respectively.

¹ F1: non-treated seed, F2: seed coating alone, F3: seed pelleting alone, F4: seed soaking + *P. fluorescens* 31-12, F5: seed soaking + *B. subtilis*, F6: seed coating + *P. fluorescens* 31-12, F7: seed coating + *B. subtilis*, F8: seed pelleting + *P. fluorescens* 31-12 and F9: seed pelleting + *B. subtilis*

² Data are transformed by the arcsine before statistical analysis and back transformed data are presented

³ Means within a column with different letters are significantly different $P \leq 0.05$ according to DMRT

จากผลการทดลอง ถึงแม้จะนำไปตรวจสอบในสภาพเรือนทดลองยังคงไม่พบการเปลี่ยนแปลงของความยาวกเมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของความยาวต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าผักกาดหอม เห็นได้ชัดว่า วิธีการเคลือบและพอกเมล็ดด้วย *P. fluorescens* 31-12 (F6, F8) มีผลส่งเสริมด้านการเจริญเติบโตมากกว่าวิธีการอื่น ๆ โดย *Pseudomonas* (Malboobi et al., 2009) และ *Bacillus* (Sahin et al., 2004) ต่างมีคุณสมบัติสามารถละลายฟอสเฟตที่มีความสำคัญต่อการส่งเสริมพัฒนาการของรากและลำต้นของพืชในระยะกล้าได้ นอกจากนี้คุณสมบัติของ *P. fluorescens* ยังสามารถสังเคราะห์ ACC-deaminase, IAA, siderophores (Gupta et al., 2005) และสามารถชักนำพืชให้สร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อราได้ (Saravanakumar et al., 2007) เช่นเดียวกันกับ *B. subtilis* สามารถสังเคราะห์ IAA (Zaidi et al., 2006) และป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราได้ (Cazorla et al., 2007) นอกจากนี้พบรายงานการทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการตรึงไนโตรเจนใน *Pseudomonas putida* RC06 และ *Bacillus* OSU-142 ซึ่งสามารถเพิ่มผลผลิตของข้าวสาลีฤดูกึ่งปีและผักขมได้เพิ่มมากขึ้น (Cakmakci et al., 2007) และพบรายงานการเพิ่มขึ้นของความยาวต้น และความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหอม หลังการพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Pseudomonas putida* CC-R2-4 และ *B. subtilis* CC-pg104 (Rekha et al., 2007)

การทดลองที่ 2 การศึกษาการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในระบบการปลูกพืชไร้ดิน

จากผลการทดลองที่ 1 สามารถคัดเลือกวิธีการทำ seed treatment ได้ 2 วิธีการ คือ การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย *P. fluorescens* 31-12 (F6) และการพอกเมล็ดพันธุ์ด้วย *P. fluorescens* 31-12 (F8) จากนั้นนำทั้ง 2 วิธีการมาศึกษาการเจริญเติบโตในระบบการปลูกพืชไร้ดิน โดยมีผลการทดลองดังนี้

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบวิธีการเคลือบและพอกเมล็ดพันธุ์ด้วย *P. fluorescens* 31-12 พบว่า การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งราก ทั้งสองวิธีการไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (ภาพที่ 1) แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบวิธีการเคลือบเมล็ดกับเมล็ดควบคุม พบว่าการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสดใบ น้ำหนักแห้งใบ และน้ำหนักแห้งราก มีความแตกต่างกัน แต่ไม่พบความแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสดราก ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 มีน้ำหนักสดใบ น้ำหนักแห้งใบ น้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้นจากเดิม (เมล็ดชุดควบคุม) คือ 24.43, 21.68, 12.02 และ 28.57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ส่วนการเปรียบเทียบวิธีการพอกเมล็ดและเมล็ดควบคุมพบว่า น้ำหนักสดใบ น้ำหนักแห้งใบ น้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งราก มีความแตกต่างกันในทางสถิติจากเมล็ดควบคุมอย่างชัดเจน ซึ่งเมื่อพิจารณาความ

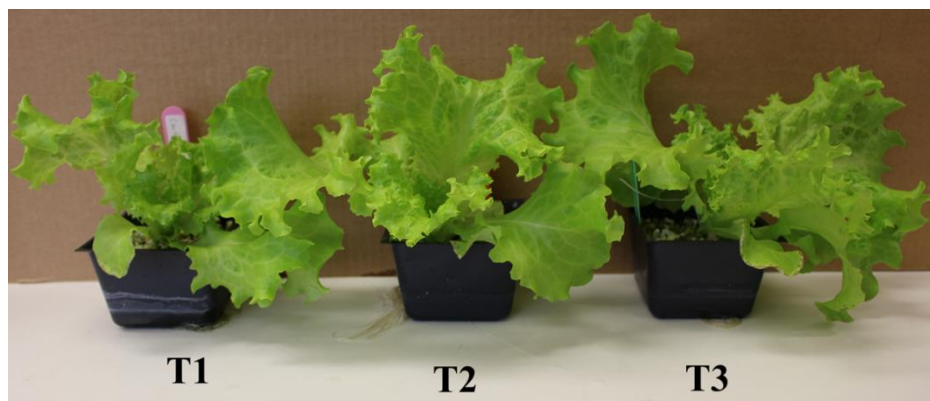


Figure 1. Effect of seed treatment with microbial probiotic growth promotion on plant growth of lettuce. (T1) control; (T2) coated seed + *Pseudomonas fluorescens* 31-12 and (T3) pelleted seed + *P. fluorescens* 31-12

Table 4. Leaf fresh and dry weight, root fresh and dry weight at harvesting (45 days-old) of lettuce after seed treatments with *Pseudomonas fluorescens* 31-12 grown under greenhouse condition

Parameters	Leaf fresh weight (g)	Leaf dry weight (g)	Root fresh weight (g)	Root dry weight (g)
Coating	11.61	1.01	2.05	0.18
Pelleting	12.22	1.15	2.16	0.21
T-test	ns	ns	ns	ns
Control	9.33	0.83	1.83	0.14
Coating	11.61 (+24.43)	1.01 (+21.68)	2.05 (+12.02)	0.18 (+28.57)
T-test	**	*	ns	*
Control	9.33	0.83	1.83	0.14
Pelleting	12.22 (+30.97)	1.15 (+38.55)	2.16 (+18.03)	0.21 (+50.00)
T-test	**	**	*	**

ns, *, **: ns: not significantly different; *: significantly different at $P \leq 0.05$ and ** significantly different at $P \leq 0.01$ respectively

แตกต่างของวิธีการพอกเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 และเมล็ดชุดควบคุม ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีการพอกเมล็ดมีน้ำหนักสดใบ น้ำหนักแห้งใบ น้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้นจากเดิม (เมล็ดชุดควบคุม) คือ 30.97, 38.55, 18.03 และ 50.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากผลการทดลองเห็นได้ชัดว่าวิธีการเคลือบและการพอกเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 (ภาพที่ 1) มีการเจริญเติบโตแตกต่างจากต้นผักกาดหอมควบคุมเนื่องจากวิธีการเคลือบหรือพอกเมล็ดพันธุ์มีข้อดี คือ มีสารเคลือบหรือสารเชื้อสำหรับเป็นตัวกลางเพื่อนำพาจุลินทรีย์ให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ และจากการเปรียบเทียบวิธีการเคลือบและพอกเมล็ดพบว่า การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดใบ น้ำหนักแห้งใบ น้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งราก ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 4) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบวิธีการเคลือบ และพอกเมล็ดร่วมกับเมล็ดชุดควบคุม ผลปรากฏว่า การเคลือบและการพอกเมล็ดมีผลการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของผักกาดหอมดีมากกว่าเมล็ดควบคุมอย่างชัดเจน

ดังนั้นจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า หลังจากการตรวจสอบการเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอมกรรมวิธีการทำ seed treatment ร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 เห็นได้ชัดว่า มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งใบ

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรากเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดชุดควบคุม ทั้งนี้เมื่อ *P. fluorescens* อาศัยอยู่กับรากพืชจะมีคุณสมบัติพิเศษต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืชได้ดี อีกทั้งสามารถสังเคราะห์ฮอร์โมน และยังสามารถต่อต้านเชื้อแบคทีเรียให้กับพืชที่อยู่อาศัยได้ อีกด้วย (Mahanty *et al.*, 2017) เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของใบผักกาดหอมอาจอธิบายได้เพิ่มเติมว่า *P. fluorescens* สามารถผลิตเอนไซม์ไนโตรจีเนสเพื่อช่วยเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนให้เป็นสารประกอบในรูปของแอมโมเนียและไนเตรท (Herrera *et al.*, 2016) ซึ่งไนโตรเจนมีส่วนสำคัญต่อการเจริญเติบโตของใบ และลำต้น ทำให้ลำต้น และใบมีสีเขียวเข้ม จึงเป็นส่วนสำคัญทำให้ต้นผักกาดหอมสามารถสังเคราะห์ธาตุอาหารได้มากขึ้น จึงทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตเพิ่มสูงขึ้น (Kumar *et al.*, 2016; Mahanty *et al.*, 2017) นอกจากนี้ *P. fluorescens* ยังมีคุณสมบัติส่งเสริมการสังเคราะห์แสงของพืชได้ ทำให้พืชสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการตรึง CO₂ ได้สูงขึ้น (Long *et al.*, 2006) และผลการทดลองยังแสดงให้เห็นอีกว่า เมื่อพิจารณาจากน้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งราก วิธีการเคลือบและพอกเมล็ดพันธุ์ด้วย *P. fluorescens* 31-12 ทำให้ต้นผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตของรากเพิ่มสูงขึ้นโดยประสิทธิภาพของ *P. fluorescens* มีกลไกสำคัญที่

สามารถผลิต phytohormone ที่เป็นกรดอินทรีย์สำคัญ คือ indolo-3-acetic acid (IAA) โดยฮอริโมน IAA มีส่วนสำคัญต่อการแบ่งเซลล์และการขยายตัวของเซลล์ราก อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความยาวของรากและพื้นที่ผิว เพื่อให้รากสามารถดูดซึมน้ำและสารอาหารได้มากขึ้น (Salisbury, 1994; Patten and Glick, 2002; Ahemad and Khan, 2011) นอกจากนี้ *P. fluorescens* 31-12 ยังสามารถผลิต เอนไซม์ L-tryptophan- dependent ขึ้น ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนใบของพืชได้ (Asghar *et al.*, 2002, Asghar *et al.*, 2004) นอกจากนี้ตามรายงานของ Garcia de Salamone *et al.* (2001) พบว่า *P. fluorescens* ยังสามารถผลิต cytokinins ที่มีส่วนส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายตัวของเซลล์และการขยายตัวของเนื้อเยื่อพืชได้

สรุป

การเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 มีผลทำให้ความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอมดีที่สุด ส่วนการทดลองที่ 2 หลังจากคัดเลือกวิธีการที่มีผลตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงต้นกล้าผักกาดหอมดีที่สุด แล้วนำมาเพาะปลูกในระบบการปลูกพืชไร่ดินพบว่า การเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 มีน้ำหนักสดใบ น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งใบ และน้ำหนักแห้งรากมากกว่า และแตกต่างกันในทางสถิติอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดชุดควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบวิธีการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 พบว่า วิธีการทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่วิธีการพอกเมล็ดร่วมกับ *P. fluorescens* 31-12 มีการเจริญเติบโตของผักกาดหอมดีที่สุดเมื่อตรวจสอบในระบบการปลูกพืชไร่ดิน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (รหัสทุน พวอ. PHD58I0007) และ Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC) สำหรับ

การสนับสนุนสถานที่และวัสดุอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- จิราภรณ์ อินทสาร จัตรปวีณ์ เดชจิรัตน์สิริ และ ประวิทย์ บุญมี. 2560. ผลของแบคทีเรียที่ผลิตสาร Indole-3-Acetic Acid (IAA) ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณธาตุอาหารของพืชขึ้น. วารสารเกษตร 33(3): 333-344.
- ธิดารัตน์ แก้วคำ. 2560. การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. เกษตร 45(1): 197-208.
- Ahemad, M. and M.S. Khan. 2011. Assessment of plant growth promoting activities of rhizobacterium *Pseudomonas putida* under insecticide-stress. Microbiology Journal 1(2): 54-64.
- Asghar, H.N., Z. A. Zahir, M. Arshad and A. Khaliq. 2002. Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. Biology and Fertility of Soils 35(4): 231-237.
- Asghar, H.N., Z.A. Zahir and M. Arshad. 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth, yield, and oil content of canola (*Brassica napus* L.). Australian Journal of Agricultural Research 55(2): 187-194.
- Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment - a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. Advances in Agronomy 88: 223-271.
- Bardi, L. and E. Malusà. 2012. Drought and nutritional stresses in plant: alleviating role of rhizospheric microorganisms. pp. 1-57. In: N. Haryana and S. Punj (eds.). Abiotic

- Stress: new Research. Nova Science Publishers Inc., Hauppauge.
- Bennett, M.A. 1998. The use of biologicals to enhance vegetable seed quality. *Seed Technology* 20(2): 198-208.
- Bloemberg, G.V. and B.J.J. Lugtenberg. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion in Plant Biology* 4(4): 343-350.
- Cakmakci, R., M. Erat, U. Erdogan and M.F. Donmez. 2007. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 170(2): 288-295.
- Cazorla, F.M., D. Romero, A. Perez-Garcia, B.J.J. Lugtenberg, A. de Vicente and G. Bloemberg. 2007. Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizosphere displaying biocontrol activity. *Journal of Applied Microbiology* 103(5): 1950-1959.
- Cipriano, M.A., M. Lupatini, L. Lopes-Santos, M.J. da Silva, L.F. Roesch, S.A. Destéfano, S.S. Freitas and E.E. Kuramae. 2016. Lettuce and rhizosphere microbiome responses to growth promoting *Pseudomonas* species under field conditions. *FEMS Microbiology Ecology* 92(12), doi: 10.1093/femsec/fiw197.
- Garcia de Salamone, I.E., R.K. Hynes and L.M. Nelson. 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology* 47(5): 404-411.
- Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012, doi: 10.6064/2012/963401.
- Glick, B.R., Z. Cheng, J. Czarny and J. Duan. 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology* 119(3): 329-339.
- Gupta, A., V. Rai, N. Bagdwal and R. Goel. 2005. In situ characterization of mercury-resistant growth-promoting fluorescent pseudomonads. *Microbiological Research* 160: 385-388.
- Herrera, J.M., G. Rubio, L.L. Häner, J.A. Delgado, C.A. Lucho-Constantino, S. Islas-Valdez and D. Pellet. 2016. Emerging and established technologies to increase nitrogen use efficiency of cereals. *Agronomy Journal* 6(2): 25, doi: 10.3390/agronomy6020025.
- ISTA. 2013. International Rules for Seed Testing, ISTA, Bassersdorf.
- Kasim, W.A., M.E. Osman, M.N. Omar, I.A. Eldaim, S. Bejai and J. Meijer. 2013. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. *Journal of Plant Growth Regulation* 32(1): 122-130.
- Khorasani, A.C. and S.A. Shojaosadati. 2017. Starch- and carboxymethylcellulose-coated bacterial nanocellulose-pectin bionanocomposite as novel protective prebiotic matrices. *Food Hydrocolloids* 63: 273-285.
- Kim, M.J., Y. Moon, J.C. Tou, B. Mou and N.L. Waterland. 2016. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis* 49: 19-34.
- Kumar, M., D.P. Singh, R. Prabha, A.K. Rai and L. Sharma. 2016. Role of microbial inoculants in nutrient use efficiency. pp. 133-142. *In*:

- P.P. Singh, H.B. Singh and R. Prabha (eds.). Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity. Vol. 2: Functional Applications. Springer, New Delhi.
- Kundu, B.S. and A.C. Gaur. 1980. Establishment of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria in rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of wheat crop. *Plant and Soil* 57(2-3): 223-230.
- Lakshminarayana, K., N. Narula, I.S. Hooda and A.S. Faroda. 1992. Nitrogen economy in wheat (*Triticum aestivum*) through use of *Azotobacter chroococcum*. *Indian Journal Agricultural Sciences* 62(1): 75-76.
- Long, S.P., X.G. Zhu, S.L. Naidu and D.R. Ort. 2006. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant, Cell and Environment* 29(3): 315-330.
- Mahanty, T., S. Bhattacharjee, M. Goswami, P. Bhattacharyya, B. Das, A. Ghosh and P. Tribedi. 2017. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research* 24(4): 3315-3335.
- Malboobi, M.A., M. Behbahani, H. Madani, P. Owlia, A. Deljou, B. Yakhchali, M. Moradi and H. Hassanabadi. 2009. Performance evaluation of potent phosphate solubilizing bacteria in potato rhizosphere. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25(8): 1479-1484.
- Malusa, E. and N.A. Vassilev. 2014. A contribution to set a legal framework for biofertilisers. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98(15): 6599-6607, doi: 10.1007/s00253-014-5828-y.
- Olivera, M.E., L. Ferrari, S. Araoz and E.B. Postulka. 2016. Improvements on physiological seed quality of *festuca arundinacea* schreb by encrusting technology: products and storage effects. *Research Journal of Seed Science* 10(1): 33-37.
- Oteino, N., R.D. Lally, S. Kiwanuka, A. Lloyd, D. Ryan, K.J. Germaine and D.N. Dowling. 2015. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontier in Microbiology* 6: 745, doi: 10.3389/fmicb.2015.00745.
- Patten, C.L. and B.R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology* 68(8): 3795-3801.
- Pedrini, S., D.J. Merritt, J. Stevens, and K. Dixon. 2017. Seed Coating: Science or Marketing Spin?. *Trends in Plant Science* 22(2): 106-116.
- Ramzan, N., N. Noreen, Z. Perveen and S. Shahzad. 2016. Effect of seed pelleting with biocontrol agents on growth and colonisation of roots of mungbean by root-infecting fungi. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(11): 3694-3700.
- Rekha, P.D., W. Lai, A.B. Arun and C.C. Young. 2007. Effect of free and encapsulated *Pseudomonas putida* CC-FR2-4 and *Bacillus subtilis* CC-pg104 on plant growth under gnotobiotic conditions. *Bioresource Technology* 98(2): 447-451.
- Sahin, F., R. Cakmakci and F. Kantar. 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil* 265(1-2): 123-129.

- Salisbury, F.B. 1994. The role of plant hormones. pp. 39-81. In: R.E. Wilkinson (ed.). Plant-Environment Interactions. Marcel Dekker, New York.
- Saravanakumar, D., C. Vijayakumar, N. Kumar and R. Samiyappan. 2007. PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. Crop Protection 26(4): 556-565.
- Taylor, A.G., P.S. Allen, M.A. Bennett, K.J. Bradford, J.S. Burris and M.K. Misra. 1998. Seed enhancements. Seed Science Research 8: 245-256.
- Turan, M., N. Ataoglu and F. Sahin. 2005. Evaluation the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. Journal of Sustainable Agriculture 28(3): 99-108.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 255(2): 571-586.
- Zaidi, S., S. Usmani, B.R. Singh and J. Musarrat. 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ 101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. Chemosphere 64(6): 991-997.
-

อินทรีย์คาร์บอนของเม็ดดินที่ก่อให้เกิดก๊าซมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ในดินนา

Organic Carbon in Soil Aggregates Induces Methane and Carbon Dioxide Formation in Paddy Soils

วุฒิ ศรีวิชัย¹ ดวงสมร ตูลาพิทักษ์² พฤกษา หล้าวงษา^{1,3} และ พัชรี้ แสนจันทร์^{1,3*}

Wut Sriwichai¹, Daungsamorn Tulaphitak², Phrueksa Lawongsa^{1,3} and Patcharee Saenjan^{1,3*}

¹สาขาวิชาปฐพีศาสตร์และสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

¹Department of Soil Science and Environment, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand

²ศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเกษตรกรรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

²Agricultural Development and Research Center in Northeast Thailand, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

³กลุ่มวิจัยอินทรีย์วัตถุของดิน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

³Soil Organic Matter Management Research Group, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

*Corresponding author: Email: patsae1@kku.ac.th

(Received: 28 November 2017; Accepted: 30 May 2018)

Abstract: The objective of this study was to determine organic carbon types and soil aggregate sizes Induce in methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂) formation in paddy soils. Loam and sandy loam soil were studied. Each soil was separated into 6 aggregate-size fractions : <4 mm (bulk soil), 4-2 mm (large macro-aggregate, LMa), 2-1 mm (medium macro-aggregate, MMa), 1-0.25 mm (small macro-aggregate, SMa), 0.25-0.053 mm (micro-aggregate, Mi) and <0.053 mm (fine micro-aggregate, FMi). Each aggregate fraction was uncrushed and crushed. Soil organic carbon (SOC) and labile organic carbon (LOC) content as well as non-LOC:SOC ratio were determined. Each soil-aggregate fraction (uncrushed and crushed) was anaerobically incubated for 14 days and measured for CH₄ and CO₂ production potential. The results found that LOC was more suitable source of SOC induced for CH₄ and CO₂ production potential than non-LOC was. Average LOC contents of loam and sandy loam were 0.78 mg/kg and 0.70 mg/kg, while average non-LOC:SOC ratio were 0.94 and 0.90, respectively. LOC content and non-LOC:SOC ratio of loam were significantly more than those of sandy loam. In loam soil, CH₄ formation locations were founded a lot in aggregate sizes of 2-1 mm followed by 1-0.25 mm and 4-2 mm, while in sandy loam soil was in 2-1 mm. CO₂ formation of loam soil was located more in aggregate size of 2-1 mm, while of sandy loam soil were 2-1 mm, <0.053 mm and 1-0.25 mm.

Keywords: Soil organic carbon, methane, carbon dioxide, soil aggregate

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษานิเวศของอินทรีย์คาร์บอนในดินและขนาดเม็ดดินที่ก่อให้เกิดก๊าซมีเทน (CH_4) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ในดินนา โดยทำการศึกษากับดินร่วนและดินร่วนปนทรายที่ถูกแยกออกเป็น 6 กลุ่ม ขนาดเม็ดดิน <4 มม. (bulk soil), 4-2 มม. (large macroaggregate, LMa), 2-1 มม. (medium macroaggregate, MMa), 1-0.25 มม. (small macroaggregate, SMa), 0.25-0.053 มม. (microaggregate, Mi) และ <0.053 มม. (fine microaggregate, FMi) ซึ่งแต่ละกลุ่มขนาดนั้นทั้งไม่ถูกบด (uncrushed) และที่ถูกบด (crushed) วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (CRD) แต่ละเนื้อดินมี 12 ตำรับทดลอง ทำ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในดิน (SOC) อินทรีย์คาร์บอนที่ย่อยสลายง่าย (LOC) และสัดส่วนคาร์บอนที่ย่อยสลายยาก (non-LOC:SOC) แล้วทำการบ่มดินในสภาพไร้ออกซิเจน นาน 14 วัน และวิเคราะห์ปริมาณก๊าซ CH_4 และ CO_2 ผลการทดลองพบว่าสาร LOC เป็นแหล่งของอินทรีย์คาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 มากกว่าสาร non-LOC ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายยาก ค่าเฉลี่ยปริมาณ LOC ของดินร่วนและดินร่วนปนทรายมีค่า 0.78 มก./กก. และ 0.70 มก./กก. และมีค่าเฉลี่ยสัดส่วน non-LOC:SOC 0.94 และ 0.90 ตามลำดับ โดยที่ดินร่วนมีปริมาณ LOC และสัดส่วน non-LOC:SOC มากกว่าของดินร่วนปนทราย ตำแหน่งของการเกิดก๊าซ CH_4 ในดินร่วนเกิดมากที่สุดที่เม็ดดินขนาด 2-1 มม. ตามด้วยเม็ดดินขนาด 1-0.25 มม. และ 4-2 มม. ส่วนในดินร่วนปนทรายก๊าซ CH_4 เกิดมากที่สุดที่เม็ดดินขนาด 2-1 มม. ในขณะที่การเกิดก๊าซ CO_2 ของดินร่วนเกิดมากที่สุดที่เม็ดดินขนาด 2-1 มม. ส่วนของดินร่วนปนทรายก๊าซ CO_2 เกิดมากที่สุดที่เม็ดดินขนาด 2-1 มม. ตามด้วยเม็ดดินขนาด <0.053 มม. และ 1-0.25 มม.

คำสำคัญ: อินทรีย์คาร์บอนในดิน มีเทน คาร์บอนไดออกไซด์ เม็ดดิน

คำนำ

การปล่อยก๊าซเรือนกระจกจากดินเกษตรกรรมมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องส่งผลให้เกิดสภาวะโลกร้อนและการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Smith *et al.*, 2008) ก๊าซเรือนกระจกที่สำคัญ คือ มีเทน (CH_4) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ซึ่งก๊าซ CH_4 มีศักยภาพในการก่อให้เกิดภาวะโลกร้อนมากกว่า CO_2 ถึง 25 เท่า (Ali *et al.*, 2015) ในปี ค.ศ. 2005 ก๊าซ CH_4 ถูกปลดปล่อยจากนาข้าวทั่วโลกประมาณ 25.6 ล้านตัน/ปี (IPCC, 2007) พัทรี และคณะ (2558) รายงานว่าปริมาณก๊าซ CH_4 และ CO_2 ที่ปล่อยจากดินนา ร่วนมีมากถึง 0.76 และ 4.01 ตันคาร์บอน/เฮกแตร์/ฤดูปลูก

ดินประกอบด้วยเม็ดดินขนาดต่าง ๆ และอินทรีย์วัตถุในดิน ขนาดของเม็ดดินจะเป็นตัวกำหนดโครงสร้างของช่องว่างภายในดิน โดยทั่วไปดินเนื้อหยาบจะมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในดิน (soil organic carbon, SOC) ต่ำกว่าในดินเนื้อละเอียด (Mangalassery *et al.*, 2013) ซึ่ง SOC ประกอบด้วยอินทรีย์คาร์บอนสองชนิด

ได้แก่ อินทรีย์คาร์บอนที่สลายง่าย (labile organic carbon, LOC) อาทิ โพลีแซคคาไรด์ (Yang *et al.*, 2017) และสารอินทรีย์คาร์บอนที่ย่อยสลายยาก (non labile organic carbon, non-LOC) อาทิ ฮิวมัส (ชาญยุทธ และคณะ, 2560; Hobley *et al.*, 2016) ปริมาณ SOC จะขึ้นอยู่กับประเภทของเนื้อดินและขนาดของเม็ดดิน นอกจากนั้นขนาดของเม็ดดิน (aggregate size) ยังบ่งชี้ถึงตำแหน่ง (location) ของการกักเก็บอินทรีย์คาร์บอน ซึ่งเม็ดดินที่มีขนาดต่างกันจะสะสม SOC ในปริมาณต่างกัน (Fernandez *et al.*, 2010; Helgason *et al.*, 2010) โดยที่ดินเนื้อละเอียดมีแนวโน้มที่จะสร้างเม็ดดินขนาดเล็กที่เสถียร (stable microaggregates) ขณะเดียวกัน SOC จะถูกกักเก็บอยู่ภายในเม็ดดินทำให้ถูกปกป้องได้ง่ายกว่าในดินเนื้อหยาบที่มีแนวโน้มสร้างเม็ดดินขนาดใหญ่ (macroaggregate) (Puttaso *et al.*, 2013) ทำให้ขนาดของเม็ดดินมีอิทธิพลต่อปริมาณการกักเก็บอินทรีย์คาร์บอน ในขณะเดียวกัน SOC เป็นแหล่งกำเนิดของก๊าซ CH_4 และ CO_2 (พัทรี และคณะ, 2558; Ro *et al.*, 2011) เม็ดดินจึงมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งต่อการผลิตและการปล่อยก๊าซเรือนกระจกจากดิน Mangalassery *et al.*

(2013) รายงานว่าการปล่อยก๊าซ CH_4 และ CO_2 (emission) ในดินเนื้อละเอียดจะน้อยกว่าในดินเนื้อหยาบ แม้ว่าดินเนื้อละเอียดจะมีปริมาณ SOC มากกว่าก็ตาม แต่สำหรับก๊าซ CO_2 ซึ่งปล่อยออกมากในดินเนื้อหยาบนั้น พบว่าปล่อยออกปริมาณมากมาจากเม็ดดินขนาดใหญ่

SOC นั้นประกอบด้วย LOC และ non-LOC ซึ่งปริมาณของ SOC, LOC และ non-LOC คาดว่าน่าจะมีผลต่อการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในดินนา ในขณะที่ข้อมูลเกี่ยวกับขนาดของเม็ดดินที่ได้จากการแยกกลุ่มขนาดเม็ดดินต่อปริมาณของ SOC, LOC, non-LOC และการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ยังมีข้อมูลน้อยมาก การแยกกลุ่มขนาดเม็ดดินจะทำให้ทราบถึงตำแหน่งของการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในดิน ในขณะที่เดียวกันไม่พบข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของ SOC, LOC และ non-LOC ของเม็ดดินขนาดต่าง ๆ ที่คาดว่าจะมีผลต่อตำแหน่งและปริมาณการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในดินนาของประเทศไทย

อย่างไรก็ตามในดินโดยทั่วไปจะมี SOC, LOC และ non-LOC เป็นองค์ประกอบอยู่ซึ่งอยู่ตามบริเวณผิวของเม็ดดิน ที่ถูกกักเก็บอยู่ระหว่างอนุภาคดินภายในเม็ดดิน และที่ถูกกักเก็บอยู่ภายในช่องว่างระหว่างเม็ดดิน ในทางทฤษฎีการบด (crushing) เม็ดดินจะทำให้ได้ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนส่วนที่ถูกกักเก็บอยู่ระหว่างอนุภาคดินภายในเม็ดดินและส่วนที่ถูกกักเก็บอยู่ภายในช่องว่างระหว่างเม็ดดินแสดงออกมาได้ให้ใกล้เคียงกับปริมาณจริง หากบดเม็ดดินที่บดจะทำให้จุลินทรีย์สามารถเข้าถึงและใช้ประโยชน์จากอินทรีย์คาร์บอนเหล่านั้นเพื่อผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ได้ง่ายขึ้น สมมุติฐานของการไม่บดและการบดเม็ดดินทำให้ได้ปริมาณ SOC, LOC และ non-LOC ต่างกัน และทำให้มีผลต่อปริมาณการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ต่างกัน อันจะนำไปสู่ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้สารอาหาร (substrate) ที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ดังนั้นจึงต้องทำการแยกกลุ่มขนาดเม็ดดิน (soil-aggregate-size fraction) ทำการบดเม็ดดินของกลุ่มขนาดต่าง ๆ และทำการบดเม็ดดินเหล่านั้นควบคู่ไปกับการบดของเม็ดดินที่ไม่บด งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของอินทรีย์

คาร์บอนในดินรวมถึงกลุ่มขนาดเม็ดดินที่ก่อให้เกิดก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในดินนา

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างดินที่ศึกษาและการแยกกลุ่มขนาดเม็ดดิน

เก็บ ตัวอย่างดินนาเนื้อดินร่วน (loam, Ratchaburi soil series, Rb) และดินนา ร่วนปนทราย (sandy loam, Ubon soil series, Ub) ที่แปลงนาเกษตรกรในจังหวัดขอนแก่น ที่ความลึก 0-15 ซม. ผึ่งในที่ร่มแล้ว ร่อนผ่านตะแกรงรูขนาด 4 มม. นำดินทั้งสองเนื้อดินมาทำการแยกกลุ่มขนาด (aggregate size fraction) โดยชั่งดินขนาด <4 มม. (bulk soil) จำนวน 100 ก. มาแยกกลุ่มขนาดเม็ดดินด้วยวิธี dry sieving โดยใช้เครื่องเขย่า W.S. Tyler RX-29-10 Ro-Tap Shaker 1,450 รอบ/นาที นาน 2 นาที แยกออกเป็นกลุ่มเม็ดดิน ได้แก่ ขนาด 4-2 มม. (L_{Ma}), 2-1 มม. (M_{Ma}), 1-0.25 มม. (S_{Ma}), 0.25-0.053 มม. (M_i) และ < 0.053 มม. (F_{Mi}) (ดัดแปลงจาก Demirel and Scherer, 2008; Mangalassery *et al.*, 2013; Puttaso *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2007)

ดำเนินการทดลองประกอบด้วย 2 การทดลองย่อยกับดิน 2 เนื้อดินคือ ดินร่วนและดินร่วนปนทราย โดยของแต่ละดินได้ทำการบดตัวอย่างเม็ดดินกลุ่มขนาดต่าง ๆ ที่ไม่บด (uncrushed) และขณะเดียวกันทำการบดเม็ดดินของกลุ่มขนาดต่าง ๆ ที่ถูกบด (crushed) ไปพร้อมกัน วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized design (CRD) ทำการบดตำรับละ 3 ซ้ำ แต่ละการทดลองย่อยมี 12 ตำรับจำนวน 36 ชุด รวมทั้งการทดลองมีทั้งหมด 72 ชุด

ส่วนการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน ได้แก่ ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density) (Baver *et al.*, 1972) เนื้อดิน (soil texture) โดยวิธี Bouyoucos hydrometer ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH 1:5 H_2O) โดยวิธี pH meter (Mc Lean, 1982) ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในดิน (soil organic carbon, SOC) โดยวิธี dichromate oxidation (Walkley and Black, 1934) ขณะที่การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของเม็ดดินกลุ่มขนาดต่าง ๆ นั้น ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ SOC, ปริมาณ

อินทรีย์คาร์บอนส่วนที่ย่อยสลายง่าย (labile organic carbon, LOC) โดยวิธี permanganate oxidation (Moody and Cong, 2008) ส่วนปริมาณอินทรีย์คาร์บอนส่วนที่ย่อยสลายยาก (non labile organic carbon, non-LOC) คำนวณจาก ปริมาณ SOC ลบด้วยปริมาณ LOC และคำนวณหาสัดส่วนของ non-LOC:SOC ทั้งนี้เพื่อให้เข้าใจปริมาณของอินทรีย์คาร์บอนที่ถูกกักเก็บ อาทิ SOC, LOC และ non-LOC ในเมื่อดินแต่ละกลุ่มขนาด จึงทำการวิเคราะห์ปริมาณ SOC และ LOC ในเมื่อดินกลุ่มขนาดต่าง ๆ ที่ไม่บดและที่บด ส่วนปริมาณ non-LOC คำนวณในสัดส่วน non-LOC:SOC จากสมการ
$$= (SOC - LOC) / SOC$$

การบ่มดินและการวิเคราะห์ตัวอย่างก๊าซ

ซึ่งตัวอย่างเมื่อดินแต่ละกลุ่มขนาด ประกอบด้วย เมื่อดินรวม (<4 มม., bulk soil) และเมื่อดิน 5 กลุ่มขนาด น้ำหนัก 2.5 ก. ลงในขวดแก้วทรงกลมที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.04 ม. สูง 0.06 ม. เติมน้ำปราศจากไอออน (DI) 3 มล. เขย่าสารละลายดินด้วยเครื่อง vertex shaker 50 รอบ/นาที่ นาน 30 วินาที เพื่อไล่ฟองอากาศในสารละลายดิน ขณะเดียวกันใช้ก๊าซไนโตรเจน (N_2 99.99%) ไล่ที่อากาศในขวดเพื่อให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน (anaerobic) ปิดปากขวดด้วยจุกยางและล็อกปากขวดด้วยอะลูมิเนียมแคป บ่มตัวอย่างสารละลายดินในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิเฉลี่ย 34 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน

การวิเคราะห์ก๊าซ CH_4 และ CO_2 เก็บตัวอย่างก๊าซด้วย syringe ขนาด 1 มล. โดยดูดตัวอย่างอากาศในช่องว่าง (head space) ของขวดบ่ม นำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นก๊าซ CH_4 และ CO_2 ด้วยเครื่อง gas chromatograph (GC) (Shimadzu, GC-2014, Japan) และคำนวณหาศักยภาพการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 (production potential, E) ในหน่วย มก./กก.ดิน/14 วัน โดยใช้วิธีการของ Saenjan *et al.* (2015) ด้วยสมการ $E = \{C \times V_b \times (M_w/M_v) \times 273.2 / (273.2 + T)\} \times (1000/2.5)$ เมื่อ C = ความเข้มข้นของก๊าซ CH_4 และ CO_2 (พีพีเอ็ม

หรือ ไมโครโมล/มิล); V_b = ปริมาตรของช่องว่างในขวดบ่ม (ลบ.ม.); M_w = น้ำหนักโมเลกุลของก๊าซ CH_4 16.123 ก./มิล และ CO_2 44.01 ก./มิล; M_v = ปริมาตรโมเลกุลของก๊าซ CH_4 และ CO_2 22.41×10^{-3} ลบ.ม.; T = อุณหภูมิภายในห้องบ่ม (องศาเซลเซียส)

การวิเคราะห์ข้อมูล

แบบที่ 1 ทำการเปรียบเทียบผลข้อมูลของการบดเมื่อดิน ซึ่งกำหนดให้เป็นปัจจัยที่ 1 คือ 1. ไม่บดเมื่อดิน และ 2. บดเมื่อดิน และกำหนดให้กลุ่มขนาดเมื่อดินเป็นปัจจัยที่ 2 คือ ขนาดของเมื่อดิน 6 กลุ่มดังที่กล่าวแล้วข้างต้น ซึ่งผลการวิเคราะห์ได้แสดงเป็นกราฟวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of variance, ANOVA) แยกในแต่ละเนื้อดิน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี least significant difference (LSD) โดยใช้ค่า P-value <0.05

แบบที่ 2 ทำการเปรียบเทียบระหว่างเนื้อดิน ซึ่งกำหนดให้เป็นปัจจัยที่ 1 คือ 1. ดินร่วน และ 2. ดินร่วนปนทราย และกำหนดให้การบดเมื่อดินเป็นปัจจัยที่ 2 คือ 1. เมื่อดินที่ไม่บด 2. เมื่อดินที่ไม่บด วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบสองทาง (a two-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี LSD โดยใช้ค่า P-value <0.05 แสดงผลการวิเคราะห์เป็นตาราง

ผลการทดลอง

สมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดิน

สมบัติของดินร่วน ความหนาแน่นรวม (BD) มีค่า 1.45 ก./ลบ.ซม. เนื้อดินประกอบด้วย sand, silt และ clay มีค่า 48.42, 37.40 และ 14.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ pH มีค่า 5.28 อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดในดิน (SOC) 10.7 ก./กก. ส่วนสมบัติของดินร่วนปนทราย ความหนาแน่นรวม มีค่า 1.50 ก./ลบ.ซม. เนื้อดินประกอบด้วย sand, silt และ clay มีค่า 65.42, 33.32 และ 1.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ pH มีค่า 5.23 และปริมาณ SOC 8.2 ก./กก.

ศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทน (CH₄) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂)

ในดินร่วนปริมาณการผลิตก๊าซ CH₄ ของเมื่อดินทุกขนาดที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 0.30-1.76 มก./กก./14 วัน มากกว่าของเมื่อดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.10-1.43 มก./กก./14 วัน (ภาพที่ 1a) และพบว่าการเกิดก๊าซ CH₄ ของดินที่ไม่บดมีปริมาณมากในเมื่อดินขนาด 2-1 มม. 1-0.25 มม. และ 4-2 มม. ส่วนเมื่อดินที่บดพบก๊าซ CH₄ มากในเมื่อดินขนาด 2-1 มม. และ 1-0.25 มม. ส่วนปริมาณการเกิดก๊าซ CH₄ ในดินร่วนปนทรายของเมื่อดินที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 0.06-1.55 มก./กก./14 วัน มากกว่าของเมื่อดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.05-0.33 มก./กก./14 วัน (ภาพที่ 1b) และพบว่าการเกิดก๊าซ CH₄ ของดินที่ไม่บดมีปริมาณมากในเมื่อดินขนาด bulk soil (<4 มม.) และ 2-1 มม. ส่วนเมื่อดินที่บดพบ CH₄ มากในเมื่อดินขนาด 1-0.25 มม. และ <0.053 มม.

ขณะที่การเกิดก๊าซ CO₂ ของดินร่วนที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 1,863.2-3,876.3 มก./กก./14 วัน มากกว่าของเมื่อดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 1,185.9-2,775.9 มก./กก./14 วัน (ภาพที่ 2a) และพบว่าการเกิดก๊าซ CO₂ ในเมื่อดินของดินที่ไม่บดมีปริมาณมากในเมื่อดินขนาด 2-1 มม. ตามด้วย <0.053 มม. และ 1-0.25 มม. ส่วนเมื่อดินที่บดพบก๊าซ CO₂ มากใน bulk soil, 2-1 มม. และ 1-0.25 มม. ส่วนปริมาณการเกิดก๊าซ CO₂ ในดินร่วนปนทรายของเมื่อดินที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 1,193.4-2,668.8 มก./กก./14 วัน มากกว่าของเมื่อดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง

1,488.2-2,572.8 มก./กก./14 วัน (ภาพที่ 2b) และพบว่าการเกิดก๊าซ CO₂ ในเมื่อดินของดินที่ไม่บดมีปริมาณมากในเมื่อดินขนาด 2-1 มม. <0.053 มม. และ 1-0.25 มม. ส่วนเมื่อดินที่บดพบก๊าซ CO₂ มากในเมื่อดินขนาด 1-0.25 มม. และ <0.053 มม. ปริมาณก๊าซ CH₄ และ CO₂ ในเมื่อดินที่ไม่บดและที่บดของดินร่วนจะมีมากกว่าของดินร่วนปนทราย (ตารางที่ 1)

ปริมาณของ SOC, LOC และสัดส่วน non-LOC:SOC ในเมื่อดิน

ปริมาณ SOC ของดินร่วนในเมื่อดินที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 10.7-15.6 ก./กก. และน้อยกว่าในเมื่อดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 22.5-28.9 ก./กก. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 3a) โดยที่ปริมาณ SOC ในเมื่อดินที่ไม่บดจะมีมากในเมื่อดินขนาด <0.053 มม. และ 2-1 มม. ส่วนในเมื่อดินที่บดจะพบปริมาณ SOC มากในเมื่อดินขนาด <0.053 มม. และ 0.25-0.053 มม. ขณะที่ปริมาณ SOC ของดินร่วนปนทรายในเมื่อดินที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 3.8-8.2 ก./กก. และน้อยกว่าในเมื่อดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 8.6-14.0 ก./กก. (ภาพที่ 3b) และพบว่าปริมาณ SOC ในเมื่อดินของดินที่ไม่บดจะมีปริมาณมากใน bulk soil ตามด้วย <0.053 มม. และ 0.25-0.053 มม. ส่วนเมื่อดินที่บดจะพบ SOC มากในเมื่อดินขนาด 4-2 มม. ตามด้วย 1-0.25 มม. และ 0.25-0.053 มม. ปริมาณ SOC ในเมื่อดินที่ไม่บดและที่บดของดินร่วนนั้นจะมีมากกว่าของดินร่วนปนทราย (ตารางที่ 1)

Table 1. Soil organic carbon (SOC), labile organic carbon (LOC) content and non-LOC:SOC ratio in uncrushed and crushed of loam and sandy loam soil

Treatment	SOC (g/kg)		LOC (g/kg)		non-LOC: SOC ratio	
	Loam	Sandy loam	Loam	Sandy loam	Loam	Sandy loam
Soil crushing						
Uncrushed	13.4 B a	7.1 B b	0.78 A a	0.70 A b	0.94 B a	0.90 B b
Crushed	25.1 A a	10.8 A b	0.39 B a	0.38 B a	0.98 A a	0.96 A b
F-test	**	**	**	**	**	**

Mean with the different capital letters in a column indicate significant difference among soil crushing. Small letters in a row indicate significant difference among soil texture. Each direction comparison was statistical difference by LSD at $P < 0.05$, $n = 18$

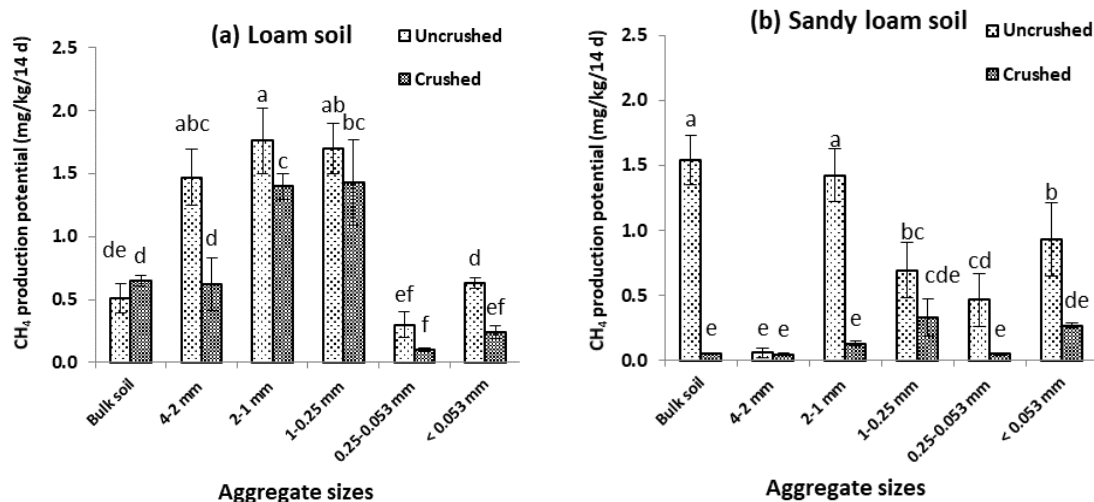


Figure 1. Methane production potential of individual soil aggregates (uncrushed and crushed) in (a) loam and (b) sandy loam soil. Bars represent standard deviation, n = 3

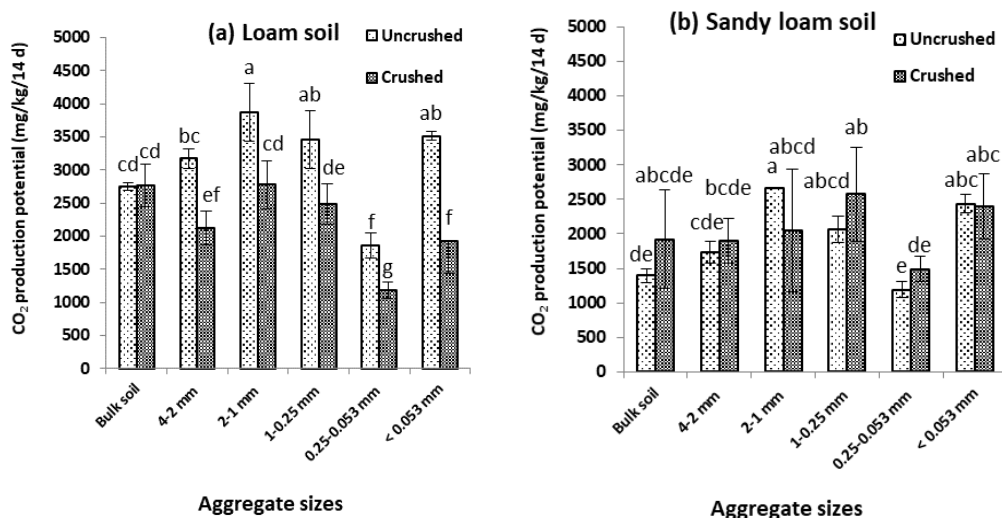


Figure 2. Carbon dioxide production potential of individual soil aggregates (uncrushed and crushed) in (a) loam and (b) sandy loam soil. Bars represent standard deviation, n = 3

ส่วนปริมาณ LOC ของดินร่วนในเม็ดดินที่ไม่บด มีค่าอยู่ในช่วง 0.72-0.88 ก./กก. (ภาพที่ 4a) และมากกว่า ในเม็ดดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.37-0.41 ก./กก. โดยที่ ปริมาณ LOC ในเม็ดดินของดินที่ไม่บดพบมากเม็ดดิน ขนาด 4-2 มม. ตามด้วย 2-1 มม. และ 1-0.25 มม. ส่วนใน เม็ดดินที่บดจะพบปริมาณ LOC มากในเม็ดดินขนาด <0.053 มม. ขณะที่ปริมาณ LOC ของดินร่วนปนทรายใน เม็ดดินที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 0.60-0.80 ก./กก.

(ภาพที่ 4b) และมากกว่าในเม็ดดินที่บด ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.37-0.42 ก./กก. ปริมาณ LOC ในเม็ดดินของดินที่ไม่บด พบมากใน bulk soil ตามด้วย 2-1 มม. และ <0.053 มม. และส่วนเม็ดดินที่บดจะพบปริมาณ LOC มากในเม็ดดิน ขนาด <0.053 มม. ปริมาณ LOC ในเม็ดดินที่ไม่บดและที่ บดของดินร่วนนั้นจะมีมากกว่าของดินร่วนปนทราย (ตารางที่ 1)

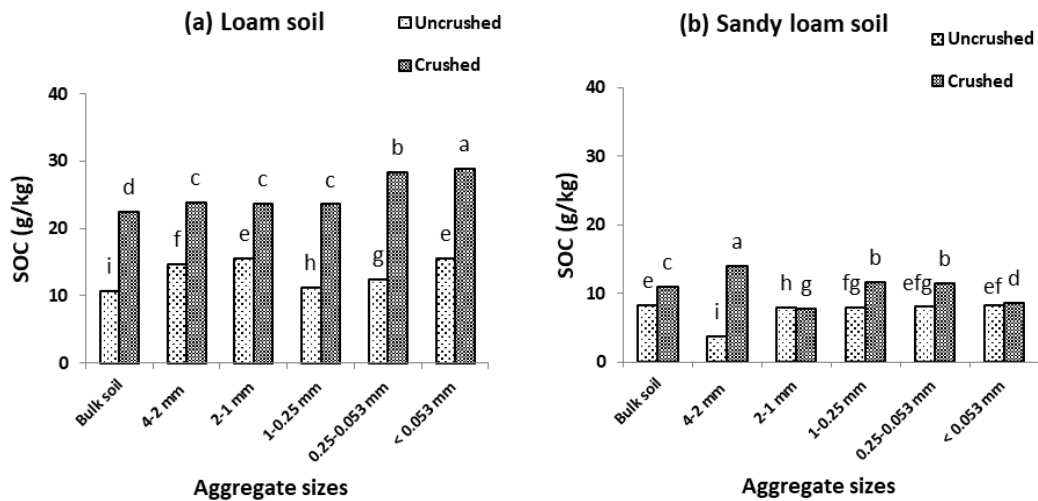


Figure 3. Soil organic carbon (SOC) of individual soil aggregates (uncrushed and crushed) in (a) loam and (b) sandy loam soil. Bars represent standard deviation, n = 3

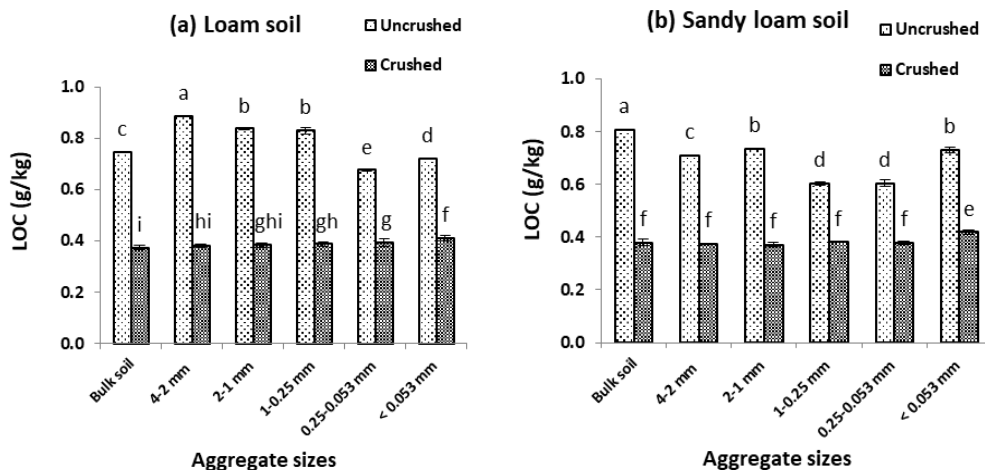


Figure 4. Labile organic carbon (LOC) of individual soil aggregates (uncrushed and crushed) in (a) loam and (b) sandy loam soil. Bars represent standard deviation, n = 3.

สัดส่วน non-LOC:SOC ของดินร่วนในเม็ดดินที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 0.90-0.95 (ภาพที่ 5a) และน้อยกว่าในเม็ดดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.98-0.99 โดยที่สัดส่วน non-LOC:SOC ในเม็ดดินที่ไม่บดจะพบมากในเม็ดดินขนาด <0.053 มม. ตามด้วย 2-1 มม. และ 0.25-0.053 มม. ส่วนเม็ดดินที่บดจะพบสัดส่วน non-LOC:SOC มากในเม็ดดินขนาด 0.25-0.053 มม. และ <0.053 มม. ในขณะที่สัดส่วน non-LOC:SOC ของดินร่วนปนทรายในเม็ดดินที่ไม่บดมีค่าอยู่ในช่วง 0.81-0.95 (ภาพที่ 5b) และ

น้อยกว่าในเม็ดดินที่บดซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.95-0.97 และพบว่าค่าสัดส่วน non-LOC:SOC ในเม็ดดินที่ไม่บดจะมีมากในเม็ดดินขนาด <0.053 มม. ตามด้วย 0.25-0.053 มม. และ 1-0.25 มม. ส่วนเม็ดดินที่บดพบสัดส่วน non-LOC:SOC มากในเม็ดดินขนาด 4-2 มม. สัดส่วน non-LOC:SOC ในเม็ดดินที่ไม่บดและที่บดของดินร่วนนั้นจะมีมากกว่าของดินร่วนปนทราย (ตารางที่ 1)

การผลิตก๊าซ CH_4 ในเม็ดดินที่ไม่บดของดินร่วนและดินร่วนปนทรายพบว่ามีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)

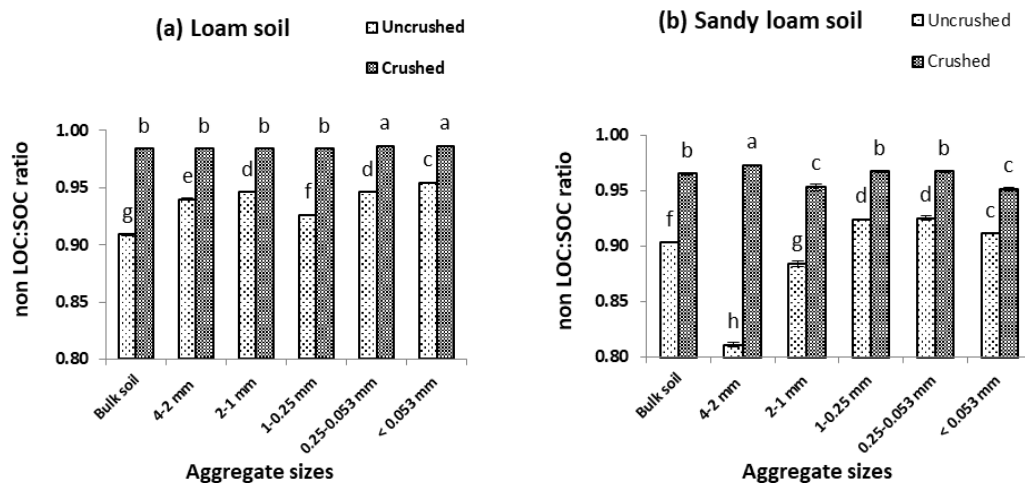


Figure 5. Non-LOC:SOC ratio of individual soil aggregates (uncrushed and crushed) in (a) loam and (b) sandy loam soil. Bars represent standard deviation, $n = 3$.

กับแหล่งของคาร์บอน (SOC, LOC และ non-LOC:SOC) ในเชิงบวกมีค่าอยู่ในช่วง 0.041 ถึง 0.875 และการผลิตก๊าซ CO_2 พบว่าในดินร่วนมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับแหล่งของคาร์บอนอยู่ในช่วง 0.154 ถึง 0.601 ส่วนดินร่วนปนทรายการผลิต ก๊าซ CO_2 มีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในเชิงลบกับ SOC และ non-LOC:SOC แต่สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับ LOC

วิจารณ์

ปริมาณก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในเมื่อดินที่ไม่บดมีมากกว่าในเมื่อดินที่บด เนื่องจากปริมาณ LOC ในเมื่อดินที่ไม่บดมีมากกว่าในเมื่อดินที่บด LOC เป็นสารอินทรีย์คาร์บอนและเป็นสารเชื่อมที่อยู่บริเวณรอบ ๆ ผิวของเม็ดดินที่มีความเสถียรน้อยและไม่ถูกปกป้อง (Tisdall and Oades, 1982) เมื่อสลายตัวให้ผลลัพธ์สุดท้ายเป็นก๊าซ CH_4 และ CO_2 แสดงให้เห็นว่าก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในดินมีแหล่งกำเนิดมาจาก LOC ในดินโดยตรง การที่ปริมาณก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในเมื่อดินที่บดมีต่ำกว่าเมื่อดินที่ไม่บดทั้งนี้เนื่องจากสัดส่วนของ non-LOC:SOC ในเมื่อดินที่บดมีมากกว่าในเมื่อดินที่ไม่บดนั่นเอง สารประกอบอินทรีย์ที่ย่อยยาก (non-LOC) รวมถึงสารฮิวมิกที่ถูกกักเก็บอยู่ภายในเมื่อดินเป็นคาร์บอนที่เสถียรที่ถูกปกป้องด้วยกระบวนการทางฟิสิกส์และทางเคมีภายในเมื่อดิน

non-LOC จึงเป็นสารตั้งต้นที่ไม่เหมาะสมต่อการเกิดก๊าซ CH_4 และ CO_2 แสดงให้เห็นว่าการไม่บดและการบดเม็ดดินทำให้มีผลต่อปริมาณการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ต่างกัน ปริมาณก๊าซ CH_4 และ CO_2 ของดินร่วนผลิตได้มากกว่าของดินร่วนปนทราย เนื่องจากปริมาณ LOC ในเมื่อดินขนาดต่าง ๆ ของดินร่วนมีมากกว่าของดินร่วนปนทรายอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามทั้งปริมาณ SOC และสัดส่วน non-LOC:SOC ในเมื่อดินขนาดต่าง ๆ มีความคล้ายกันและในเมื่อดินที่ไม่บดมีปริมาณต่ำกว่าในเมื่อดินที่บด แสดงให้เห็นว่า non-LOC เป็นองค์ประกอบหลักของ SOC ในเมื่อดิน ในขณะที่ LOC เป็นองค์ประกอบรองแต่มีบทบาทสำคัญต่อการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพและชี้ให้เห็นว่าเกิดขึ้นในดินร่วนมากกว่าในดินร่วนปนทราย ในเมื่อดินที่ไม่บดของดินร่วนปริมาณก๊าซ CH_4 เกิดได้มากในเมื่อดินขนาด 4-2 (L_{Ma}), 2-1 (M_{Ma}) และ 1-0.25 (S_{Ma}) มม. ในขณะที่ของดินร่วนปนทรายปริมาณก๊าซ CH_4 เกิดได้มากในเมื่อดินขนาด 2-1 มม. (S_{Ma}) กรณีของก๊าซ CO_2 ของดินร่วนพบได้มากในเมื่อดินขนาด 2-1 มม. และ <0.053 มม. และของดินร่วนปนทรายพบมากในเมื่อดินขนาด <0.053 มม. ปริมาณก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในเมื่อดินที่ไม่บดของดินร่วนและดินร่วนปนทรายมีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณของ LOC ในเมื่อดินนั้น ๆ (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

ดินที่ถูกบดปริมาณ SOC จะมีมากขึ้นเพราะการบดดินเป็นการทำลายโครงสร้างของเม็ดดินให้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ SOC ที่กักเก็บอยู่ภายในเม็ดดิน (Plante *et al.*, 2006) ในทำนองเดียวกันทำให้ทราบปริมาณ LOC และสัดส่วน non-LOC:SOC ของเม็ดดิน โดยที่ปริมาณ LOC ลดลงแต่สัดส่วน non-LOC:SOC เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามดินร่วนมี SOC, LOC และสัดส่วน non-LOC:SOC มากกว่าของดินร่วนปนทราย เนื่องจากดินร่วนมีปริมาณอนุภาคดินเหนียว (14.18 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าในดินร่วนปนทราย (1.26 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งทำหน้าที่เป็นสะพานเชื่อม SOC, LOC และ non-LOC กับผิวของอนุภาคดินเหนียวได้เป็นอย่างดีแสดงให้เห็นว่าการไม่บดและการบดเม็ดดินของดินร่วนและดินร่วนปนทรายทำให้ได้ปริมาณ SOC, LOC และ non-LOC ต่างกัน

ศักยภาพการผลิตก๊าซ CH_4 มีสหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณ SOC, LOC และสัดส่วน non-LOC:SOC ในเม็ดดิน (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ขนาดของเม็ดดินมีอิทธิพลต่อการเกิด CH_4 โดยที่ในเม็ดดินขนาดใหญ่ (>0.25 มม.) จะเกิดการผลิตก๊าซ CH_4 ได้มากกว่าในเม็ดดินขนาดเล็ก (<0.25 มม.) เนื่องจากในเม็ดดินขนาดใหญ่มีปริมาณ LOC มากกว่าทำให้จุลินทรีย์กลุ่มเมทาโนเจน (methanogens) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ผลิตก๊าซ CH_4 (Mangalassery *et al.*, 2013) ใช้เป็นแหล่งอาหารเพื่อสร้างมวลชีวภาพ ในทางตรงกันข้ามในเม็ดดินขนาดเล็กจะให้ศักยภาพการผลิตก๊าซ CH_4 ได้น้อยเนื่องจากมี LOC ปริมาณต่ำและมีสัดส่วน non-LOC:SOC ภายในเม็ดดินสูง

สรุป

อินทรีย์คาร์บอนในดิน (SOC) ที่ก่อให้เกิดก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในดินนา (ในเม็ดดินที่ไม่บด) ของดินร่วนและดินร่วนปนทรายคือสารอินทรีย์คาร์บอนที่ย่อยสลายง่าย (LOC) สาร LOC เป็นแหล่งอินทรีย์คาร์บอนหลักที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซ CH_4 และ CO_2 ในดินมากกว่าสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายยาก (non-LOC) ซึ่งสารอินทรีย์คาร์บอนเหล่านี้มีอยู่ตามบริเวณผิวของเม็ดดิน ถูกกักเก็บอยู่ระหว่างอนุภาคดินภายในเม็ดดิน และยังมีส่วนที่ถูกกัก

เก็บอยู่ภายในช่องว่างระหว่างเม็ดดิน โดยที่ดินร่วนมีสัดส่วน non-LOC:SOC มากกว่าของดินร่วนปนทราย ในดินร่วนจะมีการผลิตก๊าซ CH_4 มากกว่าที่เม็ดดินขนาด 2-1 มม. ตามด้วย 1-0.25 มม. และ 4-2 มม. ส่วนในดินร่วนปนทรายมีการผลิตก๊าซ CH_4 มากกว่าที่เม็ดดินขนาด 2-1 มม. ขณะที่การผลิตก๊าซ CO_2 ในดินร่วนผลิตมากที่สุดที่เม็ดดินขนาด 2-1 มม. ส่วนในดินร่วนปนทรายผลิตก๊าซ CO_2 มากที่สุดที่เม็ดดินขนาด 2-1 มม.ตามด้วย <0.053 มม. และ 1-0.25 มม.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนทั่วไปจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น และทุนส่งเสริมการทํานานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะวิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

- ชาญยุทธ รัตนพรหมมณี กิวิพร จินะจันตา และ อรรถวรรณ นัตรสีรุ่ง. 2560. ผลของลิโชนาร์ไคท์ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและผลผลิตข้าว. วารสารเกษตร 33(2): 215-224.
- พัชรี แสนจันทร์ นิภา ธรรมโสม Chhin Phy และ ดวงสมร ตูลาพิทักษ์. 2558. การใช้ถ่านชีวภาพยูคา ลิปดัสและฟางข้าวเพื่อการผลิตข้าวและลดคาร์บอนฟุตพริ้นท์อย่างเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม. เกษตร 43(ฉบับพิเศษ 1): 373-379.
- Ali, M.A., P.J. Kim and K. Inubushi. 2015. Mitigating yield-scaled greenhouse gas emissions through combined application of soil amendments: A comparative study between temperate and subtropical rice paddy soils. Science of the Total Environment 529: 140-148.
- Baver, L.D., W.H. Gardner and W.R. Gardner. 1972. Soil Physics. 4th ed. John Wiley and Sons, New York.

- Demirel, B. and P. Scherer. 2008. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 7(2): 173-190.
- Fernandez, R., A. Quiroga, C. Zorati and E. Noellemeyer. 2010. Carbon contents and respiration rates of aggregate size fractions under no-till and conventional tillage. *Soil and Tillage Research* 109: 103-109.
- Helgason, B.L., F.L. Walley and J.J. Germida. 2010. No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates. *Applied Soil Ecology* 46: 390-397.
- Hobley, E. U., J. Baldock and B. Wilson. 2016. Environmental and human influences on organic carbon fractions down the soil profile. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 223: 152-166.
- Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007. IPCC Fourth Assessment Report: Climate Change 2007 (Online). Available: https://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/wg1/en/tssts-2-1-1.html (June 1, 2016).
- Mangalassery, S., S. Sjogersten, D.L. Sparkes, C. J. Sturrock and S.J. Mooney. 2013. The effect of soil aggregate size on pore structure and its consequence on emission of greenhouse gases. *Soil and Tillage Research* 132: 39-46.
- Mc Lean, E.O. 1982. Soil pH and lime requirement. pp. 199-224. *In*: A. L. Page (ed.). *Methods of Soil Analysis, Part II. Chemical and Microbiological Properties*. Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Moody, P.W. and P.T. Cong. 2008. Soil Constraints and Management Package (SCAMP): Guidelines for Sustainable Management of Tropical Upland Soil. ACIAR Monograph No. 130. Australian Center for International Agricultural Research, Canberra.
- Plante, A.F., R.T. Conant, C.E. Stewart, K. Paustian and J. Six. 2006. Impact of soil texture on the distribution of soil organic matter in physical and chemical fractions. *Soil Science Society of America Journal* 70: 287-296.
- Puttaso, A., P. Vityakon, F. Rasche, P. Saenjan, V. Treloges and G. Cadisch. 2013. Does organic residue quality influence carbon retention in a tropical sandy soil? *Soil Science Society of America Journal* 77: 1001-1011.
- Ro, S., P. Saenjan, T. Tulaphitak and K. Inubushi. 2011. Sulfate content influencing methane production and emission from incubated soil and rice-planted soil in northeast Thailand. *Soil Science and Plant Nutrition* 57: 833-842.
- Saenjan, P., S. Ro and P. Vityakon. 2015. Methane fluxes and rice yields as a function of sulfate fertilizer with incorporated rice stubble. *KKU Research Journal* 20(3): 337-345.
- Smith, P., D. Martino, Z. Cai, D. Gwary, H. Janzen, P. Kumar, B. McCarl, S. Ogle, F. O'Mara, C. Rice, B. Scholes, O. Sirotenko, M. Howden, T. McAllister, G. Pan, V. Romanenkov, U. Schneider, S. Towprayoon, M. Wattenbach and J. Smith. 2008. Greenhouse gas mitigation in agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B. Biological Sciences* 363: 789-813.

- Tisdall, J.M. and J.M. Oades. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science* 33: 141-163.
- Walkley, A. and I. A. Black. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.
- Yang, X., J. Meng, Y. Lan, W. Chen, T. Yang, J. Yuan, S. Liu and J. Han. 2017. Effects of maize stover and its biochar on soil CO₂ emissions and labile organic carbon fractions in Northeast China. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 240: 24-31.
- Zheng, J., X. Zhang, L. Li, P. Zhang and G. Pan. 2007. Effect of long-term fertilization on C mineralization and production of CH₄ and CO₂ under anaerobic incubation from bulk samples and particle size fractions of a typical paddy soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 120: 129-138.
-

สมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื้อปูนในประเทศไทย

Fertility Capability of Calcareous Soils in Thailand

ภาณุวัชร อูปถัมภานนท์ ณ์ัฐพล จิตมัตย์* และ ทิมทอง ดรุณสนธยา

Panuwat Auppathumpanont, Natthapol Chittamart* and Timtong Darunsontaya

ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

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

*Corresponding author: Email: fagrnp@ku.ac.th

(Received: 27 November 2017; Accepted: 3 May 2018)

Abstract: Calcareous soil is an important soil resource for the production of cash crops in Thailand. Soil fertility capability classification system can indicate fertility status and important limitations of the soil to provide guidance for proper soil management. This study aims to analyze the soil properties and to classify the fertility capability of 5 representative calcareous soils in Lop Buri and Nakhon Sawan provinces. The study consists of describing morphology, soil physicochemical analyses based on standard methods, soil fertility evaluation, and classifying fertility capability of soils. The results showed that most of soils are clayey soil, alkaline, and having high cation exchangeable capacity, but low levels of available phosphorus and potassium, extractable zinc, and copper which were major fertility limitations of these soils. The evaluation of fertility levels of soils found that studied calcareous soils have a medium to high fertility level. Results of soil fertility capability classification revealed that calcareous soils have significant limitations e.g. highly swelling clay minerals (v), alkaline reaction (b), and low potassium reserve (k). Such alkaline reaction makes phosphorus and micronutrients especially zinc less soluble and unavailable to plant which is first priority for fertility management of Thai calcareous soils.

Keywords: Soil chemical limitation, soil fertility evaluation, fertility capability, calcareous soils

บทคัดย่อ: ดินเนื้อปูนเป็นทรัพยากรดินที่สำคัญสำหรับการผลิตพืชเศรษฐกิจในประเทศไทย ระบบการจำแนกสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื้อปูนสามารถบ่งชี้ถึงสถานะความอุดมสมบูรณ์ และข้อจำกัดที่สำคัญของดิน เพื่อการจัดการดินได้อย่างเหมาะสม การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์สมบัติของดินและจำแนกสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื้อปูนตัวแทน จำนวน 5 บริเวณ ในจังหวัดลพบุรี และ นครสวรรค์ การศึกษาประกอบด้วย การทำคำอธิบายพื้นฐานวิทยาของดิน และการวิเคราะห์ตัวอย่างดินทางฟิสิกส์-เคมี ตามวิธีมาตรฐาน และประเมินความอุดมสมบูรณ์ของดิน และจำแนกสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดิน ผลการศึกษา พบว่า ดินส่วนใหญ่มีเนื้อดินเป็นดินเหนียว มีพีเอชเป็นด่างจัด และมีสมบัติด้านการแลกเปลี่ยนประจุสูง แต่มีสถานภาพด้านธาตุอาหาร คือ ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ต่ำ ธาตุสังกะสีและธาตุทองแดงอยู่ในระดับที่ต่ำซึ่งเป็นข้อจำกัดหลักด้านความอุดมสมบูรณ์ของดินเหล่านี้ ผลการประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ แสดงให้เห็นว่า ดินเนื้อปูนมีระดับความอุดมสมบูรณ์ปานกลางถึงสูง และจากชั้นสมรรถนะของดิน พบว่า ดินมีข้อจำกัดที่สำคัญคือ ดินมีแร่ดินเหนียวที่ยึดติดตัวสูง (v) ดินเป็นด่างจัด (b) และมีธาตุโพแทสเซียมสำรองต่ำ (k) และดินเป็นด่างจัดทำให้ฟอสฟอรัสและธาตุอาหารเสริม โดยเฉพาะธาตุสังกะสีละลายได้น้อยและไม่เป็นประโยชน์สำหรับพืช ซึ่งเป็นข้อจำกัดที่สำคัญอันดับแรกในการจัดการดินเนื้อปูนของประเทศไทย

คำสำคัญ: ข้อจำกัดทางเคมีของดิน การประเมินความอุดมสมบูรณ์ของดิน สมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ ดินเนื้อปูน

คำนำ

ดินเนื้อปูนซึ่งเป็นดินที่มีการสะสมเกลือคาร์บอเนตอยู่ในปริมาณสูงทำให้ดินมีค่าพีเอชสูงทำให้การละลายได้ของธาตุอาหารพืชลดลง และดินส่วนใหญ่มีวัตถุต้นกำเนิดที่แตกต่างกัน เช่น หินปูน หินบะซอลต์ หินแอนดีไซต์ และตะกอนน้ำพาที่เป็นต่าง ดินเนื้อปูนในประเทศไทย มีเนื้อที่ประมาณ 800,000 ไร่ พบมากในเขตภาคกลางและเทือกเขาสูงตอนกลางของประเทศโดยกระจายอยู่มากในจังหวัด สระบุรี ลพบุรี และนครสวรรค์ โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีน้ำฝนน้อยและอากาศแห้งยาวนาน (เอิบ, 2533) โดยดินเนื้อปูนกระจายอยู่ทั่วโลกประมาณ 1,000 ล้านเฮกตาร์ โดยกระจายอยู่มากในเขตแห้งแล้งและกึ่งแห้งแล้ง (IUSS Working Group WRB, 2015) ดินเนื้อปูนในประเทศไทยส่วนใหญ่ใช้เพื่อปลูกพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ อาทิ ข้าวโพด อ้อย และพืชวงศ์ถั่วต่าง ๆ อย่างต่อเนื่อง และพืชมักแสดงอาการขาดฟอสฟอรัสและจุลธาตุอาหาร เช่น ธาตุสังกะสี (จรรยาลักษณ์, 2559; Takrattanasaran *et al.*, 2013; Chittamart *et al.*, 2016) เนื่องจากมีปริมาณที่เป็นประโยชน์ของธาตุเหล่านี้ต่ำ การประเมินสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดิน (fertility capability soil classification: FCC) (Sanchez *et al.*, 2003) เป็นระบบที่ประเมินสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ที่เป็น

ข้อจำกัดในการใช้ที่ดินเพื่อการปลูกพืช ในประเทศไทยได้มีการนำระบบการจำแนกชั้นสมรรถนะดินมาประเมินศักยภาพของดินอย่างแพร่หลาย (ลาวรรณ์ และคณะ, 2556; สุภัทรา และคณะ, 2558; พชรเพ็ญ และคณะ, 2558; มลิสสา และคณะ, 2559) และประยุกต์เพื่อประเมินข้อจำกัดและเสนอแนะแนวทางการจัดการดินเพื่อการปลูกพืชพืชเศรษฐกิจ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานข้อมูลด้านสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื้อปูนในประเทศไทย ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญในการใช้เป็นแนวทางการจัดการข้อจำกัดของดิน ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติทางฟิสิกส์ เคมี สัณฐานวิทยาและแร่วิทยาของดินเนื้อปูนที่ใช้ทางการเกษตรของประเทศไทย และเพื่อประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์และจัดชั้นสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื้อปูน พร้อมทั้งเสนอแนะแนวทางการจัดการดินตามชั้นสมรรถนะของดิน เพื่อลดข้อจำกัดทางธรรมชาติของดินให้ผลิตพืชได้อย่างยั่งยืนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกดินเนื้อปูน จำนวน 5 พีดอน (pedon) ที่ใช้ทางการเกษตร (ภาพที่ 1) และมีพื้นที่กระจายอยู่เป็นบริเวณกว้างสามารถใช้เป็นตัวแทนในการอธิบาย

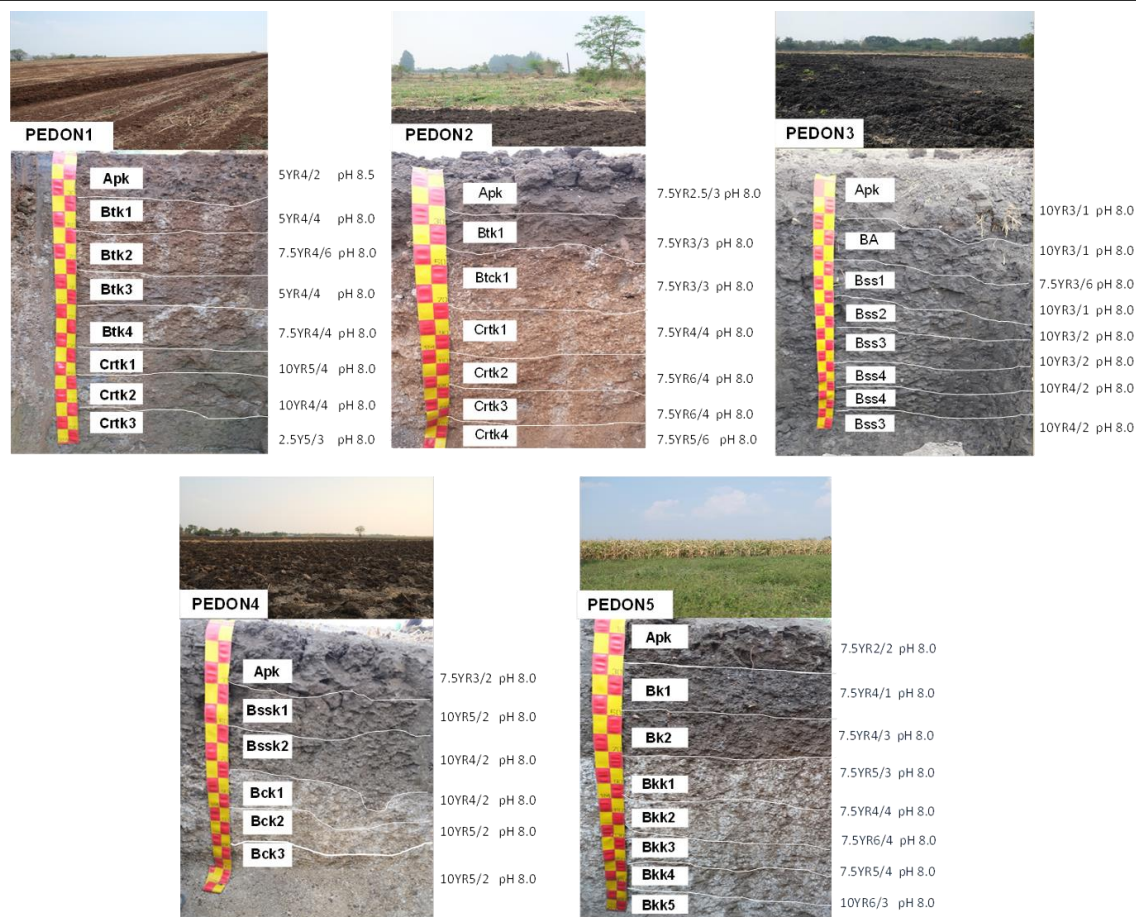


Figure 1. Profiles and field morphology of Thai calcareous soils

ลักษณะของดินเนื้อปูนได้ และศึกษาสัณฐานวิทยาสนามของดิน โดยการขุดหน้าตัดดิน กว้าง 1.5 เมตร ยาว 2 เมตร ลึก 2 เมตร แล้วทำคำอธิบายหน้าตัดดิน และเก็บตัวอย่างดินตามชั้นกำเนิดดินเพื่อใช้ในหองปฏิบัติการ โดยตัวอย่างดินที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบเป็นตัวอย่างดินที่ถูกรบกวน และไม่ถูกรบกวน ตัวอย่างดินที่ถูกรบกวนที่ได้ นำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่มบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติดินทางฟิสิกส์และเคมี ตามวิธีมาตรฐาน (National Soil Survey Center, 1996) ประกอบด้วย การแจกกระจายอนุภาคดิน (sand, silt, clay) ความหนาแน่นรวม (BD) โดยวิธี core method และสัมประสิทธิ์การนำน้ำของดินขณะอิ่มตัว (Ksat) โดยวิธี variable head สมบัติทางเคมี ประกอบด้วย พีเอชดิน อัตราส่วนดินต่อน้ำ (pH 1:1 H₂O) และสารละลาย 1 M CaCl₂ เท่ากับ 1:2 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (OM) โดยใช้ค่า

คาร์บอนอินทรีย์ (OC) คูณด้วย 1.724 ปริมาณไนโตรเจนรวม (Total N) โดยวิธี Kjeldahl method ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Avail. P) โดยการสกัดด้วยน้ำยาสกัด Olsen ซึ่งเหมาะสมสำหรับดินต่าง และโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ (Avail. K) และปริมาณเบสที่สกัดได้สกัดด้วย 1 M NH₄OAc pH 7.0 ปริมาณกรดที่สกัดได้ (EA) ด้วยวิธี barium chloride triethanolamine pH 8.2 ความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) โดยการชะแคตไอออนด้วยสารละลาย 1 M NH₄OAc pH 7.0 อัตราร้อยละความอิ่มตัวเบส (PBS) สมมูลแคลเซียมคาร์บอเนต (CCE) และความเข้มข้นของธาตุ Fe Mn Zn Cu ที่เป็นประโยชน์ โดยการสกัดด้วย 0.005 M DTPA วิเคราะห์ข้อมูล และประเมินสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ตามเกณฑ์การจัดชั้นสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์เวอร์ชัน 4.0 (Sanchez *et al.*, 2003) (ตารางที่ 1) ซึ่งการจำแนก

Table 1. Some Identifying criteria for soil fertility capability classification version 4.0

Identifying criteria		Symbol ¹
<i>Fertility capability class</i>		
Surface soil texture (Type)		S,L,C,O
Subsurface soil texture (Substrata type)		S,L,C,O,R,R'
<i>Selected Identifying criteria modifiers</i>		
1	>60% Al saturation within 50 cm	a
2	free CaCO ₃ within 50 cm (fizzing with HCl) or pH>7.3	b
3	pH<3.5 after drying : jarosite mottles with 2.5Y or yellower and chroma 6 or more	c
4	Ustic or xeric soil moisture regime ; dry>60 consecutive days/year	d
5	<4 cmol _c /kg soil as ECEC , 7 cmol _c /kg soil by sum of cations at pH 7	e
6	Aquic soil moisture regime ; mottles <2 chroma within 50 cm for surface	g
7	<10% weatherable minerals in silts and sand fraction with in 50cm, or siliceous mineralogy	k
8	>15% saturation of ECEC within 50 cm ; most Solonetz	n
9	>4 dS/m of saturated extract at 25 °C within 1 m	s
10	>35% clay and 50% of 2:1 expanding clays	v
11	Within 50 cm pH>10 (in 1M NaF)	x
12	Where desirable place range in % slope	%
13	<80% total organic C saturation in the topsoil compared with nearby undisturbed	m

¹Symbol; S = Sandy texture, L = loamy texture (<35 % clay but not loamy sand) C = clayey texture (>35% clay), O = organic soil (>12% of organic carbon), R = rock or other hard root-restricting layer, R' = as R but layer can be ripped, plowed or blasted

Source: modified from Sanchez *et al.* (2003)

สมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเป็นการรวบรวมกลุ่มดินที่สมบัติทางฟิสิกส์และเคมีที่เป็นปัญหาต่อการจัดการด้านการเกษตร โดยการจำแนกชนิดของดินบนและดินล่าง รวมทั้งข้อจำกัดต่าง ๆ ภายในระดับความลึก 50 เซนติเมตร และระดับความอุดมสมบูรณ์ของดิน (กองสำรวจดิน, 2523)

ผลการทดลองและวิจารณ์

สภาพแวดล้อมและฐานวิทยาสนามของดิน

สภาพแวดล้อมของดินที่ทำการศึกษาทั้ง 5 บริเวณแจกกระจายอยู่ในจังหวัดลพบุรี (พืดอน 1, 2 และ 4) และจังหวัดนครสวรรค์ (พืดอน 3 และ 5) โดยดินทั้ง 5 พืดอน เป็นดินลิกถึงลิกมาก ดินมีการระบายน้ำดี พัฒนาอยู่บนสภาพภูมิประเทศเป็นลูกคลื่นลอนลาด ความลาดชันร้อยละ 2 และอยู่สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง

36-108 เมตร (ตารางที่ 2) (ภาพที่ 1) โดยที่พืดอน 1 มีวัตถุต้นกำเนิดจากวัสดุตกค้างจากหินแอนดีไซต์ (residuum derived from andesite) มีพัฒนาการหน้าตัดดินเป็น Apk-Btk1-Btk2-Btk3-Btk4-Crtk1-Crtk2-Crtk3 พืดอน 2 มีวัตถุต้นกำเนิดจากตะกอนดาตเชิงเขาที่สลายตัวจาก หิน บ ะ ช อ ล ต์ (colluvium derived from basalt) มีพัฒนาการหน้าตัดดินเป็น Apk-Btk1-Btk4-Crtk1-Crtk2-Crtk3-Crtk4 พืดอน 3 มีวัตถุต้นกำเนิดจาก ตะกอนน้ำพา ที่องถิ่นสลายตัวจากหินปูน (alluvium derived from limestone) มีพัฒนาการหน้าตัดดินเป็น Apk-BA-Bss1-Bss2-Bss3-Bss4-Bss5-Bss6 พืดอน 4 มีวัตถุต้นกำเนิดจาก ตะกอนน้ำพาจากหินปูน (alluvium derived from limestone) มีพัฒนาการหน้าตัดดินเป็น Apk-Bssk1-Bssk2-Bck1-Bck2-Bck3 และ พืดอน 5 มีวัตถุต้นกำเนิดจาก ตะกอนน้ำพาวางทับบนชั้นของมาร์ล (alluvium over marl) มีพัฒนาการหน้าตัดดินเป็น Apk-Bk1-Bk2-Bkk1-

Table 2. Environmental settings of Thai calcareous soil

Pedon	Depth (cm)	Drainage	Permeability	Elevation (m)	Surrounding landform	Parent material
			Runoff			
1	200+	Well drained	moderate	108	Undulating	Residuum derived from andesite
			slow	2		
2	200+	Well drained	slow	36	Undulating	Colluvium derived from basalt
			slow	2		
3	200+	Well drained	rapid	90	Undulating	Local alluvium from limestone
			slow	2		
4	150+	Well drained	rapid	43	Undulating	Local alluvium from limestone
			slow	2		
5	200+	Well drained	moderate	68	Undulating	Alluvium over marl
			moderate	2		

Bkk2-Bkk3-Bkk4-Bkk5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสนามที่สำคัญของดินพบชั้นสะสมคาร์บอนเตภายในความลึก 100 เซนติเมตร และทุกพีดอนทำปฏิกิริยากับกรดเกลือแล้วเกิดฟองฟู ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากดินพัฒนาอยู่ในพื้นที่ที่มีวัตถุดิบกำเนิดที่เป็นต่าง นอกจากพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนน้อยและไม่เพียงพอในการชะละลายปูนลงไปในพื้นที่ดินที่ลึกลงไป โดยปูนที่สะสมส่วนใหญ่เป็นปูนแคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งทำปฏิกิริยากับกรดเกลือเจือจางแล้วเกิดฟองฟูอย่างเด่นชัด และจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาสมบัติทางกายภาพ และ ทางเคมี ที่ทำการศึกษาทั้ง 5 พีดอน สามารถจำแนกตามระบบอนุกรมวิธานดิน (Soil Survey Staff, 2014) ได้ดังนี้ พีดอน 1 และ 2 จำแนกได้เป็น Calcic Argiustoll พีดอน 3 จำแนกได้เป็น Typic Haplustert พีดอน 4 จำแนกได้เป็น Calcic Haplustert และพีดอน 5 จำแนกได้เป็น Vertic Haplustoll

สมบัติทางฟิสิกส์-เคมีของดินเนื้อปูนในประเทศไทย

การแจกกระจายอนุภาคดินตามความลึกของดิน (ภาพที่ 2) พบว่า อนุภาคทรายแป้งมีความผันแปรภายในหน้าตัดดิน และมีปริมาณอนุภาคดินเหนียวลดลงตามความลึกของดิน ดินพีดอน 1, 2, 4 และ 5 มีการสะสมปูนคาร์บอเนตในชั้นดินล่างอย่างเด่นชัด และพบจับตัวกันเป็นก้อนขนาดอนุภาคทราย และปูนแทรกในเนื้อพื้นของดิน (soil matrix) ซึ่งทำให้ปริมาณดินเหนียวเหนียวลดลงในชั้นที่มีการสะสมปูน ส่วนพีดอน 3 พบมีการสะสมคาร์บอเนตในชั้นดินบน มีลักษณะเป็นดินเหนียวตลอด

หน้าตัดดินโดยอนุภาคดินเหนียวมีปริมาณสม่ำเสมอและเพิ่มสูงในดินล่าง แม้ว่าดินพีดอน 3 จะไม่พบการสะสมปูนแต่ดินมีพีเอชสูง ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่เคยใช้ทำนาข้าวซึ่งมีการขังน้ำทำให้ปูนละลายออกไปจากดิน ส่วนความหนาแน่นรวมของดินและสภาพน้ำของดินขณะอิ่มตัวพบว่า ความหนาแน่นรวมดินบนอยู่ในระดับต่ำ มีค่าพิสัยในช่วง 0.96-1.61 เมกะกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (ภาพที่ 3a) ส่วนดินล่างอยู่ในระดับต่ำ มีค่าพิสัยในช่วง 0.98-1.47 เมกะกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ดินมีสภาพน้ำขณะอิ่มตัวอยู่ในระดับต่ำมาก มีค่าพิสัยในช่วง 0.012-0.027 เซนติเมตรต่อชั่วโมง ส่วนดินล่างอยู่ในระดับต่ำมาก มีค่าพิสัยในช่วง 0.008-0.013 เซนติเมตรต่อชั่วโมง (ภาพที่ 3b) การนำน้ำของดินจะสอดคล้องกับเนื้อดินและความหนาแน่นรวมของดิน อย่างไรก็ตามดินเนื้อปูนที่ศึกษาส่วนใหญ่มีเนื้อดินเป็นดินเหนียวและแร่ดินเหนียวเป็นกลุ่มที่ยึดเหนี่ยวได้เมื่ออยู่ในสภาวะเปียกน้ำทำให้ดินมีช่องว่างขนาดเล็กเพิ่มขึ้นส่งผลให้การระบายน้ำได้ช้าลง แต่การที่ดินมีความหนาแน่นรวมต่ำเป็นผลเนื่องมาจากดินมีฟองปูนแคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งทำให้ดินมีโครงสร้างดินดีมีช่องว่างขนาดใหญ่มากขึ้นทำให้สัดส่วนมวลดินต่อปริมาตรรวมของดินลดลง นอกจากนี้ดินที่มีปูนในปริมาณมากจะทำให้มวลของดินลดลงด้วย

สมบัติทางเคมีของดินเนื้อปูน พบว่า ดินเป็นด่างเล็กน้อยถึงด่างปานกลาง พีเอชที่วัดด้วยน้ำอยู่ในพิสัย 7.3-8.4 (ภาพที่ 4a) และพีเอชที่วัดด้วยแคลเซียมคลอไรด์มีค่าเป็นกลางถึงด่างเล็กน้อย มีค่าพิสัยในช่วง 7.2-8.0

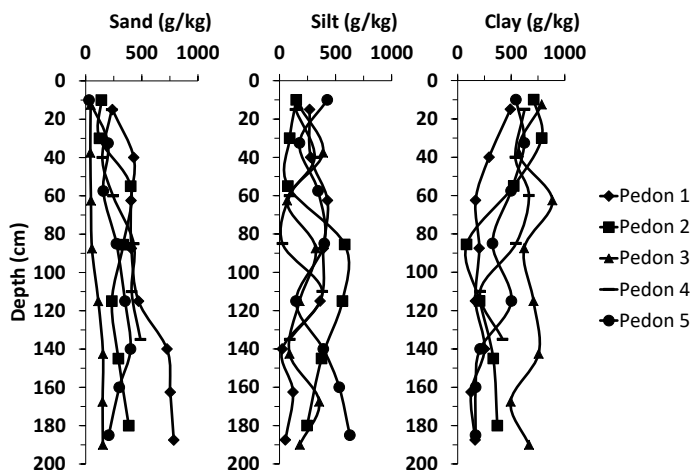


Figure 2. Particle size distributions of Thai calcareous soils

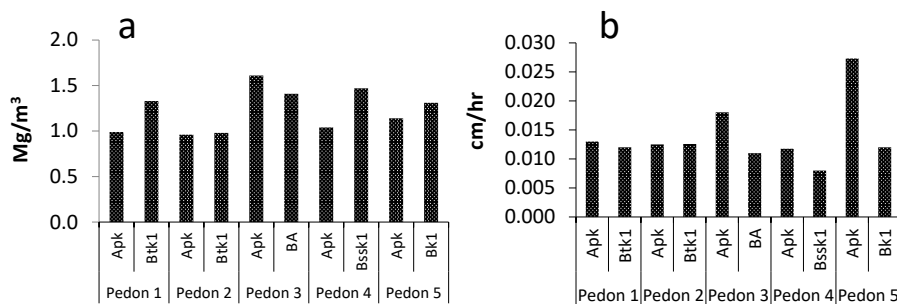


Figure 3. Bulk density (a) and saturated hydraulic conductivity (Ksat) (b) of Thai calcareous soils

และมีค่าเพิ่มขึ้นตามความลึก (ภาพที่ 4b) ค่าพีเอชที่สูงพบในชั้นดินที่เกิดอิทธิพลของปูนที่สะสมอยู่ในชั้นดินล่าง นอกจากนี้ ค่าพีเอชที่วัดด้วยน้ำมีค่ามากกว่าแคลเซียมคลอไรด์ แสดงให้เห็นว่า ดินมีค่าประจุสุทธิรวมเป็นลบ ซึ่งแสดงถึงดินมีความจุในการแลกเปลี่ยนธาตุประจุบวกสูงกว่าธาตุประจุลบ

สมบัติด้านความอุดมสมบูรณ์ของดิน พบว่า ดินมีปริมาณอินทรีย์วัตถุมีค่าต่ำมากถึงสูงปานกลาง มีค่าพิสัยในช่วง 0.01-32.43 กรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 4c) โดยที่ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินบนมีค่าสูงกว่าดินล่างและลดลงตามความลึก สอดคล้องกับปริมาณไนโตรเจนรวม ซึ่งดินมีความเข้มข้นของไนโตรเจนรวมในระดับต่ำถึงสูงมาก พิสัยในช่วง 0.60-3.05 กรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 4d) และมีค่าลดลงตามความลึก ยกเว้นดินพีคดอน 4 มีค่าไนโตรเจนสูงในชั้นดินที่ระดับความลึก 60 เซนติเมตร ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากไนโตรเจนในรูปอินทรีย์ เช่น ราก และเศษพืช ซึ่งถูกชะละลายลงไปสะสมในชั้นดินตามช่องแตกกระแหง

แสดงให้เห็นว่า อินทรีย์วัตถุซึ่งเป็นแหล่งสำคัญของไนโตรเจนในดิน

ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์โดยวิธี Olsen ในระดับต่ำมากถึงสูงมากในดินเนื้อปูนมีค่าอยู่ในพิสัย 0.02-121.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 4e) และส่วนใหญ่มีค่าสม่ำเสมอในหน้าตัดดิน ยกเว้น ชั้นดินบนของพีคดอน 3 ที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงมาก (121.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เนื่องจากในพื้นที่เก็บตัวอย่างมีการปลูกพืชและใช้ปุ๋ยเคมีอย่างต่อเนื่องทำให้ฟอสฟอรัสตกค้างในดินปริมาณสูง อย่างไรก็ตามดินเนื้อปูนส่วนใหญ่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำ มีสาเหตุจากธาตุฟอสฟอรัสจะละลายได้ดีในสภาวะที่ดินเป็นด่างจัด และอยู่ในรูปแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งเป็นรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที (Curtin and Syers, 2001; Jalali and Jalali, 2016; Zhang *et al.*, 2014) เช่นเดียวกันกับปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ อยู่ในระดับต่ำถึงสูงมาก มีค่าพิสัยในช่วง 3.8-301.5 มิลลิกรัม

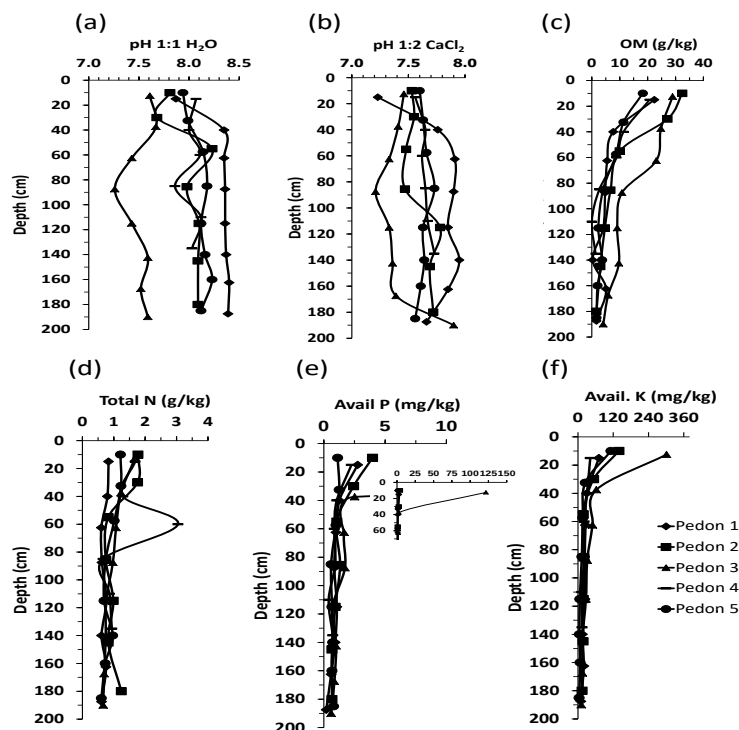


Figure 4. Nutrient statuses of Thai calcareous soils

ต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 4f) โดยมีปริมาณสูงในชั้นดินบนและ มีค่าต่ำชั้นดินล่าง และมีแนวโน้มลดลงตามความลึก ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์มีค่าสูงอยู่ในชั้นดิน บนของดินพีดอน 3 ซึ่งเป็นผลเนื่องจากโพแทสเซียมที่ หลงเหลือจากการใส่ปุ๋ยในช่วงของการปลูกพืช ซึ่งผล การศึกษาวิจัยของอนุภาคทรายแข็งไม่พบแร่ในกลุ่ม เฟลด์สปาร์และไมกาซึ่งเป็นแหล่งของโพแทสเซียมในดิน และในดินชั้นล่างที่มีการสะสมปูนซึ่งมีแคลเซียมและ แมกนีเซียม สังเกตได้จากดินมีเบสที่แลกเปลี่ยนได้สูง (sum bases) ใน ภาพที่ 5c ซึ่งธาตุทั้งสองมีวาเลนซ์สูง กว่าโพแทสเซียม และมีระดับความเข้มข้นสูงกว่า โพแทสเซียม ทำให้เกิดการไล่ที่ของโพแทสเซียมและถูกชะ ออกไปจากดินได้ ทำให้ดินมีปริมาณของโพแทสเซียมที่ แลกเปลี่ยนได้ต่ำ ซึ่ง López *et al.* (2017) รายงานว่า ดิน ที่มีค่าสัดส่วนของ Mg/K Ca/K และ (Ca+Mg)/K สูง บ่งชี้ ถึงความไม่สมดุลของธาตุต่างในดิน ทำให้ดินขาด โพแทสเซียมได้

สมบัติด้านการแลกเปลี่ยนประจุของดินเนื้อปูน พบว่า ค่าการนำไฟฟ้าของดิน อยู่ในพิสัยในช่วง 0.01-

0.55 เดซิซีเมนตต่อเมตร (ภาพที่ 5a) ซึ่งดินส่วนใหญ่มีค่า การนำไฟฟ้าต่ำกว่า 4 เดซิซีเมนตต่อเมตร ในดินทุก บริเวณและทุกชั้นดิน ความผันแปรของค่าการนำไฟฟ้า เป็นผลเนื่องจากดินมีค่าเบสรวมสูง และเบสส่วนใหญ่อยู่ ในรูปคาร์บอเนต ซึ่งเห็นได้จากดินมีค่าสมมูลย์ของ แคลเซียมคาร์บอเนตสูง (CCE) (ภาพที่ 5b และภาพที่ 5c) และมีปริมาณที่แตกต่างกันในชั้นดินโดยปริมาณมากใน ชั้นดินล่างแคลซิก (Bk) ทำให้ธาตุที่เป็นต่างโดยเฉพาะ แคลเซียมมีความเข้มข้นมากในพื้นที่ผิวที่แลกเปลี่ยนได้ ของดิน ธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียมซึ่งเป็นธาตุอเล็กโทร ไต์ที่นำไฟฟ้าได้ต่ำกว่าธาตุโซเดียมและโพแทสเซียม ทำ ให้ดินมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ แสดงให้เห็นว่า ดินเนื้อปูนที่ ศึกษาไม่ถือว่าเป็นดินที่ไม่ได้รับอิทธิพลจากเกลือและไม่ เป็นดินเค็ม ด้านความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออน หรือ CEC พบว่า ดินเนื้อปูนมีค่า CEC อยู่ในระดับปานกลาง ถึงสูงมาก มีค่าพิสัยในช่วง 11.2-60.8 เซนติโมลต่อ กิโลกรัม (ภาพที่ 5d) โดยค่า CEC มีค่าสูงในชั้นดินบน และลดลงในชั้นดินล่าง เนื่องจากดินบนมีปริมาณของดิน เหนียวสูงกว่าดินล่าง และดินล่างมีปริมาณของปูน

แคลเซียมคาร์บอเนตสูงทำให้ ดินมีความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนต่ำลง

สถานะภาพของธาตุอาหารเสริมที่เป็นประโยชน์ตามความลึกในดินเนื้อปูน (ภาพที่ 6) พบว่า ความเข้มข้นของธาตุหลักที่สกัดด้วย DTPA มีค่าอยู่ในพิสัยของดินบนเท่ากับ 3.97-14.79 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และดินล่างเท่ากับ 1.29-9.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 6a) ธาตุแมงกานีส มีค่าอยู่ในพิสัยของดินบนเท่ากับ 18.03-31.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และดินล่างเท่ากับ 4.31-48.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 6b) ส่วนความเข้มข้นของธาตุสังกะสีมีค่าอยู่ในพิสัยของดินบนเท่ากับ 0.07-2.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และดินล่างเท่ากับ 0.11-0.73 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 6c) ส่วนการแจกกระจาย

ของธาตุทองแดง มีค่าอยู่ในพิสัยของดินบน เท่ากับ 0.87-3.94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และดินล่างเท่ากับ 0.13-3.36 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 6d) โดยทุกธาตุอาหารเสริมมีค่าความเข้มข้นสูงในชั้นดินบนและมีค่าต่ำในชั้นดินล่าง ซึ่งเป็นชั้นที่มีการสะสมปูนแคลเซียมคาร์บอเนต แสดงให้เห็นว่า ในชั้นดินที่มีการสะสมปูนแคลเซียมคาร์บอเนต ทำให้จุลธาตุอาหารละลายได้น้อย และตกตะกอนร่วมกับสารประกอบคาร์บอเนตและสารประกอบออกไซด์ในดิน (Al Jaloud *et al.*, 2013) เมื่อพิจารณาเทียบกับระดับค่าวิกฤตของธาตุทั้ง 4 พบว่า ดินเนื้อปูนมีความเข้มข้นของธาตุหลัก แมงกานีส และทองแดง โดยเฉพาะในดินบนมีค่าสูงกว่าค่าวิกฤต โดยค่าวิกฤตของธาตุหลัก < 4.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าวิกฤตของธาตุแมงกานีส

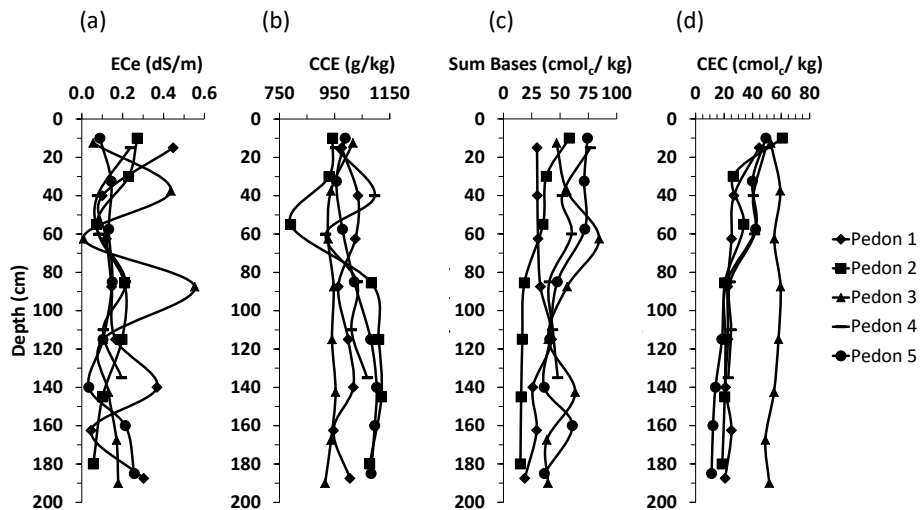


Figure 5. Exchange properties of Thai calcareous soils

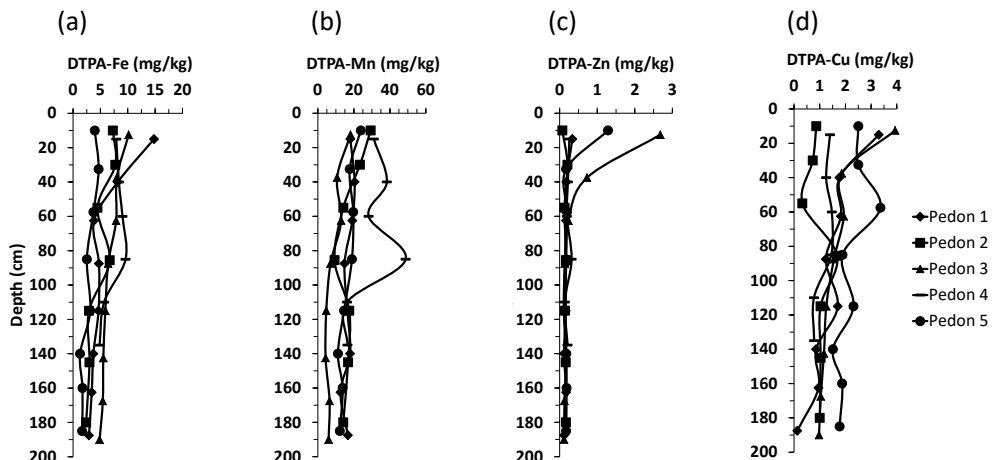


Figure 6. Micronutrients status of Thai calcareous soils

< 3.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าวิกฤตของธาตุทองแดง < 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (Sharma *et al.*, 2006) ส่วนธาตุสังกะสี พบว่า ดินเนื้อปูนส่วนใหญ่มีความเข้มข้นของธาตุสังกะสีต่ำกว่าค่าวิกฤต (<1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ยกเว้นดินบนของดินพืดอน 5 และ 3 ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าวิกฤตเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่า ดินเนื้อปูนมีโอกาสขาดธาตุสังกะสีมากกว่าจุลธาตุอาหารอื่น ๆ ซึ่งจากการศึกษาของจรรยาลักษณ์ (2559) พบว่า ความเป็นประโยชน์ของธาตุสังกะสี ทองแดงและเหล็ก สัมพันธ์กับรูปที่ทำพันธะกับอินทรีย์วัตถุซึ่งเป็นรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช อย่างมีนัยสำคัญ และแนะนำให้เพิ่มอินทรีย์วัตถุร่วมกับปุ๋ยจุลธาตุในดิน เพื่อส่งเสริมการละลายได้ และเพิ่มความเป็นประโยชน์ของจุลธาตุ โดยเฉพาะธาตุสังกะสี ทองแดง และเหล็ก สำหรับพืชที่ปลูกในดินเนื้อปูนได้นอกจากนี้ธาตุสังกะสีเป็นธาตุที่ควรพิจารณาในการจัดการเป็นอันดับแรกเนื่องจากมีปริมาณสำรองในดินต่ำและอยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Chittamart *et al.*, 2016)

แร่องค์ประกอบในอนุภาคขนาดดินเหนียวและทรายแป้งของดินเนื้อปูน

องค์ประกอบของแร่ในอนุภาคขนาดดินเหนียวและอนุภาคขนาดทรายแป้งในชั้นดินตัวแทน (ตารางที่ 3) ด้วยวิธีการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ พบว่า ในอนุภาคขนาดดินเหนียว ดินทุกพืดอนมีแร่ดินเหนียวสเมกไทต์เป็นแร่เด่น (> 60เปอร์เซ็นต์) มีแร่ควอตซ์ปนปริมาณเล็กน้อย (<5 เปอร์เซ็นต์) โดยแร่ควอตซ์ที่พบน่าจะอยู่ในส่วนอนุภาคทรายแป้งละเอียดที่ปนอยู่กับแร่ดินเหนียวซึ่งไม่สามารถแยกออกจากกันได้ด้วยวิธีการ

ตกตะกอน ส่วนองค์ประกอบแร่ในอนุภาคทรายแป้ง ดินเนื้อปูนทุกพืดอนมีปริมาณแร่แคลไซต์เป็นแร่เด่นในดินพืดอน 1 2 4 และ 5 โดยพบแร่ควอตซ์ปนอยู่ด้วย ยกเว้นดินพืดอน 3 ซึ่งมีแร่ควอตซ์เป็นแร่เด่น โดยไม่พบแร่แคลไซต์ แร่แคลไซต์ที่พบส่วนใหญ่พบในชั้นดินที่มีการสะสมปูน (Bk) และแสดงให้เห็นว่า ปูนที่สะสมในดินนั้นเป็นแร่แคลไซต์ (CaCO₃) จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเชิงแร่ของดิน แสดงให้เห็นว่า ดินเนื้อปูนที่ศึกษามีพัฒนาการปานกลาง และดินมีปริมาณเบสสูง เป็นสภาพแวดล้อมที่ส่งเสริมการเกิดแร่ดินเหนียวสเมกไทต์ และการสะสมปูนในหน้าตัดดินนั้นเกิดจากดินมีวัตถุต้นกำเนิดที่มีแคลเซียมสูงประกอบกับดินพัฒนาอยู่ในบริเวณน้ำฝนน้อย และมีสภาพอากาศแห้งแล้งยาวนาน (Emadi *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, 2016)

ระดับความอุดมสมบูรณ์และชั้นสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื้อปูน

จากการประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดิน (ตารางที่ 4) พบว่า ดินเนื้อปูนที่ทำการศึกษาทุกพืดอน มีความอุดมสมบูรณ์ระดับปานกลางทั้งดินบนและล่าง โดยพบว่า ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ อยู่ในระดับต่ำ นอกจากนี้ ชั้นดินล่างของดินเนื้อปูนที่ศึกษามีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับต่ำ ซึ่งเป็นข้อจำกัดที่สำคัญด้านความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื้อปูนที่ศึกษา แต่อย่างไรก็ตาม ดินมีความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนอยู่ในระดับสูง เนื่องจากดินมีแร่ดินเหนียวสเมกไทต์ซึ่งมีประจุลบอยู่สูงบริเวณผิวของแร่ดินเหนียว (Chittamart *et al.*, 2010) และร้อยละความอิ่มตัวเบส

Table 3. Semi-quantitative mineralogical of clay and silt fractions of Thai calcareous soil estimated by XRD

Pedon	Horizon /Depth	Clay fraction					Silt fraction	
		Kao	Ill	Smec	Vm	Qtz	Qtz	Cal
Pedon 1	Btk2/50-75	x	-	xxxx	-	tr	xx	xxx
Pedon 2	Btk1/40-70	tr	-	xxxx	-	-	x	xxxx
Pedon 3	Bss1/50-75	tr	-	xxxx	-	-	xxxx	-
Pedon 4	Bck1/70-100	-	-	xxxx	-	tr	xxx	xxxx
Pedon 5	Bk2/45-70	-	-	xxxx	-	x	xxx	xxx

Remarks: xxxx = Dominant (> 60%), xxx = Large (40-60%), xx = Moderate (20-40%), x = Small (5-20%), tr = trace (< 5%), - = non-detectable, Smec = smectite, Kao = kaolinite, Vm = vermiculite, Ill = illite, Qtz = quartz, Cal = calcite

ทุกพืดอนอยู่ในระดับปานกลางทุกพืดอน ทำให้ดินมีระดับความอุดมสมบูรณ์ในระดับปานกลาง

ผลการจำแนกชั้นสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดิน พบว่า ดินที่ทำการศึกษามีได้เป็นหน่วย FCC ดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่า ชั้นสมรรถนะของชนิดดิน (type) และ (substrata type) ของดินเนื้อปูนส่วนใหญ่เป็น C คือเนื้อดินบนและดินล่าง เป็นดินเหนียว ยกเว้นดินล่างของพืดอนที่ 1 ที่เนื้อดินล่าง เป็น L คือเป็นดินร่วน และดินมีข้อจำกัด (modifiers) ที่สำคัญ คือ ดิน

เป็นต่างจัดมีพีเอชสูงกว่า 7.3 (b) ดินทุกพืดอนมีข้อจำกัดที่สำคัญ คือ ดินมีแร่ดินเหนียวที่ยึดติดตัวสูง (v) หรือเป็นดินที่มีแร่ดินเหนียวสูงมากไทต์เป็นแร่เด่น และดินมีโพแทสเซียมสำรองต่ำ (exchangeable K <0.2 cmol_c/kg) (k) โดยเฉพาะพืดอน 1 และ 4 นอกจากนี้ดินเนื้อปูนที่มีปริมาณแคลเซียมในดินสูงทำให้เกิดความไม่สมดุลของธาตุโพแทสเซียมและลดความเป็นประโยชน์ของธาตุโพแทสเซียมในดินเหล่านี้ได้ และจากการที่ดินมีข้อจำกัดที่ดินเป็นต่างจัด ทำให้ดินมีฟอสฟอรัสที่เป็น

Table 4. Fertility level of Thai calcareous soils

Soils	Horizons (cm)	OM ¹ (g/kg)	Avail. P ² (mg/kg)	Avail. K ³ (mg/kg)	CEC ⁴ (cmol _c /kg)	PBS ⁵ (%)	Total score	Fertility level
Pedon 1	Topsoil ^{6/}	22.43 (2)	2.76 (1)	71.06 (2)	44.6 (3)	42.27 (2)	10	medium
	Subsoil ^{7/}	7.7 (1)	0.9 (1)	30.1 (1)	22.9 (3)	43.17 (2)	8	medium
Pedon 2	Topsoil	32.43 (2)	3.98 (1)	139.4 (3)	60.8 (3)	55.06 (2)	11	medium
	Subsoil	18.56 (2)	1.97 (1)	35.61 (1)	30.1 (3)	67.51 (2)	9	medium
Pedon 3	Topsoil	28.96 (2)	121.54 (3)	301.5 (3)	52.6 (3)	50.78 (2)	13	high
	Subsoil	24.77 (2)	2.52 (1)	62.2 (2)	59.4 (3)	54.14 (2)	10	medium
Pedon 4	Topsoil	20.69 (2)	2.25 (1)	41.8 (1)	49.3 (3)	65.47 (2)	9	medium
	Subsoil	11.38 (1)	1.06 (1)	30.8 (1)	40.4 (3)	56.78 (2)	8	medium
Pedon 5	Topsoil	18.27 (2)	1.13 (1)	112.4 (3)	49.3 (3)	62.00 (2)	11	medium
	Subsoil	11.04 (1)	1.21 (1)	20.75 (1)	40.95 (3)	62.01 (2)	8	medium

¹OM = organic matter, ²Avail P = available phosphorus by Olsen extractant, ³Avail K = available potassium, ⁴CEC = cation exchange capacity,

⁵PBS = base saturation percentage, ⁶Topsoil = Ap, ⁷Subsoil = base of Ap or from 20 to 60 cm. Scoring is used for the assessment of fertility level (the score is presented in blanket within the table) where score ≤ 7 = fertility level is low, 8-12 = fertility level is medium, ≥ 13 fertility level is high

Table 5. Fertility capability classification of calcareous soils in this study

Pedon	Horizon ¹ (cm)	Texture	2:1 expanding clay	pH 1:1 H ₂ O	K reserve ² (cmol _c /kg)	FCC unit ³
Pedon 1	Topsoil	Clay	>50%	7.9	0.18	CLvbk
	Subsoil	Clay loam	>50%	8.4	0.08	
Pedon 2	Topsoil	Clay	>50%	7.8	0.36	Cvb
	Subsoil	Clay	>50%	7.8	0.10	
Pedon 3	Topsoil	Clay	>50%	7.6	0.77	Cvb
	Subsoil	Clay	>50%	7.7	0.16	
Pedon 4	Topsoil	Clay	>50%	8.0	0.11	Cvbk
	Subsoil	Clay	>50%	8.0	0.08	
Pedon 5	Topsoil	Silty Clay	>50%	7.9	0.29	Cvb
	Subsoil	Clay	>50%	8.1	0.05	

¹Topsoil = Ap or 0-20 cm, Subsoil = horizon under Ap or 20-50/60 cm depth interval,

²K reserve = exchangeable K were determined by ammonium acetate extraction (1 M NH₄OAc) at pH 7.0,

³FCC unit= fertility capability classification unit, C = Clayey, L = Loamy, b = free CaCO₃ within 50 cm (fizzing with HCl) or pH >7.3, v = >35% clay and 50% of 2:1 expanding clays, k = exchangeable K < 0.20 cmol_c/kg

ประโยชน์และธาตุอาหารเสริม จำพวกธาตุสังกะสีและธาตุทองแดงต่ำ สอดคล้องกับผลวิเคราะห์ทางเคมีของดินที่ดินมีความเป็นด่างจัด ทำให้ธาตุเหล่านี้ละลายได้น้อยลงสอดคล้องกับการศึกษาธรณีเคมีและการดูดซับของธาตุสังกะสีในดินเนือปนของประเทศไทย ของ Chittamart *et al.* (2016) ซึ่งรายงานไว้ว่า พีเอชมีผลต่อรูปทางเคมีของธาตุสังกะสีในสภาวะสมดุล และสามารถตกตะกอนเป็นรูปที่ละลายได้ยาก ทำให้พืชที่ปลูกในดินเนือปนขาดธาตุสังกะสี ฉะนั้นแนวทางการจัดการดินเนือปนจึงควรเพิ่มเติมธาตุโพแทสเซียม ธาตุฟอสฟอรัสและธาตุสังกะสีเป็นอันดับแรก ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีชีวมวลสูง (ภณกฤต และคณะ, 2560; ชาญยุทธ และคณะ, 2560) ซึ่งเป็นรูปที่สามารถปลดปล่อยธาตุเหล่านี้ออกให้พืชใช้ได้

สรุป

ดินเนือปนที่ทำการศึกษาคือดินลิกไนต์ลิกมาก ดินมีการระบายน้ำดี พัฒนาจากวัตถุดิบกำเนิดที่เป็นวัสดุตกค้างจากหินแอนดีไซต์ บะซอลต์ ตะกอนน้ำพาของหินปูน และมาร์ล ดินส่วนใหญ่มีเนื้อดินเป็นดินเหนียว มีพีเอชเป็นด่างจัด และมีสมบัติด้านการแลกเปลี่ยนประจุและเบสสูง เป็นผลจากดินมีแร่ดินเหนียวสเมกไทต์เป็นแร่เด่น แต่มีธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ต่ำ รวมถึงธาตุสังกะสีและธาตุทองแดงที่อยู่ในระดับที่ต่ำกว่าค่าวิกฤต ดินเนือปนมีระดับความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง โดยดินมีข้อจำกัดที่สำคัญคือ ดินเป็นด่างจัด (b) ซึ่งทำให้ฟอสฟอรัสและธาตุอาหารเสริมไม่เป็นประโยชน์ต่ำ และดินมีธาตุโพแทสเซียมสำรองต่ำ (k) ดังนั้นการจัดการด้านความอุดมสมบูรณ์และเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารเสริมจะทำให้ดินเนือปนมีสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์สูง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(สวพ. มก.) รหัสโครงการ (ก-ช(ด)22.58) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

เอกสารอ้างอิง

- กองสำรวจดิน. 2523. คู่มือจำแนกความเหมาะสมของที่ดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการเล่มที่ 28. กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ. 76 หน้า.
- จรรยาภรณ์ อื่นคำ. 2559. ธรณีเคมีและลักษณะการดูดซับธาตุสังกะสี ทองแดง เหล็ก และแมงกานีสในดินเนือปนของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 117 หน้า.
- ชาญยุทธ รัตนพรหมมณี กวิพร จินะจันตา และ อรพรรณ ฉัตรสิริรุ่ง. 2560. ผลของลีโอนาร์ไดต์ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและผลผลิตข้าว. วารสารเกษตร 33(2): 215-224.
- พรพัญญู โมระกรานต์ ณ์ัฐพล จิตมาตย์ และ เสาวนุช ถาวรพฤษ. 2558. สมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเวอร์ทิกซอลส์ที่ดอนในประเทศไทย. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2(4): 61-72.
- ภณกฤต อุ่นพิพัฒน์ ณ์ัฐพล จิตมาตย์ และ เสาวนุช ถาวรพฤษ. 2560. การเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุสังกะสีด้วยซิงค์ชีวเมทที่เตรียมจากพืชสำหรับข้าวโพดหวานที่ปลูกในดินเนือปน. เกษตร 46(ฉบับพิเศษ 1): 301-307.
- มลิสา ยกถาวร เสาวนุช ถาวรพฤษ และ ณ์ัฐพล จิตมาตย์. 2559. การจำแนกสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์ของดินเพื่อการใช้ประโยชน์ทางการเกษตรบนพื้นที่ลาดเขา: กรณีศึกษาบริเวณอำเภอเขียงม่วน จังหวัดพะเยา. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 3(1): 30-40.
- ลาวรรณ์ พร้อมสุข เสาวนุช ถาวรพฤษ และ เอิบ เขียวรัตน์. 2556. การประเมินคุณภาพดินเพื่อใช้ทางการเกษตรในพื้นที่ลุ่มน้ำป่าสักส่วนที่ 2 จังหวัดเพชรบูรณ์. เกษตร 41(ฉบับพิเศษ): 137-146.

- สุภัทรา หลวงทะ ญัฐพล จิตมัตย์ และ เสาวนุช ถาวร
พฤกษ์. 2558. การประเมินศักยภาพทาง
การเกษตรของดินเวอร์ทิกซอลส์ที่ปลูกข้าวของ
ประเทศไทย. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์
2(4): 40-51.
- เลียบ เขียววันมณ. 2533. ดินของประเทศไทย: ลักษณะ
การแจกกระจาย และการใช้. ภาควิชา
ปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 649 หน้า.
- Al Jaloud, A.A., M.A. Al Rabhi and I.I. Bashour.
2013. Availability and fractionation of trace
elements in arid calcareous soils. Emirates
Journal of Food and Agriculture 25(9): 702-712.
- Chittamart, N., A. Suddhiprakarn, I. Kheoruenromne
and R.J. Gilkes. 2010. Layer-charge
characteristics of smectite in Thai Vertisols.
Clays and Clay Minerals 58: 247-262.
- Chittamart, N., J. Inkam, D. Ketrot and T.
Darunsontaya. 2016. Geochemical
fractionation and adsorption characteristics
of zinc in Thai major calcareous soils.
Communications in Soil Science and Plant
Analysis 47(20): 2348-2363.
- Curtin, D. and J.K. Syers. 2001. Lime-induced
changes in indices of soil phosphate
availability. Soil Science Society of America
Journal 65(1): 147-152.
- Emadi, M., M. Baghernejad, H. Memarian, M. Saffari
and H. Fathi. 2008. Genesis and clay
mineralogical investigation of highly
calcareous soils in semi-arid regions of
Southern Iran. Journal of Applied Sciences
8(2): 288-294.
- Ferreira, E.P., L.H.C. dos Anjos, M.G. Pereira, G.S.
Valladares, R. Cipriano-Silva and A.C. de
Azevedo. 2016. Genesis and classification
of soils containing carbonate on the Apodi
Plateau, Brazil. Revista Brasileira de Ciência
do Solo 40 (e0150036): 1-20.
- IUSS Working Group WRB. 2015. World Reference
Base for Soil Resources 2014, update 2015
International soil classification system for
naming soils and creating legends for soil
maps. World Soil Resources Reports No.
106. FAO, Rome. 192 p.
- Jalali, M. and M. Jalali. 2016. Minerals control
phosphorus solubility in long-term-cultivated
calcareous soils. Soil Research 50(2):182-
190.
- López Martinez, C.J., A. Echeverri and J.C. Menjivar
Flores. 2017. Spatial distribution of the
exchangeable base ratios in the soils of the
R.U.T. irrigation district. Revista Facultad
Nacional de Agronomía 70(1): 8077-8084.
- National Soil Survey Center. 1996. Soil Survey
Laboratory Methods Manual. Soil Survey
Investigation Report No. 42, Version 3.0.
Natural Resources Conservation Service,
United States Department of Agriculture,
Washington, D.C.
- Sanchez, P.A., C.A. Palm and S.W. Buol. 2003.
Fertility capability soil classification: a tool to
help assess soil quality in the tropics.
Geoderma 114: 157-185.
- Sharma, B.D., S.S. Mukhopadhyay and J.C. Katyal.
2006. Distribution of total and DTPA-
extractable zinc, copper, manganese, and
iron in Vertisols of India. Communication in
Soil Science and Plant Analysis 37: 653-
672.
- Soil Survey Staff. 2014. Keys to Soil Taxonomy. 12th
ed. USDA-NRCS, Washington, D.C. 360 p.
- Takrattanasaran, N., J. Chanchareonsook, P.G.
Johnson, S. Thongpae and E. Sarobol.
2013. Amelioration of zinc deficiency of

corn in calcareous soils of Thailand: zinc sources and application methods. Journal of Plant Nutrition 36: 1275-1286.

Zhang, M., C.L. Li, Y.C. Li and W.G. Harris. 2014. Phosphate minerals and solubility in native and agricultural calcareous soils. Geoderma 232-234: 164-171.

สมบัติทางกายภาพเคมีของดินในพื้นที่เหมืองแร่และป่าปลูกเพื่อการฟื้นฟูที่ดิน เหมืองแร่ลิกันต์บ้านปู อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน

Soil Physicochemical Properties in Mining Areas and Plantation Forest for Land Reclamation of Ban Pu Lignite Mine, Li District, Lamphun Province

ธนานิติ ธิชาณ^{1*} สุนทร คำยอง² นิวัติ อนงค์รักษ์¹ และ พันธุ์ลพ หัตถโกศล³
Thananiti Thichan^{1*}, Soontorn Khamyong², Niwat Anongrak¹ and Panlop Huttagosol³

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

¹Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²ภาควิชาเกษตรที่สูงและทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

²Department of Highland Agriculture and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50200, Thailand

³ภาควิชาวิศวกรรมเหมืองแร่และปิโตรเลียม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

³Department of Mining and Petroleum Engineering, Faculty of Engineering, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: Thananiti61@gmail.com

(Received: 1 March 2018; Accepted: 1 June 2018)

Abstract: Soil properties of Ban Pu Lignite Mine were studied at three sites: natural forest, mine pit and plantation forest, by making 7 soil pits and collecting samples along soil profiles at 0-5, 5-10, 20-40, 40-60, 60-80 and 80-100 cm depth. Analysis of physicochemical properties of soil samples was taken in the laboratory. The physical properties varied greatly with sites and soil depths, and not suitable for plant growth. The soils were the weathered rocks, gravels and fragmented rocks or clays. Bulk density was moderately, moderately low and low caused by the type of material and rock gravel. Soil texture were sandy loam or loamy sand or clay loam. Soil reaction in natural forest was almost neutral whereas those soils of bare site and plantation forest at the bottom of mine pit were extremely acid. In contrast, the soil reaction of upper area of mine pit was neutral. In areas of plantation forest 1 and 2, the reaction varied greatly along soil depths: neutral, slightly acid and very strongly acid, while that of plantation forest 3 was ultra acid almost soil depth. Organic matter, carbon and nitrogen contents were low in soils of both mining areas and natural forest; however, some layers of subsoils contained the higher contents than surface soils as similar as variations of available phosphorus, extractable potassium, calcium and magnesium. These caused by the dumping weathered rocks, gravels and fragmented rocks or subsoils on the surface soils.

Keywords: Land reclamation, lignite mine, mining land, plantation forest, soil properties

บทคัดย่อ: สมบัติของดินเหมืองแร่ลิกไนต์บ้านปู่ศึกษา 3 พื้นที่คือ ป่าธรรมชาติ ขอบบ่อเหมืองและป่าปลูก โดยชุดหลุมดิน 7 หลุม เก็บตัวอย่างดินที่ความลึก 0-5, 5-10, 20-40, 40-60, 60-80 และ 80-100 เซนติเมตร และวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพเคมีของดินในห้องปฏิบัติการ พบว่า สมบัติทางกายภาพผันแปรมากตามพื้นที่และความลึก ไม่เหมาะสมต่อการเติบโตของพันธุ์ไม้ ดินเป็นหินผุ กรวดหินหรือดินเหนียว มีความหนาแน่นปานกลาง ค่อนข้างต่ำและต่ำ ซึ่งเกิดจากชนิดวัสดุและกรวดหิน เป็นดินร่วนปนทรายหรือดินทรายร่วนหรือดินร่วนเหนียว ดินป่าธรรมชาติมีปฏิกิริยาเป็นกลาง ดินขอบบ่อเหมืองด้านล่างที่ยังไม่ปลูกและที่ปลูกป่าแล้วเป็นกรดรุนแรงมาก แต่ขอบบ่อเหมืองด้านบนที่ปลูกป่ามีค่าเป็นกลาง ดินพื้นที่ป่าปลูก 1 และ 2 มีปฏิกิริยาผันแปรตามชั้นดิน เป็นกลาง กรดเล็กน้อยและกรดจัดมาก แต่ดินพื้นที่ป่าปลูก 3 เป็นกรดรุนแรงมากที่สุดเกือบตลอดชั้นดิน อินทรีย์วัตถุ คาร์บอนและไนโตรเจนมีค่าต่ำในดินทั้งพื้นที่เหมืองแร่และป่าธรรมชาติ แต่ชั้นดินล่างบางพื้นที่กลับมีค่าสูงกว่าดินบนเช่นเดียวกับความผันแปรของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมที่สามารถสกัดได้ ซึ่งเกิดจากการสลับชั้นดิน โดยนำดินล่างและหินผุผสมกลับกับดินบน

คำสำคัญ: การฟื้นฟูที่ดิน เหมืองแร่ลิกไนต์ ที่ดินเหมืองแร่ ป่าปลูก สมบัติของดิน

คำนำ

ลิกไนต์เป็นถ่านหินชนิดหนึ่งที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงในโรงงานผลิตกระแสไฟฟ้าเนื่องจากมีต้นทุนการผลิตต่ำ เหมืองแร่ลิกไนต์บ้านปู่ อำเภอสี จังหวัดลำพูน เป็นเหมืองเปิด (opencast mine) ได้รับสัมปทานเมื่อปี พ.ศ. 2526 การทำเหมืองแร่ในอำเภอลี้มีหลายบริษัทดำเนินการ เช่น บริษัทลานนาลิกไนต์ ซึ่งอยู่ในเครือปูนซีเมนต์นครหลวง เป็นต้น ปัจจุบันหมดสัมปทานไปแล้ว พื้นที่ก่อนการทำเหมืองเป็นป่าเต็งรัง เมื่อได้รับสัมปทานเหมืองแร่ในชั้นแรกจะมีการแผ้วถางป่าและเปิดหน้าดินออกก่อน ขุดลึกลงไปในชั้นดินและหินถึงความลึก 50-100 m เพื่อขุดเอาลิกไนต์ออกมาจำหน่ายให้การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย ในการเปิดหน้าดินนั้นมีการเคลื่อนย้ายเอาดิน หินผุ และเศษหินออกไปกองไว้เป็น พื้นที่ทิ้งดิน (dumping area) ลีโอนาร์โดท์เป็นวัสดุจากขุมเหมืองที่สามารถใช้ปรับปรุงคุณภาพดินและผลผลิตธัญพืช (ชาญยุทธ และคณะ 2560) เมื่อมีการทิ้งวัสดุจากขุมเหมืองเสร็จสิ้นแล้ว พื้นที่ทิ้งดินมีลักษณะเป็นเนินสูงคล้ายกับภูเขา ซึ่งจะต้องฟื้นฟูที่ดินตามกฎหมายเหมืองแร่ที่เข้าไปทำสัมปทานในเขตป่าสงวนแห่งชาติ โดยให้มีการปลูกป่าและการทดแทนของพืชพรรณไม้ตามธรรมชาติ การฟื้นฟูแบบนี้เป็นวิธีการที่หลายฝ่ายยอมรับ ในขั้นตอนสุดท้ายของการทำเหมืองจะเหลือหลุมดินขนาดใหญ่ที่กลายเป็นอ่างเก็บน้ำที่ลึกมากถึง 30-40 m (บ่อ BP 2) พื้นที่ขอบบ่อเหมืองจะต้อง

ปลูกป่า ในพื้นที่เหมืองลิกไนต์บ้านปู่มีการฟื้นฟูสภาพระบบนิเวศโดยการปลูกพันธุ์ไม้ 3 พื้นที่ คือ (1) การปลูกต้นไม้ตามพื้นที่ลำางานและข้างถนน เพื่อให้เกิดความร่มรื่น ความสวยงามและป้องกันฝุ่นละออง ฯลฯ (2) การปลูกต้นไม้เป็นป่าปลูกตามพื้นที่ทิ้งดินและปล่อยให้การทดแทนของพันธุ์ไม้ตามธรรมชาติ และ (3) การปลูกต้นไม้เป็นแนวตามพื้นที่รอบบ่อเหมืองที่เป็นรอยต่อกับพื้นที่ชุมชนเพื่อลดมลภาวะทางเสียง ฝุ่นละอองและเกิดความร่มรื่นสวยงาม (buffer zone) โดยทั่วไปการปลูกป่าฟื้นฟูที่ดินเหมืองแร่มีปัญหาเนื่องจากพื้นที่มีดิน (soil) และวัสดุต้นกำเนิดดิน (parent materials) เป็นหินผุ กรวด เศษแร่และก้อนหินที่ขุดจากบ่อเหมือง บริเวณขอบบ่อเหมืองนั้นมีลักษณะทางกายภาพเคมีของดินและวัสดุต้นกำเนิดดินไม่เหมาะสมต่อการปลูกพันธุ์ไม้เนื่องจากดินหินมีความแตกต่างกันจากพื้นที่ขอบบ่อเหมืองด้านบนลึกลงไปถึงชั้นหินที่พบลิกไนต์ ชั้นบนสุดเป็นหินทรายสีแดง (sand stone) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปเป็นหินกรวดมน (conglomerate) และชั้นที่พบลิกไนต์เป็นหินโคลนขาวโดยพบไพไรต์ (pyrite) และแมงกานีสมากในชั้นหินด้านล่าง หินผุมีเป็นเป็นกรดรุนแรงที่เกิดจากไพไรต์ พื้นผิวไม่อุ้มน้ำและจะแห้งอย่างรวดเร็ว อุณหภูมิพื้นผิวสูงมากในตอนกลางวัน มีธาตุอาหารต่ำและมีความเป็นพิษของสารโลหะหนัก ซึ่งจะทำให้กล้าไม้ที่ปลูกส่วนใหญ่ตายไป (Brady and Weil, 2010) อย่างไรก็ตาม พบว่า ต้นไม้ที่ปลูกในพื้นที่ทิ้งดิน พื้นที่แนวสีเขียวระหว่างชุมชนและ

ขอบบ่อเหมืองสามารถเจริญเติบโตได้ วัตถุประสงค์ของการวิจัยเพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการของดินในพื้นที่เหมืองแร่และป่าปลูกเพื่อการฟื้นฟูที่ที่ดินของเหมืองแร่ลิกไนต์บ้านปู เปรียบเทียบกับดินป่าธรรมชาติบริเวณใกล้เคียง เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการปรับปรุงวิธีการฟื้นฟูต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. พื้นที่วิจัย

พื้นที่วิจัยคือ เหมืองแร่ลิกไนต์บ้านปู ตำบลบ้านโฮ้ง อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน อยู่สูงจากระดับน้ำทะเลระหว่าง 500 - 600 เมตร ห่างจากจังหวัดลำพูนไปทางทิศใต้ 120 กิโลเมตร พื้นที่วิจัยแบ่งออกเป็น 3 พื้นที่ ตามตารางที่ 1 ดังนี้

1. ป่าธรรมชาติ ซึ่งเป็นป่าเต็งรัง (dry dipterocarp forest) โดยมีไม้เต็ง รัง เหียงและพลวงเป็นพันธุ์ไม้เด่น

2. พื้นที่ขอบบ่อเหมือง แบ่งออกเป็น 3 พื้นที่

(1) พื้นที่ด้านล่างของบ่อเหมือง (mine pit 1) เป็นหินโคลนสีขาวที่พบลิกไนต์และยังไม่มีมีการปลูกป่า

(2) พื้นที่ด้านล่างของบ่อเหมือง (mine pit 2) เป็นหินโคลนสีขาวที่ปลูกป่าไม้สักและสะเดาอายุ 18 ปี

(3) พื้นที่ด้านบนของบ่อเหมือง (mine pit 3) ที่มีการปลูกป่าฟื้นฟูได้แก่ ไม้สักและกระถินยักษ์

3. ป่าปลูกเพื่อฟื้นฟูพื้นที่ที่ดิน อายุ 18 ปี โดยแบ่งออกเป็น 3 พื้นที่

(1) พื้นที่ป่าปลูก 1 (plantation forest 1) ชนิดพันธุ์ไม้ที่ปลูก คือ ไม้สักและสะเดา

(2) พื้นที่ป่าปลูก 2 (plantation forest 2) เป็นป่าปลูกไม้สักล้วน

(3) พื้นที่ป่าปลูก 3 (plantation forest 3) เป็นป่าปลูกไม้สักและกระถินณรงค์

2. การศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน

ชุดหลุมดินกว้าง 1.5 m และลึก 1 m จำนวน 7 หลุม ใน 3 พื้นที่คือ ป่าธรรมชาติ 1 หลุม ขอบบ่อเหมือง 3 หลุม และป่าปลูกพื้นที่ที่ดิน 3 หลุม เก็บตัวอย่างดินในแต่ละหลุมที่ความลึก 0-5, 5-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 และ 80-100 cm และวิเคราะห์ตัวอย่างดินในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ (1) ความหนาแน่นรวม โดยวิธี core method ที่คำนวณจากมวลดินที่มีขนาดน้อยกว่า 2 mm (2) ปริมาณกรวดและหิน โดยวิธีชั่งน้ำหนัก (3) เนื้อดินโดยวิธีการผสมผส ศึกษาสมบัติทางเคมี ได้แก่ (1) ปฏิกริยาดิน (soil reaction, pH) โดยใช้ pH meter ในอัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:1 (2) อินทรีย์วัตถุและคาร์บอนใช้วิธี wet oxidation ของ Walkley and Black (Nelson and Sommers, 1982) (3) ไนโตรเจนทั้งหมด ใช้วิธี micro Kjeldahl method (Bremner and Mulvaney, 1982) (4) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ใช้วิธี Bray II และ colorimetric method (Olsen and Sommers, 1982) (5) โพแทสเซียมที่สามารถสกัดได้ใช้วิธีการสกัดด้วยสารละลาย ammonium acetate 1 N, pH 7.0 และอ่านค่าด้วยเครื่อง flame photometer (Knudsen *et al.*, 1982) (6) แคลเซียมและแมกนีเซียมที่สามารถสกัดได้ใช้วิธีการสกัดด้วยสารละลาย ammonium acetate 1 N, pH 7.0 และอ่านค่าด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Lanyon and Heald, 1982)

Table 1. General characteristics of research sites

Site	Site characteristics	Dominant tree species
Natural forest	Dry dipterocarp forest	Dipterocarps
Mine pit	1. Lower area	No reclamation
	2. Lower area	Teak, <i>Azadirachta</i> sp.
	3. Upper area	Teak, <i>Leucaena</i> sp.
Plantation forest (18 yrs))	1. Dumping area 1	Teak, <i>Azadirachta</i> sp.
	2. Dumping area 2	Teak
	3. Dumping area 3	Teak, <i>Acacia</i> sp.

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยประกอบด้วยสมบัติทางกายภาพ และเคมีของดินป่าธรรมชาติ ขอบบ่อเหมืองและป่าปลูก พื้นที่ทั้งดิน

1. สมบัติทางกายภาพของดิน (soil physical properties)

ตารางที่ 2 แสดงสมบัติทางกายภาพบางประการของดินใน 3 พื้นที่

1.1 ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density)

(1) ป่าธรรมชาติ

ดินป่าเต็งรังเกิดจากหินทรายที่ไม่ถูกรบกวนจากการทำเหมือง มีสีแดงปนเหลือง (red-yellow soil) ดินบนที่ความลึก 0-40 cm มีความหนาแน่นปานกลาง ($1.36-1.52 \text{ Mg/m}^3$) ค่อนข้างต่ำที่ความลึก 40-60 cm (1.20 Mg/m^3) และต่ำมากในดินล่าง ($0.64-0.88 \text{ Mg/m}^3$) เนื่องจากมีปริมาณกรวดในชั้นดินมากและทำให้มีมวลดินน้อย

(2) พื้นที่ขอบบ่อเหมือง

พื้นที่บ่อเหมืองด้านล่าง 1 (mine pit 1) ตั้งอยู่บนพื้นที่ด้านล่างของขอบบ่อเหมืองที่มีลักษณะเป็นอ่างเก็บน้ำ (บ่อเหมือง BP-2) ซึ่งยังไม่มีปลูกป่าฟื้นฟู โดยมีลักษณะเป็นหินผุของหินโคลน (mud stone) มีสีเทาปนขาวและมีลิกไนต์ปะปนอยู่ ดินที่ความลึก 0-40 cm มีความหนาแน่นต่ำ ($0.95-1.11 \text{ Mg/m}^3$) มีค่าค่อนข้างต่ำในชั้น 40-80 cm ($1.23-1.25 \text{ Mg/m}^3$) และมีความหนาแน่นต่ำในชั้น 80-100 cm (1.03 Mg/m^3)

พื้นที่บ่อเหมืองด้านล่าง 2 (mine pit 2) เป็นพื้นที่ขอบบ่อเหมืองด้านล่างที่ปลูกป่าฟื้นฟูอายุ 18 ปี โดยเฉพาะไม้สัก (*Tectona grandis*) และสะเดา (*Azadirachta indica*) เป็นหินผุของหินโคลนสีเทาปนขาว มีความหนาแน่นปานกลางที่ความลึก 0-10 cm ($1.42-1.48 \text{ Mg/m}^3$) มีความหนาแน่นค่อนข้างต่ำที่ความลึก 10-100 cm ($1.23-1.39 \text{ Mg/m}^3$)

พื้นที่บ่อเหมืองด้านบน 3 (mine pit 3) เป็นดินเกิดจากการนำดิน กรวดทรายและเศษหินจากบ่อเหมืองมาถม มีการปลูกต้นไม้ฟื้นฟูเป็นแนวสีเขียว (green belt) กันกับพื้นที่ชุมชนคือ ชุมชนบ้านโอง ต้นไม้มีอายุ 18

ปี ดินบนมีกรวดค่อนข้างมากและลดลงในดินล่าง ดินชั้น 0-20 cm มีความหนาแน่นต่ำ ($0.94-1.16 \text{ Mg/m}^3$) มีค่าค่อนข้างต่ำที่ความลึก 20-40 และ 80-100 cm (1.22 และ 1.30 Mg/m^3) และต่ำที่ความลึก 40-80 cm ($1.17-1.19 \text{ Mg/m}^3$)

(3) ป่าปลูกพื้นที่ทั้งดิน

เป็นพื้นที่ที่มีการนำดิน กรวดทราย หินผุ ก้อนหินและเศษหินจากการเปิดหน้าดินเพื่อทำเหมืองแร่มาถมเป็นเนินสูง มีการปลูกต้นไม้ฟื้นฟูที่มีอายุ 18 ปี พื้นที่ค่อนข้างราบบนพื้นที่เนินสูง ลักษณะดินและวัตถุต้นกำเนิดดินที่รองรับการปลูกต้นไม้มีความผันแปรมากตามพื้นที่ ชนิดพันธุ์ไม้ที่ปลูกก็มีความแตกต่างกันมาก บางพื้นที่ปลูกไม้สักล้วน แต่หลายพื้นที่ปลูกผสมระหว่างสัก สะเดา กระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) กระถินยักษ์ (*Leucaena leucocephala*)

พื้นที่ปลูกป่า 1 (plantation forest 1) เป็นป่าปลูกไม้สักและสะเดา ดินความหนาแน่นต่ำที่ความลึก 0-5 cm (1.18 Mg/m^3) ปานกลางที่ความลึก 5-40 cm ($1.43-1.45 \text{ Mg/m}^3$) และ 40-100 cm มีค่าค่อนข้างต่ำ ($1.25-1.29 \text{ Mg/m}^3$)

พื้นที่ปลูกป่า 2 (plantation forest 2) เป็นป่าปลูกไม้สักชนิดเดียวล้วน ดินความหนาแน่นต่ำตลอดชั้นความลึก 100 cm ($0.79-1.11 \text{ Mg/m}^3$) มีปริมาณกรวดในชั้นดินมาก ซึ่งจะทำให้ดินมีความหนาแน่นต่ำ

พื้นที่ปลูกป่า 3 (plantation forest 3) พันธุ์ไม้ที่ปลูกคือ สัก กระถินณรงค์ เสลา เป็นต้น ดินมีความหนาแน่นต่ำที่ความลึก 0-5 cm (1.18 Mg/m^3) ค่อนข้างต่ำที่ความลึก 5-40 cm (1.34 Mg/m^3) และต่ำในดินล่าง ($1.06-1.15 \text{ Mg/m}^3$)

1.2 ปริมาณกรวดและมวลดิน (gravel and soil mass)

(1) ป่าธรรมชาติ

ดินบน (0-40 cm) มีกรวดน้อยมาก (1.79-4.10% โดยน้ำหนัก) ปริมาณกรวดเพิ่มขึ้นในชั้นดินที่ลึกลงไป (19.89-54.55%) และมีค่าปริมาณมวลดินระหว่าง ($67.86-302.55 \text{ kg/m}^2/\text{layer}$)

สมบัติทางกายภาพเคมีของดินในพื้นที่เหมืองแร่และป่าปลูกเพื่อการฟื้นฟูที่ดินเหมืองแร่ลิกไนต์
บ้านปู อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน

Table 2. Some physical properties of soils in the natural forest, mining areas and plantation forest

Type	Soil depth (cm)	Bulk density (Mg/m ³)	Gravel (%)	Soil mass (kg/m ² /layer)	Soil texture
Natural forest	0-5	1.36 ± 0.12 M	4.10 ± 1.13	67.86	Sandy loam
	5-10	1.50 ± 0.19 M	1.79 ± 0.16	286.14	Sandy loam
	10-20	1.51 ± 0.12 M	1.94 ± 0.9	294.35	Sandy loam
	20-40	1.52 ± 0.04 M	2.09 ± 0.01	302.55	Sandy loam
	40-60	1.20 ± 0.40 ML	19.89 ± 1.22	272.58	Loamy sand
	60-80	0.64 ± 0.04 L	54.55 ± 2.30	184.68	Loamy sand
	80-100	0.88 ± 0.00 L	34.69 ± 1.59	152.72	Loamy sand
Mine pit 1	0-5	0.95 ± 0.02 L	10.87 ± 2.34	47.30	Sandy loam
	5-10	1.11 ± 0.09 L	1.00 ± 2.13	205.52	Loamy sand
	10-20	1.03 ± 0.09 L	2.22 ± 1.72	205.58	Loamy sand
	20-40	0.95 ± 0.09 L	3.43 ± 1.31	205.64	Loamy sand
	40-60	1.25 ± 0.05 ML	1.21 ± 0.02	219.80	Loamy sand
	60-80	1.23 ± 0.14 ML	1.18 ± 1.31	248.24	Sandy loam
	80-100	1.03 ± 0.04 L	5.27 ± 1.58	226.46	Sandy loam
Mine pit 2	0-5	1.42 ± 0.08 M	6.36 ± 2.55	70.85	Sandy loam
	5-10	1.48 ± 0.15 M	4.50 ± 1.25	289.64	Sandy loam
	10-20	1.39 ± 0.08 ML	4.88 ± 0.90	283.61	Sandy loam
	20-40	1.30 ± 0.07 ML	5.25 ± 0.54	277.57	Loamy sand
	40-60	1.23 ± 0.12 ML	10.19 ± 4.18	252.46	Loamy sand
	60-80	1.24 ± 0.04 ML	6.51 ± 1.49	246.91	Loamy sand
	80-100	1.32 ± 0.03 ML	5.92 ± 1.58	256.14	Loamy sand
Mine pit 3	0-5	0.94 ± 0.08 L	15.93 ± 5.45	47.11	Loamy sand
	5-10	1.10 ± 0.03 L	37.00 ± 5.84	204.19	Loamy sand
	10-20	1.16 ± 0.09 L	32.15 ± 7.16	218.04	Loamy sand
	20-40	1.22 ± 0.15 ML	27.29 ± 8.47	231.89	Loamy sand
	40-60	1.19 ± 0.04 L	14.20 ± 6.14	240.43	Loamy sand
	60-80	1.17 ± 0.09 L	14.77 ± 0.11	235.16	Sandy loam
	80-100	1.30 ± 0.06 L	10.96 ± 0.71	246.55	Sandy loam
Plantation forest 1	0-5	1.18 ± 0.12 L	22.02 ± 2.38	58.87	Caly loam
	5-10	1.43 ± 0.07 M	12.66 ± 5.22	261.00	Clay loam
	10-20	1.44 ± 0.18 M	10.87 ± 4.58	274.59	Clay loam
	20-40	1.45 ± 0.28 M	9.07 ± 3.93	288.17	Clay loam
	40-60	1.25 ± 0.27 ML	7.89 ± 2.85	269.82	Loamy sand
	60-80	1.29 ± 0.10 ML	9.53 ± 1.52	253.93	Loamy sand
	80-100	1.28 ± 0.20 ML	14.30 ± 6.18	257.04	Loamy sand
Plantation forest 2	0-5	0.96 ± 0.11 L	37.86 ± 8.84	47.48	Caly loam
	5-10	1.05 ± 0.09 L	26.90 ± 3.17	201.10	Clay loam
	10-20	1.03 ± 0.10 L	149.52 ± 3.46	204.23	Clay loam
	20-40	1.02 ± 0.11 L	30.04 ± 3.75	207.37	Clay loam
	40-60	0.89 ± 0.05 L	37.97 ± 4.64	190.54	Caly loam
	60-80	0.79 ± 0.17 L	44.67 ± 21.90	167.37	Clay loam
	80-100	1.11 ± 0.08 L	16.47 ± 2.96	190.23	Clay loam

Table 2. Contd.

Type	Soil depth (cm)	Bulk density (Mg/m ³)	Gravel	Soil mass	Soil texture
			(%)	(kg/m ² /layer)	
Plantation forest 3	0-5	1.18 ± 0.12 L	17.42 ± 2.39	59.08	Sandy loam
	5-10	1.34 ± 0.07 ML	8.03 ± 3.50	252.25	Clay loam
	10-20	1.34 ± 0.11 ML	6.92 ± 4.02	260.14	Clay loam
	20-40	1.34 ± 0.14 ML	5.80 ± 4.54	268.02	Loamy sand
	40-60	1.06 ± 0.30 L	2.12 ± 2.19	240.01	Loamy sand
	60-80	1.15 ± 0.05 L	4.52 ± 4.36	221.04	Loamy sand
	80-100	1.10 ± 0.23 L	12.27 ± 16.04	224.93	Loamy sand

Remarks: VL=very low, L=low, ML=moderately low, M=Medium (Soil Survey Division, 1993)

(2) พื้นที่ขอบบ่อเหมือง

ขอบบ่อเหมืองด้านล่าง 1 ดินมีกรวดน้อยถึงน้อยมาก (1.00-10.87%) ที่เกิดจากหินผุและมีอินทรีย์วัตถุต่ำมาก ปริมาณมวลดินมีค่า 47.30-248.24 kg/m²/layer

ขอบบ่อเหมืองด้านล่าง 2 พบกรวดน้อยถึงน้อยมาก (4.50-10.19%) มีมวลดินผืนแปรระหว่าง 70.85-289.64 kg/m²/layer

ขอบบ่อเหมืองด้านบน 3 มีกรวดและมวลดินผืนแปรระหว่าง 10.96-37.0% และ 47.11-246.55 kg/m²/layer ตามลำดับ

(3) ป่าปลูกพื้นที่ทั้งดิน

พื้นที่ปลูกป่า 1 ดินมีปริมาณกรวด 7.89-22.02% และมวลดิน 58.87-288.17 kg/m²/layer

พื้นที่ปลูกป่า 2 ดินมีกรวดมาก (16.47-44.67%) ทำให้มีมวลดินค่อนข้างน้อย (47.48-207.37 kg/m²/layer)

พื้นที่ปลูกป่า 3 มีกรวดในชั้นดินผืนแปรระหว่าง 2.12-17.42% และมีมวลดิน 59.08-268.02 kg/m²/layer

1.3 เนื้อดิน (soil texture)

(1) ป่าธรรมชาติ

ดินชั้นบน (0-40 cm) เป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปเป็นดินทรายปนร่วน (loamy sand) ซึ่งมีลักษณะเป็นดินเนื้อหยาบ

(2) พื้นที่ขอบบ่อเหมือง

ขอบบ่อเหมืองด้านล่าง 1 ดินที่ความลึก 0-5 cm เป็นดินร่วนปนทราย แต่ที่ความลึก 5-60 cm เป็นดินทรายปนร่วน ชั้นดินที่อยู่ลึกลงไปเป็นดินร่วนปนทราย

ขอบบ่อเหมืองด้านล่าง 2 ที่ความลึก 0-20 cm เป็นดินร่วนปนทราย และชั้นที่อยู่ลึกลงไปเป็นดินทรายปนร่วน

ขอบบ่อเหมืองด้านบน 3 ดินชั้นบน (0-60 cm) เป็นดินทรายปนร่วนและชั้นที่อยู่ลึกลงไปเป็นดินร่วนปนทราย

(3) ป่าปลูกพื้นที่ทั้งดิน

พื้นที่ปลูกป่า 1 ดินชั้นบน (0-40 cm) เป็นดินร่วนปนเหนียว (clay loam) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปเป็นดินทรายปนร่วน

พื้นที่ปลูกป่า 2 มีเนื้อดินเป็นแบบดินร่วนปนเหนียวตลอดชั้นความลึกของดิน

พื้นที่ปลูกป่า 3 ที่ความลึก 0-5 cm เป็นดินร่วนปนทราย ที่ความลึก 5-20 cm เป็นดินร่วนปนเหนียวและชั้นที่อยู่ลึกลงไปเป็นดินทรายปนร่วน

2. สมบัติทางเคมีของดิน (soil chemical properties)

ตารางที่ 3 แสดงสมบัติทางเคมีของดินในป่าธรรมชาติ พื้นที่ขอบบ่อเหมืองและป่าปลูกพื้นที่ทั้งดิน

2.1 ปฏิกริยาดิน (soil reaction)

(1) ป่าธรรมชาติ

ดินบนที่ความลึก 0-5 cm เป็นกรดเล็กน้อย (slightly acid, pH = 6.3) ชั้นดินที่อยู่ลึกลงไปเป็นกลาง (neutral)

(2) พื้นที่ขอบบ่อเหมือง

ขอบบ่อเหมืองด้านล่าง 1 ดินบนที่ความลึก 0-5 cm เป็นกรดรุนแรงมากที่สุด (ultra acid, pH = 3.3) ชั้นดินที่อยู่ลึกลงไปมีเศษลิกไนต์ปะปนเป็นกรดรุนแรงมาก (extremely acid) มีค่า pH ผันแปรระหว่าง 3.6-4.1

สมบัติทางกายภาพเคมีของดินในพื้นที่เหมืองแร่และป่าปลูกเพื่อการฟื้นฟูที่ดินเหมืองแร่ลิกไนต์
บ้านปู อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน

Table 3. Some chemical properties of soils in the natural forest, mining areas and plantation forest

Type	Depth (cm)	pH		O.M. (%)	C (%)	N (%)	Extractable nutrients (mg/kg)			
							P	K	Ca	Mg
Natural forest	0-5	6.	SLA	2.38 M	1.38	0.14 L	4.85 L	50.25 L	543.00 L	57.65 L
	5-10	7	N	1.38 ML	0.80	0.08 VL	3.54 L	111.20 H	522.50 L	27.63 VL
	10-20	7	N	1.10 ML	0.64	0.07 VL	3.54 L	83.2 M	437.00 L	23.78 VL
	20-40	7	N	0.82 L	0.48	0.06 VL	3.54 L	55.20 L	351.50	19.92 VL
	40-60	7	N	0.78 L	0.45	0.05 VL	3.10 L	65.43 M	469.00 L	38.70 L
	60-80	7	N	0.43 VL	0.25	0.03 VL	2.57 VL	67.23 M	308.75	15.65 VL
	80-100	7	N	0.22 VL	0.13	0.01 VL	2.66 VL	54.55 L	250.00	30.70 VL
Mine pit 1	0-5	3.	UA	0.65 L	0.38	0.04 VL	5.64 L	104.00 H	462.70 L	219.70 M
	5-10	3.	EA	3.55 H	2.06	0.21 M	7.14 ML	77.63 M	316.40	143.70 M
	10-20	3.	EA	2.79 M	1.62	0.17 L	6.70 ML	67.55 M	304.90	128.85 M
	20-40	3.	EA	2.03 M	1.18	0.12 L	6.26 ML	57.46 L	293.40	114.00 L
	40-60	4	EA	1.30 ML	0.75	0.07 VL	6.70 ML	88.58 M	238.00	69.30 L
	60-80	4.	EA	1.51 M	0.88	0.06 VL	5.64 L	170.10	247.30	72.55 L
	80-100	3.	EA	3.81 H	2.21	0.22 M	4.59 L	59.90 L	502.00 L	122.20 M
Mine pit 2	0-5	4.	EA	1.30 ML	0.75	0.08 VL	5.21 L	100.5 H	1173.50	154.90 M
	5-10	4	EA	1.21 ML	0.70	0.07 VL	3.98 L	80.95 M	555.00 L	40.49 L
	10-20	3.	EA	1.06 ML	0.62	0.06 VL	3.76 L	78.25 M	564.00 L	47.95 L
	20-40	3.	EA	0.91 L	0.53	0.05 VL	3.54 L	75.55 M	573.00 L	55.40 L
	40-60	3.	EA	1.08 ML	0.63	0.05 VL	5.03 L	54.10 L	543.50 L	51.65 L
	60-80	3.	EA	0.74 L	0.43	0.04 VL	4.59 L	59.78 L	602.00 L	52.60 L
	80-100	3.	EA	0.87 L	0.51	0.03 VL	5.29 L	68.90 M	625.00 L	61.20 L
Mine pit 3	0-5	6.	SLA	2.16 M	1.25	0.13 M	8.89 ML	105.50 H	556.00 L	23.15 VL
	5-10	6.	N	0.87 L	0.51	0.05 VL	4.15 L	65.93 M	530.50 L	29.23 VL
	10-20	6.	N	0.74 L	0.43	0.05 VL	3.72 L	91.57 M	558.13 L	31.48 VL
	20-40	6.	N	0.61 L	0.35	0.04 VL	3.28 L	117.20 H	585.75 L	33.73 VL
	40-60	6.	N	0.87 L	0.51	0.03 VL	2.93 VL	175.10	753.75 L	27.15 VL
	60-80	6.	N	0.95 L	0.55	0.05 VL	3.28 L	34.05 L	827.00 L	25.75 VL
	80-100	6.	N	1.82 L	1.06	0.10 L	3.54 L	83.45 M	1039.00	36.53 L
Plantation forest 1	0-5	6.	N	1.04 ML	0.60	0.06 VL	3.71 L	38.23 L	1270.00	28.69 VL
	5-10	6.	N	0.69 L	0.40	0.04 VL	2.93 VL	46.11 L	1558.00	44.06 L
	10-20	5.	SA	1.65 ML	0.96	0.10 L	11.39 M	42.34 L	1676.25	43.73 L
	20-40	5.	SA	2.60	1.51	0.15 L	19.85	38.56 L	1794.50	43.39 L
	40-60	4.	VSA	3.16	1.83	0.18 L	13.80 M	37.05 L	2832.50	169.70 M
	60-80	4.	VSA	4.63 VH	2.69	0.27 M	12.05 M	27.35 VL	2519.50	221.00 M
	80-100	4.	VSA	0.48 VL	0.28	0.02 VL	38.71 H	28.35 VL	1668.50	165.10 M
Plantation forest 2	0-5	6.	SLA	2.16 M	1.25	0.13 L	15.29	114.30 H	1630.00	28.04 VL
	5-10	6.	N	1.73 M	1.00	0.08 VL	7.22 ML	39.29 L	1929.50	57.70 L
	10-20	6.	N	1.15 M	0.67	0.06 VL	6.79 ML	43.14 L	1808.25	48.08 L
	20-40	6.	N	0.56 L	0.33	0.03 VL	6.35 ML	46.98 L	1687.00	38.45 L
	40-60	6.	N	0.87 L	0.51	0.04 VL	4.77 L	34.38 L	1560.50	38.15 L
	60-80	6.	SLA	1.08 ML	0.63	0.03 VL	7.57 ML	77.44 M	1898.00	54.25 L
	80-100	4.	VSA	1.25 ML	0.73	0.03 VL	10.64 M	72.55 M	1875.00	206.50 M

Table 3. Contd.

Type	Depth (cm)	pH		O.M. (%)	C (%)	N (%)	Extractable nutrients (mg/kg)			
							P	K	Ca	Mg
Plantation forest 3	0-5	4.	VSA	2.81	1.63	0.16 L	4.59 L	66.30 M	1308.00	33.79 VL
	5-10	3.	EA	6.18 VH	3.58	0.36 M	3.89 L	27.78 VL	1136.50	67.40 L
	10-20	3.	EA	5.75 VH	3.84	0.38 M	4.46 L	31.12 L	932.50 L	46.40 L
	20-40	3.	UA	5.32 VH	4.09	0.40 M	5.03 L	34.46 L	728.50 L	25.40 VL
	40-60	3.	UA	1.86 M	1.08	0.10 L	9.68 ML	11.03 VL	723.50 L	26.44 VL
	60-80	3.	UA	6.66 VH	3.86	0.35 M	5.64 L	12.92 VL	758.00 L	38.58 L
	80-100	3.	UA	3.89 VH	2.26	0.20 M	7.40 ML	41.90 L	777.50 L	56.45 L

Remarks: UA=ultra acid, EA=extremely acid, VSA=very strongly acid, SA=strongly acid, SLA = slightly acid, N=neutral, VL=very low, L=low, ML=moderately low, M=Medium, MH=moderately high, H=high, VH=very high (Land Classification Division, 1973; Soil Survey Division, 1993)

ขอบบ่อเหมืองด้านล่าง 2 เป็นกรดรุนแรงมาก ตลอดชั้นดินลึก 1 m โดยมีค่า pH ผันแปรระหว่าง 3.5-4.2

ขอบบ่อเหมืองด้านบน 3 ที่ความลึก 0-5 cm ดินเป็นกรดเล็กน้อย (pH =6.5) และชั้นที่อยู่ลึกลงไปเป็นกลาง (pH = 6.6-6.7)

(3) ป่าปลูกพื้นที่ทั้งดิน

พื้นที่ปลูกป่า 1 ดินบนที่ความลึก 0-10 cm มีปฏิกิริยาเป็นกลาง (pH = 6.7-6.8) กรดจัด (pH = 5.2-5.5) ที่ความลึก 10-40 cm แต่เป็นกรดจัดมากที่ความลึก 40-100 cm (pH = 4.8-4.9)

พื้นที่ปลูกป่า 2 ดินบนที่ความลึก 0-5 cm เป็นกรดเล็กน้อย (pH =6.5) ที่ความลึก 5-60 cm เป็นกลาง (pH = 6.6) เป็นกรดเล็กน้อยที่ความลึก 60-80 cm (pH = 6.4) แต่เป็นกรดจัดมากที่ความลึก 80-100 cm (pH = 4.3)

พื้นที่ปลูกป่า 3 ดินบน (0-5 cm) เป็นกรดจัดมาก (pH = 4.8) เป็นกรดรุนแรงมาก (pH = 3.5-3.7) ที่ความลึก 5-20 cm และเป็นกรดรุนแรงมาก (pH = 3.2-3.4) ในชั้นที่อยู่ลึกลงไป

2.2 อินทรีย์วัตถุ คาร์บอนและไนโตรเจนในดิน (soil organic matter, carbon and nitrogen)

(1) ป่าธรรมชาติ

ดินบนที่ความลึก 0-5 cm มีอินทรีย์วัตถุปานกลาง (2.38%) ค่อนข้างต่ำที่ความลึก 5-20 cm และต่ำถึงต่ำมากในชั้นที่อยู่ลึกลงไป (20-100 cm) (0.22-0.82%) คาร์บอนมีแนวโน้มเช่นเดียวกับอินทรีย์วัตถุ ไนโตรเจนมีค่าต่ำที่ความลึก 0-5 cm (0.14%) และชั้นดินที่อยู่ลึกลงไปไม่มีค่าต่ำมาก

(2) พื้นที่ขอบบ่อเหมือง

ขอบบ่อเหมืองด้านล่าง 1 ดินบน (0-5 cm) มีอินทรีย์วัตถุต่ำ (0.65%) ที่ความลึก 5-10 cm มีค่าสูง (3.55%) มีค่าปานกลางที่ความลึก 10-40 cm (2.03-2.79%) ความลึก 40-60 cm มีค่าค่อนข้างต่ำ (1.30%) ความลึก 60-80 cm มีค่าปานกลาง (1.51%) และมีค่าสูง (3.81%) ที่ความลึก 80-100 cm ไนโตรเจนในดินมีแนวโน้มเช่นเดียวกับอินทรีย์วัตถุ

พื้นที่บ่อเหมืองด้านล่าง 2 ดินที่ความลึก 0-20 cm มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างต่ำ (1.06-1.30%) ที่ความลึก 20-40 cm มีค่าต่ำ (0.91%) ความลึก 40-60 cm มีค่าค่อนข้างต่ำ (1.08%) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำ (0.74-0.87%) ไนโตรเจนมีค่าต่ำมากตลอดชั้นดิน (0.03-0.08%)

พื้นที่บ่อเหมืองด้านบน 3 ดินบนที่ความลึก 0-5 cm มีอินทรีย์วัตถุปานกลาง (2.16%) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำ (0.61-1.82%) ไนโตรเจนมีค่าปานกลาง (0.13%) ที่ชั้นความลึก 0-5 cm มีค่าต่ำมาก (0.03-0.05%) ในชั้นความลึก 5-80 cm และต่ำ (0.10%) ที่ความลึก 80-100 cm คาร์บอนในดินมีแนวโน้มเช่นเดียวกันทั้งสามพื้นที่

(3) ป่าปลูกพื้นที่ทั้งดิน

พื้นที่ปลูกป่า 1 ดินที่ความลึก 0-20 cm มีอินทรีย์วัตถุต่ำถึงค่อนข้างต่ำ (0.69-1.65%) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าค่อนข้างสูงที่ความลึก 20-60 cm (2.60-3.10%) สูงมากที่ความลึก 60-80 cm แต่มีค่าต่ำมากที่ความลึก 80-100 cm (0.48%) ไนโตรเจนมีค่าต่ำมากที่ชั้นความลึก 0-10 cm (0.04-0.06%) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำถึง

ปานกลางที่ความลึก 10-80 cm (0.10-0.27%) และมีค่าต่ำมากที่ความลึก 80-100 cm (0.02%)

พื้นที่ปลูกป่า 2 ดินบนที่ความลึก 0-20 cm มีอินทรีย์วัตถุปานกลาง (1.15-2.16%) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำ (0.56-0.87%) ที่ความลึก 20-60 cm และค่อนข้างต่ำที่ความลึก 60-100 cm (1.08-1.25%) ในโตรเจนมีค่าต่ำในชั้นความลึก 0-5 cm (0.13%) ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำมาก (0.03-0.08%)

พื้นที่ปลูกป่า 3 ดินบน (0-5 cm) มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างสูง (2.81%) มีค่าสูงมากที่ความลึก 5-40 cm (5.32-6.18%) และปานกลางที่ความลึก 40-60 cm (1.86%) แต่มีค่าสูงถึงสูงมากที่ความลึก 60-100 cm (3.89-6.66%) ในโตรเจนมีค่าต่ำที่ความลึก 0-5 cm (0.16%) มีค่าปานกลางที่ความลึก 5-40 cm (0.36-0.40%) ชั้นที่อยู่ลึกลงไป (40-60 cm) มีค่าต่ำ (0.10%) และที่ความลึก 60-100 cm มีค่าปานกลาง (0.20-0.35%) คาร์บอนในดินมีแนวโน้มเช่นเดียวกัน

2.3 ธาตุอาหารหลักที่สามารถสกัดได้ (extractable macronutrients: P, K, Ca, Mg)

(1) ปารรรมาชาติ

ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มีค่าต่ำถึงต่ำมาก โพแทสเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำถึงปานกลาง ยกเว้นที่ความลึก 5-10 cm ที่มีค่าสูง ชั้นดินที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำถึงปานกลาง แคลเซียมและแมกนีเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำถึงต่ำมากตลอดชั้นดิน

(2) พื้นที่ขอบบ่อเหมือง

พื้นที่บ่อเหมืองด้านล่าง 1 มีค่า ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ผันแปรระหว่างต่ำถึงค่อนข้างต่ำ โพแทสเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำถึงสูงมาก แคลเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำถึงต่ำมากตลอดชั้นดิน และแมกนีเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำถึงปานกลาง

พื้นที่บ่อเหมืองด้านล่าง 2 ดินมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำตลอดชั้นดิน โพแทสเซียมที่สกัดได้ส่วนใหญ่มีค่าปานกลาง แคลเซียมและแมกนีเซียมที่สกัดได้มีค่าปานกลางที่ความลึก 0-5 cm ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำ

พื้นที่บ่อเหมืองด้านบน 3 ฟอสฟอรัสในดินมีค่าค่อนข้างต่ำที่ความลึก 0-5 cm ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำถึงต่ำมาก โพแทสเซียมที่สกัดได้มีค่าปานกลางถึงสูงมาก

ยกเว้นที่ความลึก 60-80 cm มีค่าต่ำ แคลเซียมมีค่าปานกลางที่ความลึก 0-5 cm และต่ำในชั้นที่อยู่ลึกลงไป และแมกนีเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำถึงต่ำมากตลอดชั้นดิน

(3) ป่าปลูกพื้นที่ทั้งดิน

พื้นที่ปลูกป่า 1 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมีค่าต่ำถึงต่ำมากที่ความลึก 0-10 cm ปานกลางถึงค่อนข้างสูงที่ความลึก 10-80 cm และสูงที่ความลึก 80-100 cm โพแทสเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำถึงต่ำมากตลอดชั้นดิน แคลเซียมที่สกัดได้มีค่าปานกลางที่ความลึก 0-40 cm มีค่าสูงที่ความลึก 40-80 cm และปานกลางที่ความลึก 80-100 cm แมกนีเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำมากที่ความลึก 0-5 cm ต่ำที่ความลึก 5-40 cm และปานกลางที่ความลึก 60-100 cm

พื้นที่ปลูกป่า 2 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมีค่าค่อนข้างสูงที่ความลึก 0-5 cm โดยมีค่าค่อนข้างต่ำถึงต่ำที่ความลึก 5-80 cm และมีค่าปานกลางที่ความลึก 80-100 cm โพแทสเซียมที่สกัดได้มีค่าสูงที่ความลึก 0-5 cm ต่ำที่ความลึก 5-60 cm และปานกลางที่ความลึก 60-100 cm แคลเซียมที่สกัดได้มีค่าปานกลางตลอดชั้นดิน แมกนีเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำมากที่ความลึก 0-5 cm ต่ำที่ความลึก 5-80 cm และปานกลางที่ความลึก 80-100 cm

พื้นที่ปลูกป่า 3 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมีค่าค่อนข้างต่ำถึงต่ำตลอดชั้นความลึก โพแทสเซียมที่สกัดได้มีค่าปานกลางที่ความลึก 0-5 cm ชั้นที่อยู่ลึกลงไปมีค่าต่ำถึงต่ำมาก แคลเซียมที่สกัดได้มีค่าปานกลางที่ความลึก 0-10 cm ต่ำที่ความลึก 10-100 cm แมกนีเซียมที่สกัดได้มีค่าต่ำถึงต่ำมากตลอดชั้นความลึก

วิจารณ์

สมบัติทางกายภาพของดินกับความสามารถในการขึ้นอยู่ของพันธุ์ไม้ป่า

สมบัติทางกายภาพของดินเป็นปัจจัยสำคัญต่อการขึ้นอยู่และการเจริญเติบโตของพันธุ์ไม้ เช่น ความลึก ปริมาณกรวดหิน ความหนาแน่น เนื้อดิน อินทรีย์วัตถุ เป็นต้น โดยมีอิทธิพลต่อการอุ้มน้ำ การถ่ายเทอากาศ อุณหภูมิดิน การไหลของน้ำ การอาศัยอยู่ของสิ่งมีชีวิตในดิน เป็นต้น (Fisher and Binkley, 2000) พบว่า ดินป่า

เต็งรังใกล้กับพื้นที่เหมืองแร่บ้านปูเป็นดินต้นที่เกิดจากหินทราย มีกรวดหินมาก เนื้อดินร่วนปนทราย ความหนาแน่นต่ำถึงปานกลางและอินทรีย์วัตถุต่ำ แต่พบว่าพันธุ์ไม้ต่างๆ เช่น เต็ง รัง เหียง พลวง ฯลฯ สามารถขึ้นบนดินที่มีสมบัติทางกายภาพที่ไม่เหมาะสม พันธุ์ไม้เหล่านี้สามารถขึ้นบนพื้นที่แห้งแล้ง (xeric sites) ส่วนใหญ่มีเชื้อราไมคอร์ไรซาที่รากฝอย (mycorrhizal fungi) ช่วยให้รากพืชไซซอนไปตามรอยแตกของหินและซอกหินได้เพื่อดูดน้ำและธาตุอาหาร (Fisher and Binkley, 2000; Kimmins, 2004) ดินในพื้นที่ขอบบ่อเหมืองด้านล่างที่พบลิคไนต์ที่ยังไม่มีและมีการปลูกป่าเป็นหินผุสีขาวของหินโคลน ร่วนและมีทรายละเอียดอัดแน่นกัน ไม่อุ้มน้ำและมีเศษลิคไนต์ปะปน ขณะที่ดินพื้นที่ขอบเหมืองด้านบนเกิดจากการถม โดยการนำดิน หินผุและกรวดหินของหินทรายและหินกรวดมนจากบ่อเหมือง ส่วนใหญ่มีเป็นเม็ดทรายปนกรวดที่อัดแน่นสำหรับพื้นที่ที่ที่ดินนั้นเกิดจากการถมดินเช่นกัน จึงมีความผันแปรมากของดินและวัตถุต้นกำเนิดดินตามพื้นที่และความลึก มีความหนาแน่นต่ำถึงค่อนข้างต่ำเนื่องจากมีกรวดมากและส่งผลทำให้พื้นที่แห้งแล้งเนื่องจากมีการระบายน้ำค่อนข้างรวดเร็ว สมบัติทางกายภาพในพื้นที่ขอบบ่อเหมืองและพื้นที่ที่ดินไม่เหมาะสมต่อการขึ้นอยู่ของพันธุ์ไม้ป่า แต่จากการสังเกต พบว่าพันธุ์ไม้ที่ปลูกสามารถเจริญเติบโตได้ โดยเฉพาะไม้สัก สะเดา กระถินณรงค์ กระถินยักษ์ เสลา มะค่าโมง นนทรี เป็นต้น

สมบัติทางเคมีของดินกับการขึ้นอยู่ของพันธุ์ไม้ป่า

สมบัติทางเคมีของดินเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาดิน ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชและความเป็นพิษของธาตุโลหะหนัก (Brady and Weil, 2010) จึงมีความสำคัญต่อการขึ้นอยู่และการเจริญเติบโตของพันธุ์ไม้ดินป่าเต็งรังใกล้เคียงลิคไนต์เป็นกรดเล็กน้อยที่ผิวดินและเป็นกลางในชั้นที่อยู่ลึกลงไป โดยมีอินทรีย์วัตถุ คาร์บอนและไนโตรเจนต่ำ ดินในพื้นที่ขอบบ่อเหมืองและพื้นที่ที่ดินมีปฏิกิริยาดินผันแปรสูง ดินพื้นที่ขอบบ่อเหมืองด้านล่างส่วนใหญ่เป็นกรดรุนแรงมาก พื้นที่ขอบบ่อเหมืองด้านบนมีปฏิกิริยาเป็นกลาง ซึ่งน่าจะเกิดจากการใส่ปูนขาวก่อนการปลูกป่า สำหรับป่าปลูกพื้นที่ทั้งดินพื้นที่ 1 และ 2 นั้นดินบนเป็นกลางและด้านล่างเป็นกรด

มากขึ้น เป็นผลจากการใส่ปูนขาวเช่นกัน แต่ดินบนในป่าปลูกพื้นที่ 3 เป็นกรดจัดมากถึงกรดรุนแรงมากและดินล่างเป็นกรดรุนแรงมากที่สุด ซึ่งพบว่าไม้สักและกระถินเทพาอายุ 18 ปี มีการยืนต้นตายค่อนข้างมาก น่าจะเกิดจากรากพืชไซซอนลงไปและดูดกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) หรือสารโลหะหนัก เนื่องจากในพื้นที่เหมืองถ่านหินมีไพไรต์ (pyrite, FeS_2) ปะปนอยู่ในชั้นหินมากและเมื่อเปิดหน้าดินออกหรือขุดขึ้นมาจะทำให้วัตถุต้นกำเนิดดินเป็นกรดรุนแรงมาก โดยไพไรต์ทำปฏิกิริยากับน้ำเป็นกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เกิดเป็นกรดรุนแรงและส่งผลต่อสิ่งแวดล้อม (Bradshaw and Chadwick, 1980) และเป็นปัญหาที่สำคัญในการปลูกป่าฟื้นฟูที่ดินเหมืองถ่านหินเพราะทำให้กล้าไม้ที่ปลูกรอดตายน้อยหรือต้นไม้มีการเจริญเติบโตช้าและยังทำให้ต้นไม้ตายถ้าดูดซับกรดซัลฟิวริกมากเกินไป

ขอบบ่อเหมืองด้านล่างที่พบเศษลิคไนต์มีอินทรีย์วัตถุ คาร์บอนและไนโตรเจนในดินล่างสูงมากกว่าดินบน ซึ่งเป็นผลจากเศษลิคไนต์ ในพื้นที่ที่ดินนั้นอาจจะเกิดจาก 2 สาเหตุ คือ การสลับดินชั้นบนลงไปอยู่ในดินชั้นล่างจากกระบวนการทิ้งดินและเศษลิคไนต์ที่ปะปนอยู่ การผันแปรตามความลึกของดินของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมที่สามารถสกัดได้อาจจะเกิดจากการสลับชั้นดินและวัตถุต้นกำเนิดดินในกระบวนการทิ้งดิน พัทธินดา (2554) ศึกษาดินป่าเต็งรังพื้นที่หินแกรนิต พบว่า มีความหนาแน่นปานกลางถึงค่อนข้างสูง เนื้อดินเป็นดินทรายปนร่วน ร่วนปนทราย ร่วนเหนียวปนทราย ร่วนเหนียวและดินเหนียว ดินเป็นกรดจัดถึงเป็นกลาง มีอินทรีย์วัตถุต่ำมากถึงปานกลาง ไนโตรเจนมีค่าต่ำมาก ฟอสฟอรัสและแคลเซียมมีค่าต่ำถึงต่ำมาก โพแทสเซียมและแมกนีเซียมมีค่าต่ำมากถึงปานกลาง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับพื้นที่ป่าเต็งรังที่ได้ศึกษาวรรลักษณ์ (2554) พบว่า ดินบนในป่าเต็งรังพื้นที่หินตะกอนเป็นดินทรายปนร่วนถึงร่วนปนทราย ดินล่างเป็นดินทรายปนร่วนถึงร่วนเหนียวปนทราย มีความหนาแน่นสูงถึงสูงมาก เป็นกรดเล็กน้อยถึงปานกลาง อินทรีย์วัตถุมีค่าต่ำมากถึงสูง ฟอสฟอรัสมีค่าต่ำถึงค่อนข้างสูง โพแทสเซียมและแคลเซียมมีค่าต่ำมากถึงปานกลางและแมกนีเซียมมีค่าต่ำถึงสูง ซึ่งมีค่าที่สูงกว่าดินป่าเต็งรังที่

ศึกษาเนื่องจากมีชนิดหินและแร่ที่พาดพิงมาทับถมแตกต่างกัน ข้อเสนอแนะในการฟื้นฟูและปรับปรุงดินในพื้นที่เหมืองแร่ที่มีสมบัติทางกายภาพและเคมีไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพันธุ์ไม้ควรใส่ปุ๋ยเพื่อปรับปรุงปฏิกิริยาดินให้เหมาะสมก่อนจะปลูกพืช ในการคัดเลือกชนิดพันธุ์ไม้ที่จะปลูกต้องเป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตเร็ว ทนแล้ง และสภาพความเป็นกรด ซึ่งพันธุ์ไม้ที่ปลูก ได้แก่ ต้นสัก สะเดา กระถินณรงค์ เสลา และกระถินยักษ์ ค่อนช้างเจริญเติบโตได้ดี แต่ควรเลือกพันธุ์ไม้ชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติมทั้งพันธุ์ไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ขนาดกลาง ขนาดเล็ก ไม้พุ่ม และพืชพื้นล่างเพื่อทำให้สังคมพืชเกิดความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้มากขึ้น

สรุป

ดินป่าเต็งรังใกล้เหมืองลิกไนต์บ้านปูมีความหนาแน่นปานกลางและกรวดหินมาก ปฏิกริยาเป็นกลาง แต่มีอินทรีย์วัตถุและความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ดินในพื้นที่เหมืองแร่มีชั้นดินสลับกัน ซึ่งเกิดจากการนำดิน หินผุและก้อนหินจากบ่อเหมืองไปถมเป็นเนิน สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินมีความผันแปรมากตามพื้นที่และชั้นดิน ดินขอบบ่อเหมืองด้านล่างที่พบลิกไนต์เป็นกรดรุนแรงมาก จนถึงกรดรุนแรงมากที่สุด แต่ขอบบ่อเหมืองด้านบนมีการใส่ปุ๋ยขาวจึงทำให้ดินค่อนข้างเป็นกลาง ดินบนมีอินทรีย์วัตถุ คาร์บอนและไนโตรเจนต่ำ แต่ดินล่างอาจจะมีค่าสูงกว่าดินบนซึ่งเกิดจากการสลับชั้นดิน เช่นเดียวกับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมที่สามารถสกัดได้ที่มีความผันแปรมากตามความลึก สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินในเหมืองแร่ลิกไนต์บ้านปูส่งผลต่อการรอดตายและการเจริญเติบโตของพันธุ์ไม้ป่าที่ปลูก บางพื้นที่มีต้นไม้ยืนต้นตายอยู่เป็นกลุ่ม แต่ในบางพื้นที่ต้นไม้สามารถเจริญเติบโตได้ พันธุ์ไม้ที่ปลูกฟื้นฟูที่ดินเหมืองแร่บริเวณนี้สามารถทนแล้งและขึ้นบนดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ซึ่งเป็นกรดจัดมากหรือกรดรุนแรงมาก

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเหมืองแร่ลิกไนต์บ้านปู อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน ที่สนับสนุนงบประมาณ อำนาจความสะดวกและเอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ชาญยุทธ รัตนพรหมมณี กวีพร จินะจันตาและอรรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง. 2560. ผลของลิโอเนาร์โดต์ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและผลผลิตข้าว. วารสารเกษตร 33(2): 215-224.
- พัชนีดา วงศ์นามอินทร์. 2554. การประเมินความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ สภาพป่าและปริมาณคาร์บอนสะสมในระบบนิเวศป่าเต็งรังบนพื้นที่หินแกรนิตบริเวณอุทยานไม้กลายเป็นหิน อำเภอบ้านตาก จังหวัดตาก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 116 หน้า.
- วรลักษณ์ เนียมพูลทอง. 2554. ความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ ลักษณะดินและการสะสมธาตุอาหารในระบบนิเวศป่าไม้ที่เป็นหินตะกอนบริเวณวนอุทยานไม้กลายเป็นหิน จังหวัดตาก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 132 หน้า.
- Bradshaw, A. D. and M. J. Chadwick. 1980. The restoration of land. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 317 p.
- Brady, N.C. and R.R. Weil. 2010. Elements of the nature and properties of soils. Pearson Education, New Jersey. 614 p.
- Bremner, J.M. and C.S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-total. pp. 595-624. In: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (eds.). Methods of Soil Analysis Part 2-Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. American Society of Agronomy Publisher, Madison, Wisconsin.

- Fisher R. F. and D. Binkley. 2000. Ecology and management of forest soils. John Wiley and Sons, New York, 489p.
- Kimmins, J. P. 2004. Cycling of nutrients in ecosystem. pp. 72-138. *In*: J.P. Kimmins (ed.). Forest Ecology: A foundation of sustainable forest management and environmental ethics in forestry. 3rd ed. Pearson Education, London.
- Knudsen, D., G.A. Peterson and P.F. Pratt. 1982. Lithium, sodium and potassium. pp. 225-246. *In*: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (eds.). Methods of Soil Analysis Part 2-Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Land Classification Division. 1973. Soil Interpretation Handbook for Thailand. Department of Land Development, Bangkok.
- Lanyon, L.E. and W.R. Heald. 1982. Magnesium, calcium, strontium and barium. pp. 247-262. *In*: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (eds.). Methods of Soil Analysis Part 2-Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. pp. 539-580. *In*: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (eds.). Methods of Soil Analysis Part 2-Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Olsen, S. R. and L. E. Sommers. 1982. 24: Phosphorus. pp: 403-430. *In*: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (eds.). Methods of Soil Analysis Part 2-Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Soil Survey Division. 1993 Soil survey manual US. Dept. of Agr. Handbook No. 18. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
-

ศักยภาพน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสในการไล่ด้วงงวงข้าวโพด
Sitophilus zeamais (Motschulsky)

Potential of Eucalyptus Essential Oil to Repel Maize Weevil
Sitophilus zeamais (Motschulsky)

จิรวัดน์ เอี่ยมใจดี¹ ปภพ สินชยกุล^{1*} และ วิชัย สรพงษ์ไพศาล²

Jirawat Iamjaidee¹, Pabhop Sinchayakul^{1*} and Wichai Sorapongpaisal²

¹ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

¹Department of Entomology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University,
Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

²ศูนย์วิจัยและพัฒนากีฏวิทยาสิ่งแวดล้อม คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

²Environmental Entomology Research and Development Center, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University,
Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: Email: agrsci@ku.ac.th

(Received: 12 March 2018; Accepted: 31 May 2018)

Abstract: The objective of this study was to compare the efficiency of 10 percent eucalyptus oil (*Eucalyptus camaldulensis*) in 5 different solvents composed of hexane, xylene, acetone, propanol and methanol to repel maize weevil, *Sitophilus zeamais* using alternative test method on a Petri dish with a lid. The result found that the maize weevil was repelled by eucalyptus oil in all solvents ranged from 86.7 - 100.0 percent at 2 - 24 hours and not a significant difference. The repellent efficacy of eucalyptus oil dissolved in acetone at the concentration of 10 percent was ranged from 95.0 - 100.0 percent from 2 - 24 hours. The contact toxicity of eucalyptus oil dissolved in acetone determined by median lethal concentration (LC₅₀ and LC₉₉) at 6 hours was 26.08 and 36.74 percent (v/v).

Keywords: Repellent, eucalyptus essential oil, maize weevil

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการไล่ด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) ของน้ำมันยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) ในตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ เฮกเซน ไสลีน อะซิโตน โพรพานอล และเมทานอล โดยทดสอบแบบมีทางเลือกบนจานแก้วที่มีฝาปิด พบว่า น้ำมันยูคาลิปตัสความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ในตัวทำละลายทุกชนิด มีอัตราการไล่แมลงได้ดีในช่วง 86.7 - 100.0 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 2 - 24 ชั่วโมง ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ประสิทธิภาพของน้ำมันยูคาลิปตัสต่อการไล่ด้วงงวงข้าวโพด โดยมีอะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการไล่ได้ดีต่อเนื่องตั้งแต่ 2 - 24 ชั่วโมง อยู่ในช่วง 95.0 - 100.0 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นพิษทางการสัมผัสของน้ำมันยูคาลิปตัสที่ละลายในอะซิโตน มีค่า LC_{50} และ LC_{99} เท่ากับ 26.08 และ 36.74 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

คำสำคัญ: การไล่ น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส ด้วงงวงข้าวโพด

คำนำ

ด้วงงวงข้าวโพด *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) เป็นหนึ่งในศัตรูที่สำคัญต่อผลิตผลเกษตรในโรงเก็บ พบการระบาดในเขตร้อน และเขตกึ่งร้อน (Throne, 1994) ลงทำลายกัดเจาะเมล็ดธัญพืช และวางไข่ในโพรงที่เจาะ จากนั้นขับสารมีลักษณะเป็นเมือกปิดโพรงไว้ ตัวอ่อนอาศัยและกัดกินภายในเมล็ดจนถึงระยะตัวเต็มวัย ทำให้เมล็ดเหลือแต่เปลือกบางพูน สูญเสียคุณค่าทางอาหาร (เสาวลักษณ์, 2547) การเก็บผลิตผลให้คงคุณภาพอยู่ได้นาน ปราศจากแมลงลงทำลาย จำเป็นต้องทำการป้องกันกำจัด ซึ่งมีหลายวิธี เช่น การปรับสภาพแวดล้อม การควบคุมอุณหภูมิ การฉายรังสี กับดักฟีโรโมน ศัตรูธรรมชาติ สารยับยั้งการเจริญเติบโต (Philips and Throne, 2010) พันธุ์ต้านทาน (Nhamucho *et al.*, 2017) แต่วิธีที่นิยมใช้ คือ สารเคมี เช่น สารมาลาไทออน (เนตรนภา และคณะ, 2554) ฟอสเฟน (Athanasios *et al.*, 2016) เดลต้า เมทริน (Vélez *et al.*, 2017) และใช้เทคนิคการรมเป็นหลัก เนื่องจากสามารถทำลายแมลงศัตรูได้ทุกชนิด มีความคงทนสูง (เพ็ญภา, 2556) แต่ทว่าสารเคมีที่ใช้มีความเป็นพิษสูงต่อมนุษย์ ตกค้างในสภาพแวดล้อม และแมลงสามารถสร้างความต้านทานต่อสารได้ (ชาวลิต, 2556; Daglish *et al.*, 2014) เพื่อเป็นการลดความกังวลด้านสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม รวมทั้งรองรับความต้องการอาหารปลอดภัย วิธีการป้องกันกำจัดโดยใช้สารสกัด หรือน้ำมันหอมระเหยจากพืช จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สำคัญพืชหลายชนิดมีองค์ประกอบสารสำคัญที่มีศักยภาพต่อ

การควบคุมแมลง เช่น จันทร์แปดกลีบ เทียนข้าวเปลือก (กวีวัฒน์ และคณะ, 2557) ว่านหางจระเข้ (ปิ่นรส, 2559) ยาสูบ (ศุภกร และคณะ, 2560) และ ชิง (Ukeh *et al.*, 2009) เป็นต้น และมีความเป็นพิษน้อยมากต่อสัตว์เลือดอุ่น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยูคาลิปตัส น้ำมันยูคาลิปตัสมีฤทธิ์เป็นสารป้องกันกำจัดแมลงหลายรูปแบบ คือ เป็นพิษแบบสัมผัส (Tapondjou *et al.*, 2005) รมควัน (Yi *et al.*, 2007) ยับยั้งการวางไข่ สารไล่ และยับยั้งการกินอาหาร (Batish *et al.*, 2008) สามารถพบได้ทั่วไปในทุกท้องถิ่น และมีศักยภาพในการป้องกันกำจัดแมลงที่เข้าทำลายเมล็ดธัญพืชได้ดี (Jesser *et al.*, 2017) เช่นเดียวกับสารสกัดจาก สะเดา (Tofel *et al.*, 2017) ละหุ่ง (Wale and Assegie, 2015) ส้ม และ มะนาว (Fouad and da Camara, 2017) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) ในสารตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ในลักษณะของการเป็นสารไล่แมลงในด้วงงวงข้าวโพดมีรายงานน้อยมาก จึงทำการศึกษาศักยภาพน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสในสารตัวทำละลาย 5 ชนิดต่อการไล่ด้วงงวงข้าวโพด ขึ้นเพื่อเป็นแนวทางในการใช้น้ำมันยูคาลิปตัสในแมลงศัตรูโรงเก็บต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมน้ำมันยูคาลิปตัส

สกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส ที่ปลูกบริเวณภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ในเดือนเมษายน 2559

จำนวน 20 กิโลกรัม ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) บรรจุในขวดแก้วสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18 ± 3 องศาเซลเซียส คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยโดยใช้สูตร % (volume of essential oils (ml) / dried weight of eucalyptus leaves) x 100 (ศศธร, 2550)

การเตรียมแมลงเพื่อใช้ในการทดลอง

ตัวเต็มวัยด้วงวงข้าวโพด ซึ่งได้รับจากห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตภัณฑ์เกษตร กรมวิชาการเกษตร นำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยข้าวกล้อง ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 28 ± 3 องศาเซลเซียส (ภาวิณี, 2548) จนเป็นตัวเต็มวัย (อายุ 7 - 14 วัน) ในขวดแก้วกว้าง 8.5 สูง 16 เซนติเมตร เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

การศึกษาศักยภาพตัวทำลายน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสต่อการไล่ด้วงวงข้าวโพด

ตัดกระดาษกรอง (Whatman No.1) เส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร พื้นที่ 63.64 ตารางเซนติเมตร ออกเป็น 2 ส่วนเท่ากัน หยดน้ำมันยูคาลิปตัสความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ในตัวทำลาย เฮกเซน ไชลีน อะซิโตน โพรพานอล และ เมทานอล ปริมาณ 1 มิลลิตร ส่วนกระดาษอีกครึ่งหนึ่งหยดตัวทำลายแต่ละชนิดเป็นชุดควบคุม ผึ่งไว้ให้แห้ง 10 นาที ต่อกกระดาษกรองทั้งสองด้วยเทปกาไล วางในงานเพาะเชื้อที่มีฝาปิด ปลอ่ยตัวเต็มวัยด้วงวงข้าวโพด 20 ตัว (อายุ 7 - 14 วัน) ตรงกลางทดลองในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส ตามกรรมวิธีที่พัฒนาจากวิธีการของ ศศธร (2550) และ ชัยรัตน์ (2544) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ทดลอง 4 ซ้ำ บันทึกผลที่เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง คำนวณเปอร์เซ็นต์การไล่แมลง (%PR) โดยใช้สูตร ดังนี้

$$\%PR = [(Nc - Nt) / (Nc + Nt)] \times 100$$

Nt = จำนวนแมลงในบริเวณที่ใส่สาร

Nc = จำนวนแมลงในบริเวณชุดควบคุม

และทำการจัดระดับการไล่ด้วงวงข้าวโพด เป็น 0-5 ระดับ ดังนี้

Level	0	PR<0.1%	III	40.1 - 60%
	I	0.1 - 20 %	IV	60.1 - 80%
	II	20.1 - 40%	V	80.1 - 100%

การศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสต่อการไล่ด้วงวงข้าวโพด

ตัดกระดาษกรอง (Whatman No.1) เส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร พื้นที่ 63.64 ตารางเซนติเมตร ออกเป็น 2 ส่วนเท่ากัน หยดน้ำมันยูคาลิปตัสในตัวทำลายที่ผ่านการคัดเลือกจากข้างต้น ปริมาณ 1 มิลลิตร ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกระดาษอีกครึ่งหนึ่งเป็นชุดควบคุม คือสารตัวทำลาย ผึ่งไว้ 10 นาทีเพื่อให้แห้ง ต่อกันด้วยเทปกาไล วางในงานเพาะเชื้อที่มีฝาปิด ปลอ่ยตัวเต็มวัยด้วงวงข้าวโพด 20 ตัว (อายุ 7 - 14 วัน) ตรงกลาง ทำเช่นเดียวกันในการทดสอบกับความเข้มข้น 8, 9, 10, 11, 12 และ 13 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส ตามวิธีการที่พัฒนาจากวิธีการของชัยรัตน์ (2544) และ Yang *et al.* (2014) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทดลอง 4 ซ้ำ บันทึกผลที่เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง คำนวณเปอร์เซ็นต์การไล่แมลง (%PR)

การทดสอบความเป็นพิษ (toxicity) ของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสต่อด้วงวงข้าวโพด

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ในการทดสอบพิษทางสัมผัส โดยเตรียมน้ำมันยูคาลิปตัส ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ในอะซิโตนปริมาณ 1 มิลลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง (Whatman No.1) เส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร พื้นที่ 63.64 ตารางเซนติเมตร ปลอ่ยทิ้งไว้ 10 นาที ผึ่งให้แห้ง วางในงานเพาะเชื้อที่มีฝาปิด ปลอ่ยตัวเต็มวัยด้วงวงข้าวโพด 20 ตัว (อายุ 7 - 14 วัน) ลงตรงกลาง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทดสอบ 4 ซ้ำ ในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส ตามวิธีการที่พัฒนาจากวิธีการของ Yang *et al.* (2014) และ Herrera *et al.*

(2015) บันทึกผลอัตราการตาย ที่เวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่า LC_{50} และ LC_{99}

วิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$)

ผลการทดลอง

การศึกษาศักยภาพของตัวทำละลายน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสต่อการไล่ด้วงงวงข้าวโพด

ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำมันยูคาลิปตัส 0.325 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และเมื่อทดสอบศักยภาพของตัวทำละลายน้ำมันยูคาลิปตัสต่อการไล่ด้วงงวงข้าวโพด พบว่าอัตราการขับไล่ ด้วงงวงข้าวโพดของน้ำมันยูคาลิปตัส 10 เปอร์เซ็นต์ ในตัวทำละลาย คือ เฮกเซน ไชลีน อะซิโตน โพรพานอล และ เมทานอล ตั้งแต่เวลา 2 - 24 ชั่วโมง มีระดับการไล่ไม่แตกต่างกัน โดยมีค่ากระจายอยู่ในช่วง 86.7 - 100 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับ 5 ของเปอร์เซ็นต์การไล่แมลง ทุกระยะเวลาการบันทึกผล (ตารางที่ 1) และได้เลือกอะซิโตนเป็นตัวทำละลายในการศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส

การศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสต่อการไล่ด้วงงวงข้าวโพด

อัตราการขับไล่ด้วงงวงข้าวโพดของน้ำมันยูคาลิปตัสในอะซิโตน โดยเฉลี่ยที่ 2 ชั่วโมงแรก ความเข้มข้น 8, 9, 10 และ 11 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการไล่สูงสุดอยู่ในช่วง 97.5 - 100.0 เปอร์เซ็นต์ ช่วงเวลา 4 และ 6 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 10 และ 11 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการไล่แมลง 97.5 - 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเวลา 8 ชั่วโมงความเข้มข้น 8 - 11 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการไล่แมลงอยู่ในช่วง 90.0 - 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 10 ชั่วโมง ความเข้มข้น 9, 10, 11, 12 และ 13 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการไล่แมลง 95.0 - 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพการไล่ได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ อยู่ในช่วง 92.5 - 100 เปอร์เซ็นต์ และเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 8 - 13 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการไล่อยู่ในช่วง 87.5 - 97.5 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2) อัตราการขับไล่ด้วงงวงข้าวโพด ตั้งแต่ 2 - 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพการไล่อยู่ในช่วง 75.0 - 100 เปอร์เซ็นต์ โดยความเข้มข้นที่ 10 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการไล่ได้ดีตลอดระยะเวลา 2 - 24 ชั่วโมง

การทดสอบความเป็นพิษ (toxicity) ของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสต่อด้วงงวงข้าวโพด

ผลการศึกษาพิษทางสัมผัสของน้ำมันยูคาลิปตัส ต่อการตายของด้วงงวงข้าวโพด ซึ่งมีอะซิโตนเป็น

Table 1. Percentage of repellency rate of eucalyptus oil on *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) dissolved in different solvents at 2-24 hours

Solvents	Percentage of repellency rate (%) Mean $\pm$ SD at 2 - 24 hours ¹						
	2	4	6	8	10	12	24
Hexane	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	87.5 $\pm$ 9.6 ^{ab}	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	87.5 $\pm$ 5.0 ^a	95.0 $\pm$ 10.0 ^a
Xylene	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	90.0 $\pm$ 0.0 ^{ab}	92.5 $\pm$ 5.0 ^a	92.5 $\pm$ 9.6 ^a	87.5 $\pm$ 9.6 ^a	95.0 $\pm$ 5.8 ^a
Acetone	92.5 $\pm$ 5.0 ^a	92.5 $\pm$ 5.0 ^a	86.7 $\pm$ 9.4 ^b	87.5 $\pm$ 12.6 ^a	90.0 $\pm$ 0.0 ^a	93.3 $\pm$ 9.4 ^a	95.0 $\pm$ 5.8 ^a
Propanol	90.0 $\pm$ 8.2 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	92.5 $\pm$ 5.0 ^{ab}	90.0 $\pm$ 8.2 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	95.0 $\pm$ 10.0 ^a
Methanol	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	92.5 $\pm$ 5.0 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	95.0 $\pm$ 5.8 ^a

¹ Means within column followed by the same letters are not significantly different according to DMRT test ($P<0.05$)

Table 2. Percentage of repellency rate of eucalyptus oil dissolved in acetone on *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) at different concentrations at 2 - 24 hours

Concentration (% v/v)	Percentage of repellency rate (%) Mean $\pm$ SD at 2 - 24 hours ¹						
	2	4	6	8	10	12	24
7	77.5 $\pm$ 5.0 ^c	77.5 $\pm$ 5.0 ^c	80.0 $\pm$ 0.0 ^b	75.0 $\pm$ 10.0 ^c	87.5 $\pm$ 5.0 ^c	92.5 $\pm$ 5.0 ^a	82.5 $\pm$ 5.0 ^b
8	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	82.5 $\pm$ 5.0 ^{bc}	90.0 $\pm$ 8.2 ^{ab}	90.0 $\pm$ 8.2 ^{ab}	90.0 $\pm$ 0.0 ^{bc}	92.5 $\pm$ 5.0 ^a	87.5 $\pm$ 12.6 ^{ab}
9	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	90.0 $\pm$ 10.0 ^{abc}	92.5 $\pm$ 7.6 ^{ab}	97.5 $\pm$ 3.8 ^{ab}	97.5 $\pm$ 3.8 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	90.0 $\pm$ 5.0 ^{ab}
10	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^{ab}	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	95.0 $\pm$ 5.8 ^a
11	92.5 $\pm$ 5.0 ^{ab}	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	92.5 $\pm$ 9.6 ^{ab}	95.0 $\pm$ 5.8 ^{ab}	95.0 $\pm$ 5.8 ^a	95.0 $\pm$ 5.8 ^a
12	85.0 $\pm$ 12.9 ^{bc}	82.5 $\pm$ 20.6 ^{bc}	82.5 $\pm$ 9.6 ^b	85.0 $\pm$ 17.3 ^{abc}	95.0 $\pm$ 5.8 ^{ab}	92.5 $\pm$ 5.0 ^a	95.0 $\pm$ 5.8 ^a
13	82.5 $\pm$ 5.0 ^c	87.5 $\pm$ 12.6 ^{abc}	82.5 $\pm$ 17.1 ^b	82.5 $\pm$ 17.1 ^{bc}	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a	97.5 $\pm$ 5.0 ^a

¹ Means within column followed by the same letters are not significantly different according to DMRT test ($P < 0.05$)

ตัวทำลาย ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม คือ อะซิโตน พบว่า ที่เวลา 2 และ 4 ชั่วโมง หลังได้รับสาร ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการตาย สูงสุด 87.5 และ 96.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ กับความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ที่มีอัตราการตาย 78.8 และ 91.3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ พบอัตราการตายสะสมสูงสุด 100.0 เปอร์เซ็นต์ ชั่วโมงที่ 8 ความเข้มข้น 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการตายสะสมสูงสุด 100.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ที่มีอัตราการตายสะสม 98.8 เปอร์เซ็นต์ ชั่วโมงที่ 12 และ 24 ความเข้มข้น 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ อัตราการตาย สะสมของด้วงงวงข้าวโพด 100.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) และประสิทธิภาพของน้ำมันยูคาลิปตัสในช่วงเวลา 6 ชั่วโมง มีค่า LC₅₀ และ LC₉₉ เท่ากับ 26.08 และ 36.74 เปอร์เซ็นต์ (v/v) (ภาพที่ 1)

วิจารณ์

ผลการสกัดน้ำมันยูคาลิปตัสด้วยวิธีการกลั่น ด้วยไอน้ำเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ปริมาณน้ำมันยูคาลิปตัส 0.325 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นระดับบริเวณปกติ ทั่วไป สอดคล้องกับรายงานของ ชัยรัตน์ (2544) ที่พบ ปริมาณน้ำมันยูคาลิปตัส 0.37 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

จากการสกัดใบยูคาลิปตัสในเดือนสิงหาคม กันยายน พฤศจิกายน และธันวาคม 2542 แต่มีปริมาณน้ำมันน้อยกว่าการสกัดใบยูคาลิปตัสในประเทศอินเดีย ช่วงเดือน พฤษภาคม สิงหาคม พฤศจิกายน 2552 และ กุมภาพันธ์ 2553 ปริมาณน้ำมันยูคาลิปตัส เท่ากับ 0.85, 1.32, 1.42 และ 0.76 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (Jemâa *et al.*, 2012)

น้ำมันยูคาลิปตัสความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ในตัวทำลายทั้ง 5 ชนิดคือ เฮกเซน ไชลีน อะซิโตน โพรพานอล และ เมทานอล มีระดับการไล่ด้วงงวงข้าวโพด ได้ดีไม่แตกต่างกัน อยู่ในระดับ 5 ของเปอร์เซ็นต์การไล่แมลงตั้งแต่วันที่ 2 - 24 ชั่วโมงหลังได้รับสาร ซึ่งสารตัวทำลายที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีระดับความเป็นพิษต่างกัน จากรายงานของ Public Health Service (1999) พบว่า การสัมผัสเฮกเซนเป็นเวลานาน ส่งผลกระทบต่อเส้นประสาทควบคุมกล้ามเนื้อแขน และขา ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรง และเป็นอัมพาต Saillenfait *et al.* (2003) ศึกษาความเป็นพิษของไชลีน พบว่ามีผลกระทบต่อพัฒนาการของเด็กในครรภ์ ซึ่งผลดังกล่าวได้รับการยืนยันจาก Luttrell (2012) รายงานอาการหญิงสาวอายุ 25 ปีที่สัมผัสไชลีนในช่วงที่ 3-16 สัปดาห์ของการตั้งครรภ์ พบว่าทารกที่คลอดออกมามีความผิดปกติ โดย Public Health Service (1994) รายงานข้อมูลทางพิษวิทยา สำหรับอะซิโตน พบว่า เป็นสารเคมีที่พบใน

Table 3. Cumulative mortality (%) $\pm$ SD of *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) on 2 - 24 hours after contacted to eucalyptus oil dissolved in acetone at the concentrations of 10, 20, 30, 40, 50 percent

Concentration n (% v/v)	%Cumulative mortality $\pm$ SD at 2 - 24 hours ¹						
	2	4	6	8	10	12	24
10	0.0 $\pm$ 0.0 ^c	0.0 $\pm$ 0.0 ^c	0.0 $\pm$ 0.0 ^c	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b	0.0 $\pm$ 0.0 ^b
20	1.3 $\pm$ 2.5 ^c	1.3 $\pm$ 2.5 ^c	1.3 $\pm$ 2.5 ^c	2.5 $\pm$ 5.0 ^b	2.5 $\pm$ 5.0 ^b	5.0 $\pm$ 10.0 ^b	10.0 $\pm$ 20.0 ^b
30	53.8 $\pm$ 13.1 ^b	62.5 $\pm$ 13.2 ^b	90.0 $\pm$ 13.5 ^b	98.8 $\pm$ 2.5 ^a	98.8 $\pm$ 2.5 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a
40	78.8 $\pm$ 4.8 ^a	91.3 $\pm$ 4.8 ^a	97.5 $\pm$ 2.9 ^{ab}	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a
50	87.5 $\pm$ 2.9 ^a	96.3 $\pm$ 2.5 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a	100.0 $\pm$ 0.0 ^a

¹ Means within column followed by the same letters are not significantly different according to DMRT test ($P < 0.05$)

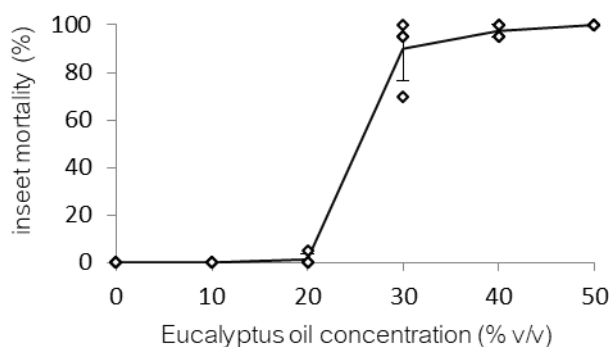


Figure 1. Percentage of maize weevil mortality at 6 hours on various concentrations of eucalyptus oil dissolved in acetone

สภาพแวดล้อมทั่วไป และในร่างกายมนุษย์จากกระบวนการสลายไขมัน ซึ่งอะซิโตนจากแหล่งภายนอกที่เข้าสู่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยสลายได้ แต่ถูกขับออกด้วยกระบวนการหายใจภายใน 3 วันหลังหยุดการสัมผัสสาร และไม่เป็นพิษต่อการทำงานของตับ และ Cosentino *et al.* (2016) รายงานว่าเมทานอลเป็นสารที่มีพิษสูง ผู้ที่สัมผัสสารอาจอยู่ในภาวะพาร์กินสันซึม (parkinsonism) และมีพิษต่อเซลล์ประสาทตา (retinal ganglion cell) (Amat *et al.*, 1978) ซึ่งผลดังกล่าวได้รับการยืนยันจาก Ghanbari *et al.* (2017) พบว่าความเป็นพิษที่เกิดจากเมทานอลเกี่ยวข้องกับภาวะบวมของเซลล์ประสาทตา (retinal ganglion cell) ส่งผลให้สูญเสียการมองเห็น และมีรายงานความเป็นพิษต่อเฮโมโกลบินในวัว (hemoglobin) เช่นเดียวกับสารโพพานอล แต่มี

ความเป็นพิษต่ำกว่า (Jun *et al.*, 2011) นอกจากนี้สารตัวทำละลายเมทานอลมีส่วนเกี่ยวข้องเป็นสารก่อมะเร็งในการทดสอบกับหนู (Parthasarathy *et al.*, 2006: Siu *et al.*, 2013) จากข้อมูลการศึกษา จึงเลือกอะซิโตนเป็นตัวทำละลายในการศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันยูคาลิปตัสต่อการไล่ด้วงงวงข้าวโพด เนื่องจากเป็นสารตัวทำละลายที่มีพิษน้อย เมื่อเทียบกับสารตัวทำละลายชนิดอื่นข้างต้น และนิยมใช้เป็นสารตัวทำละลายในการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัด และน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่อแมลงศัตรูในโรงเก็บ ตัวอย่างเช่น การศึกษาศักยภาพน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชัน ข่า ขิง กะเพรา แมงลัก โหระพา มะกรูด มะนาว กานพลู พริกไทยดำ และดีปลี ในการควบคุมด้วงงวงข้าวโพด และมอดแป้ง (ศศธร, 2550) การศึกษาการออกฤทธิ์ไล่ด้วงงวงข้าวโพดของน้ำมัน

ตะไคร้หอม และ น้ำมันสะเดาช้าง (กนกอร และคณะ, 2558) การศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันยูคาลิปตัส (*Eucalyptus saligna*) ต่อความเป็นพิษในด้วงงวงข้าวโพด และมอดแป้ง (Tapondjou *et al.*, 2005) การทดสอบการออกฤทธิ์ไล่มอดแป้งของ *Nigella sativa* และ *Trachyspermum ammi* (Sagheer *et al.*, 2014) การทดสอบความเป็นพิษของ *Nerium oleander* ใน khapra beetle และ lesser grain borer (Khaliq *et al.*, 2014) และการทดสอบประสิทธิภาพ *Toddalia asiatica* ต่อความเป็นพิษในด้วงถั่วเขียว ด้วงงวงข้าว และมอดแป้ง (Nattudurai *et al.*, 2015)

จากการศึกษาประสิทธิภาพต่อการไล่ พบว่า น้ำมันยูคาลิปตัสในสารตัวทำละลายอะซิโตน ที่ความเข้มข้น 9, 10 และ 11 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการไล่ด้วงงวงข้าวโพดสูงสุด ที่เวลา 2-12 ชั่วโมงหลังได้รับสาร และที่เวลา 24 ชั่วโมง น้ำมันยูคาลิปตัสความเข้มข้น 7, 8, 9, 10, 11, 12 และ 13 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการไล่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 82.5, 87.5, 90.0, 95.0, 95.0, 95.0 และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันยูคาลิปตัส *Eucalyptus globules* ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบอัตราการไล่ด้วงถั่วเขียว 5.0, 13.0, และ 27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Fouad, 2013) และ การศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันยูคาลิปตัส (*E. camaldulensis*) ในการไล่ด้วงงวงข้าวโพด ที่ความเข้มข้น 0.002, 0.02, 0.2 และ 2 ไมโครลิตร บนกระดาศกรองเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.8 เซนติเมตร พบอัตราการไล่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เท่ากับ 10.51, 12.12, 41.97 และ 74.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Karemu *et al.*, 2012)

ผลการศึกษาระดับความเป็นพิษต่อด้วงงวงข้าวโพดของน้ำมันยูคาลิปตัสในตัวทำละลายอะซิโตน ที่ 6 ชั่วโมง พบอัตราการตายสูงถึงระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า LC_{50} และ LC_{99} เท่ากับ 26.08 และ 36.74 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีความเป็นพิษน้อยกว่า Bett *et al.* (2017) ที่ศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันยูคาลิปตัส (*E. saligna*) ทางสัมผัสต่อด้วงงวงข้าวโพด มีค่าความเป็นพิษ LC_{50} เท่ากับ 0.21 เปอร์เซ็นต์ (v/w) และผลการศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันยูคาลิปตัส (*E. saligna*) ต่อด้วงงวงข้าวโพด ทางสัมผัสบนกระดาศกรองพื้นที่ 38.5 ตารางเซนติเมตร ที่มี

ค่าความเป็นพิษ LC_{50} และ LC_{99} เท่ากับ 0.36 และ 1.33 ไมโครลิตรต่อตารางเซนติเมตร (Tapondjou *et al.*, 2005)

สรุป

น้ำมันยูคาลิปตัสในตัวทำละลายเอทิลอะซิโตน โพรพานอล และเมทานอลที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพในการไล่ด้วงงวงข้าวโพดได้ดี ในช่วง 86.7 - 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อละลายในอะซิโตน ระดับความเข้มข้น 7, 8, 9, 10, 11, 12 และ 13 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการไล่ด้วงงวงข้าวโพดสูงสุดอยู่ในช่วง 95.0 - 100.0 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาทดสอบ และมีค่าความเป็นพิษ LC_{50} และ LC_{99} เท่ากับ 26.08 และ 36.74 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่เวลา 6 ชั่วโมง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กลุ่มงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี หลังการเก็บเกี่ยว สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุน และภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่อำนวยความสะดวกที่ เรือนปฏิบัติการกีฏวิทยา ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กนกอร วุฒิวังศ์ อรัญ งามผ่องใส และ เขียวลักษณ์ จันทร์บาง. 2558. การออกฤทธิ์ขับไล่ด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) ของน้ำมันจากพืชบางชนิด. แก่นเกษตร 43(1)(พิเศษ): 145-150.
- กวีวัฒน์ จาวสุวรรณวงษ์ จรงค์ศักดิ์ พุ่มนวม และ อำมร อินทร์สังข์. 2557. ประสิทธิภาพการไล่และการยับยั้งการวางไข่ของสูตรน้ำมันหอมระเหยจากจันทร์แปดกลีบ (*Illicium verum*) และเทียนข้าวเปลือก (*Anethum graveolens*) ต่อตัวเต็ม

- วัยของด้วงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*).
วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 32(2): 41-47.
- ชวลิต จิตน์นั. 2556. ความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนและประสิทธิภาพของฟีโรโมนที่มีต่อสายพันธุ์ต้านทานและสายพันธุ์อ่อนแอของมอดแป้ง *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 65 หน้า.
- ชัยรัตน์ จันทร์หนู. 2544. ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) ต่อแมลงศัตรูในโรงเก็บบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 86 หน้า.
- เนตรนภา ศรีสองสม เยาวลักษณ์ จันทร์บาง และ ไสว นูรณพานิชพันธุ์. 2554. ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิดและการใช้ร่วมกับดินเบาในการกำจัดมอดแป้งจากโรงเก็บข้าวโพด. วารสารเกษตร 27(2): 155-164.
- ปณรสี สุศิริรัตน์. 2559. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ในการควบคุมหนอนใยผัก. วารสารเกษตร 32(3): 369-378.
- เพ็ญณา กิตติวุฒิจริญ. 2556. การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยน้ำส้มสายชูหมัก และฟอสฟีนภายใต้ความชื้นสูง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 96 หน้า.
- ภาวิณี อาสน์สุวรรณ. 2548. ผลของอุณหภูมิที่มีต่อวงจรชีวิต อัตราการขยายพันธุ์ของด้วงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) และประสิทธิภาพของแต่นเปียนหนอน (*Theocolax elegans* Westwood). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 160 หน้า.
- ศศธร สิงขรอาจ. 2550. ประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมด้วงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) และมอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) ในข้าวสาร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ. 151 หน้า.
- ศุภกร วงศ์สุข เยาวลักษณ์ จันทร์บาง และ จิราพร กุลสาริน. 2560. ประสิทธิภาพเศษใบ และก้านใบยาสูบในการควบคุมแมลงศัตรูผักบางชนิด. วารสารเกษตร 33(3): 367-376.
- เสาวลักษณ์ ไชยชมภู. 2547. การใช้คลื่นเสียงตรวจสอบการเจริญเติบโต การเข้าทำลาย และพฤติกรรมของด้วงวงข้าวโพด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 52 หน้า.
- Amat, G. M., K. E. McMartin, S. S. Hayreh, M. S. Hayreh and T. R. Tephly. 1978. Methanol poisoning: Ocular toxicity produced by formate. Toxicology and Applied Pharmacology 45(1): 201-208.
- Athanassiou, C. G., C. I. Rumbos, M. Sakka and V. Sotiroudas. 2016. Insecticidal efficacy of phosphine fumigation at low pressure against major stored-product insect species in a commercial dried fig processing facility. Crop Protection 90: 177-185.
- Batish, R. D., H. P. Singh, R. K. Kohli and S. Kaur. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology and Management 256: 2166-2174.
- Bett, P. K, A. L. Deng, J. O. Ogendero, S. T. Kariuki, M. Kamatenesi-Mugisha, J. M. Mihale and B. Torto. 2017. Residual contact toxicity and repellence of *Cupressus lusitanica* Miller and *Eucalyptus saligna* Smith essential oils against major stored product insect pests. Industrial Crops & Products 110: 65-74.
- Cosentino, C., L. Torres and L. Apaza. 2016. Methanol-induced parkinsonism. Basal Ganglia 6: 23-24.

- Daglish, G. J., M. K. Nayak and H. Pavic. 2014. Phosphine resistance in *Sitophilus oryzae* (L.) from eastern Australia: Inheritance, fitness and prevalence. *Journal of Stored Products Research* 59: 237-244.
- Fouad, H. A. 2013. Effect of five essential oils as repellents against the cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (F.). *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences* 2(5): 23-27.
- Fouad, H. A. and C. A. G. da. Camara. 2017. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research* 73: 30-36.
- Ghanbari, A., M. Ghareghani, K. Zibara, H. Delaviz, E. Ebadi and M. H. Jahantab. 2017. Light-Emitting Diode (LED) therapy improves occipital cortex damage by decreasing apoptosis and increasing BDNF-expressing cells in methanol-induced toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 89: 1320-1330.
- Herrera, J. M., M. P. Zunino, J. S. Dambolena, R. P. Pizzolitto, N. A. Gañan, E. I. Lucini and J. A. Zygadlo. 2015. Terpene ketones as natural insecticides against *Sitophilus zeamais*. *Industrial Crops and Products* 70: 435-442.
- Jemâa, J. M. B., S. Haouel, M. Bouaziz and M. L. Khouja. 2012. Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. *Journal of Stored Products Research* 48: 61-67.
- Jesser, E.N., J.O. Werdin-González, A.P. Murray and A.A. Ferrero. 2017. Efficacy of essential oils to control the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 20: 1122-1129.
- Jun, C., Y. Xue, R. Liu and M. Wang. 2011. Study on the toxic interaction of methanol, ethanol and propanol against the bovine hemoglobin (BHb) on molecular level. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 79: 1406-1410.
- Karemu, C. K., M. Ndungu and M. Githua. 2013. Evaluation of repellent effects of the oils from *Eucalyptus camaldulensis* (Schlecht) and *Eucalyptus globulus* (Labill.) against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). *Tanzania Journal of Natural & Applied Sciences* 4(2): 626-633.
- Khaliq, A., M. Javed, M. H. Ahmad, M. Yasir, M. Sagheer and Mansoor-ul-Hasan. 2014. Biocidal and repellent effect of *Saccharopolyspora spinosa* and *Nerium oleander* extract against stored product pests. *Basic Research Journals* 3(6): 49-54.
- Luttrell, W. E. 2012. Toxic tips: Xylene. *Journal of Chemical Health and Safety* 19(2): 34-35.
- Nattudurai, G., S. S. Irudayaraj, M. G. Paulraj, K. Baskar and S. Ignacimuthu. 2015. Insecticidal and repellent activities of *Toddalia asiatica* (L.) Lam. extracts against three major stored product pests. *Entomology, Ornithology & Herpetology: Current Research* 4: 2, doi: 10.4172/2161-0983.1000148.
- Nhamucho, E., S. Mugo, L. Gohole, T. Tefera, M. Kinyua and E. Mulima. 2017. Resistance of selected Mozambican local and improved

- maize genotypes to maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). Journal of Stored Products Research 73: 115-124.
- Parthasarathy, N. J., R. S. Kumar, S. Manikandan and R. S. Devi. 2006. Methanol-induced oxidative stress in rat lymphoid organs. Journal of Occupational Health 48(1): 20-27.
- Public Health Service. 1994. Toxicological Profile for Acetone. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia. 245 p.
- Public Health Service. 1999. Toxicological Profile for n-Hexane. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia. 221 p.
- Sagheer, M., Mansoor-ul-Hasan, M. Najam-ul-Hassan, M. Farhan, F. Z. A. Khan and A. Rahman. 2014. Repellent effects of selected medicinal plant extracts against rust-red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Entomology and Zoology 2(3): 107-110.
- Saillenfait, A. M., F. Gallissot, G. Morel and P. Bonnet. 2003. Developmental toxicities of ethylbenzene, ortho-, meta-, para-xylene and technical xylene in rats following inhalation exposure. Food and Chemical Toxicology 41: 415-429.
- Siu, M. T., A. M. Shapiro, M. J. Wiley and P. G. Wells. 2013. A role for glutathione, independent of oxidative stress, in the developmental toxicity of methanol. Toxicology and Applied Pharmacology 273: 508-515.
- Tapondjou, A. L., C. Adler, D. A. Fontem, H. Bouda and C. Reichmuth. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium confusum* du Val. Journal of Stored Products Research 41: 91-102.
- Throne, J.E. 1994. Life history of immature *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on corn stored at constant temperatures and relative humidity in the laboratory. Environmental Entomology 23(6): 1459-1471.
- Tofel, K. H., P. Kosma, M. Stähler, C. Adler and E. N. Nukenine. 2017. Insecticidal products from *Azadirachta indica* and *Plectranthus glandulosus* growing in Cameroon for the protection of stored cowpea and maize against their major insect pests. Industrial Crops & Products 110: 58-64.
- Ukeh, D. A., M. A. Birkett, J. A. Pickett, A. S. Bowman and A. J. M. Luntz. 2009. Repellent activity of alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. Phytochemistry 70: 751-758.
- Vélez, M., W. F. Barbosa, J. Quintero, M. Chediak and R. N. C. Guedes. 2017. Deltamethrin- and spinosad-mediated survival, activity and avoidance of the grain weevils *Sitophilus granarius* and *S. zeamais*. Journal of Stored Products Research 74: 56-65.
- Wale, M. and H. Assegie. 2015. Efficacy of castor bean oil (*Ricinus communis* L.) against maize weevils (*Sitophilus zeamais*) in northwestern Ethiopia. Journal of Stored Products Research 63: 38-41.
- Yang, K., C. F. Wang, C. X. You, Z. F. Geng, R. Q. Sun, S. S. Guo, S. S. Du, Z. L. Liu and Z. W. Deng. 2014. Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product

insects. Journal of Asia-Pacific Entomology
17(3): 459-466.

Yi, C.G., M. Kwon, T. T. Hieu, Y. S. Jang and Y. J. Ahn. 2007. Fumigant toxicity of plant essential oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Asia-Pacific Entomology 10(2): 157-163.

Efficacy of Neem Seed Kernel Extract on Oviposition Deterrence of
Bactrocera dorsalis (Hendel) and *Bactrocera correcta* (Bezzi) on Guava Plantation

ประสิทธิภาพของสารสกัดเมล็ดสะเดาต่อการยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้
และแมลงวันผลฝรั่งในแปลงปลูกฝรั่ง

Tshetrim^{1, 3}, Pabhop Sinchayakul^{1*} and Lop Phavaphutanon²
ทชีทริม^{1, 3} ปภพ สินชัยกุล^{1*} และ ลพ ภาวภูตานนท์²

¹Department of Entomology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Nakhon Pathom 73140, Thailand

¹ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

²Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Nakhon Pathom 73140, Thailand

²ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

³Agriculture Research and Development Centre, Department of Agriculture, Wengkar, Mongar, Bhutan

³ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เวียงคา มงคา ประเทศภูฏาน

*Corresponding author: Email: agrsci@ku.ac.th

(Received: 9 February 2018; Accepted: 31 May 2018)

บทคัดย่อ: แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) และแมลงวันผลฝรั่ง *Bactrocera correcta* (Bezzi) เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อไม้ผลอย่างมาก จึงได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ความเข้มข้น ความคงทน และความทนทานต่อแสงแดด ต่อการยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ขึ้น ผลการทดสอบสารสกัดสะเดาที่สกัดด้วยสารทำละลาย 7 ชนิดที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 พบว่าเอทิลอะซิเตท เมทิลแอลกอฮอล์ และเฮกเซนเอทิลอะซิเตทผสมกับเมทานอลมีประสิทธิภาพมากที่สุด อย่างไรก็ตาม สารสกัดสะเดามีความคงทนอยู่ได้เพียงวันเดียวภายใต้สภาพแปลง การเพิ่มความเข้มข้นจากร้อยละ 20 เป็น 50 ไม่ได้ยับยั้งการวางไข่ของแมลงได้อย่างสมบูรณ์ หรือเพิ่มความคงทนของสารสกัดสะเดาจากเอทิลอะซิเตทหรือเมทานอลแต่อย่างใด นอกจากนี้การใช้สารช่วยเพิ่มความทนทานต่อแสงแดด คือ 8-hydroxyquinoline และ tert-butylhydroquinone นั้น แม้ว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการวางไข่ แต่ไม่ได้เพิ่มความทนทานของสารสกัดสะเดาจากเอทิลอะซิเตทที่ความเข้มข้น 20% ภายใต้สภาพแปลง การสลายตัวเมื่อถูกแสงยังคงเป็นอุปสรรคสำคัญต่อประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาที่ใช้ในสภาพแปลง

คำสำคัญ: แมลงวันผลไม้ แมลงวันผลฝรั่ง สารสกัดสะเดา การยับยั้งการวางไข่

Abstract: Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) and guava fruit fly, *Bactrocera correcta* (Bezzi) causes significant damage to the fruit crops. The field efficacy of different neem extracts, concentrations, persistence and photostability of neem extracts on oviposition deterrence were evaluated. Amongst the seven different neem extracts tested at 20% concentration, ethyl acetate, methanol and hexane+ethyl acetate+methanol extracts were most effective. However, the persistence of the neem extract was only one day under field condition. The increase in concentration from 20 to 50% neither provided complete deterrence nor enhanced the persistence of ethyl acetate or methanol neem extract. Moreover, the use of photostabilizer, 8-hydroxyquinoline, and tert-butylhydroquinone although effective, did not enhance the persistence of 20% ethyl acetate neem extract under field condition. The photo degradation of neem extracts remains a substantial impediment to field efficacy.

Keywords: *Bactrocera dorsalis*, *Bactrocera correcta*, fruit fly, neem, oviposition deterrence

Introduction

Fruit flies (Tephritidae, Diptera) are an economically important insect pest of over 4,000 species causing significant damage to the fruits and vegetable crops. Amongst many fruit flies, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) and *B. correcta* (Bezzi) are one of the most widely distributed and destructive pest to agriculture (Drew and Raghu, 2002; Singh, 2003). It is highly polyphagous with multiple overlapping life cycles occurring in the tropics and seasonal appearance in the temperate zones (Shi *et al.*, 2005; Ye and Liu, 2005). This fruit flies damage fruits by laying eggs inside the pulp where the larva feeds and makes it completely unconsumable or unmarketable. The damage ranges from 57 to 92.5% in fruit crops (José *et al.*, 2013) with an estimated annual economic loss of about US\$ 3-15 million (Vargas *et al.*, 2008).

Several control techniques were developed, however, their use was limited because of the high dispersal potential, multi-generation ability, dynamic population pattern and vast continental environment (Chen and Ye, 2007; Chen *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2005; Ye and Liu, 2005). Besides, the conventional

chemical control poses a serious threat to both human and the environment. As complete fruit fly control was difficult, numerous research explored plant bioactive on oviposition deterrence. In many *in vitro* studies, neem seed kernel extract (NSKE) was the most effective in deterring oviposition compared to other plant extracts (Areekul *et al.*, 1988; Thakur and Gupta, 2013). It was also more effective than the commercial neem as it contained other compounds besides azadirachtin (Silva *et al.*, 2012; Singh and Singh, 1998). Although the complete deterrence was mostly achieved at 20% concentration, the efficiency varied with concentrations and extraction solvents used. The persistence of neem extract was only one to three days when exposed to direct sunlight (Ahmed, 2015; Caboni *et al.*, 2006) but its half-life of azadirachtin could be retained for 30-44 days using 8-hydroxyquinoline and tert-butylhydroquinone stabilizers (Johnson *et al.*, 2003).

Besides considerable results, all the studies suggested the need of investigating the neem extracts for field efficacy (Mahmoud and Shoeib, 2008; Silva *et al.*, 2013), as the results may or may not translate the same way as achieved under laboratory assay. However, except for few studies on

vegetable, no studies on oviposition deterrence of fruit flies on fruit crops are available. In the absence, the efficacy of neem extracts remained unauthenticated for wide use in the field. Therefore, this study proposed to assess the field efficacy of NSKE on oviposition deterrence of *B. dorsalis* and *B. correcta* on guava. The study specifically evaluated the effect of different neem extracts, concentrations, persistence and effect of photostabilizers under field condition.

Materials and Methods

Experimental site and design

All the experiments were conducted at a commercial guava (Kimchu cultivar) field at Kamphaeng Saen district, Nakhon Pathom province. In all the experiments, mature guava fruits selected randomly were used as an experimental unit. The study used randomized complete block design (RCBD) for the assessment of different neem extracts and persistence levels, 2x4 factorial in RCBD to evaluate two neem extracts with four-concentration levels and 3x4 factorial in RCBD for three photostabilizers with four spray intervals on oviposition deterrence.

Neem extraction procedures

The mature neem seeds were freshly collected from the ground, grown around Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, de-pulped manually, washed in tap water and dried in an electric dryer at 50 °C. Dried seeds were decorticated manually and pulverized using an electric blender.

The single neem extract from hexane, ethyl acetate and methanol were performed by mixing neem powder in their respective solvents in three

separate beakers. The quantity of neem powder and solvent was dependent on the desired concentration of neem extract used in each experiment. Each mixture was stirred for 12 hours using electric stirrer and equilibrated in ambient room temperature for 72 hours. The mixture was filtered using a fine muslin cloth. The final neem extract was separated from the hexane, ethyl acetate and methanol using rotary evaporator at a reduced pressure and boiling temperature of 69, 77 and 64.5 °C, respectively. The combined neem extracts (e.g. hexane+methanol or hexane+ethyl acetate+methanol) requiring two or three solvents were extracted using the neem residue (filtrate) from initial extraction by second or third solvent with the same ratio of neem powder to the solvent. Finally, the extracts were combined to make the single extract. The combined extracts were formulated into equivalent concentration as a single extract for the actual field spray.

Field efficacy of different neem extracts

The seven NSKE; hexane, ethyl acetate, methanol, hexane+ethyl acetate, hexane+methanol, ethyl acetate+methanol and hexane+ethyl acetate+methanol were sprayed on 120 mature guava fruits to test the effect of different neem extracts against an untreated control. A 150 mL neem spray solution of each extract of 20% weight by volume (w/v) concentration was prepared with 30 g of neem extract and 10% of Tween 80 surfactant added with water until final volume was obtained. Each guava fruit was sprayed with 5 mL using mist hand sprayer to ensure uniform distribution of neem spray. After 48 hours, all the fruits were harvested and placed in the pupation box in the laboratory at a constant temperature of 25 °C. The dimension of pupation box was 27 x 19 x 11 cm transparent plastic box. A circular opening (10 cm diameter)

covered with nylon screen was made on the lid for aeration. The pupation box was filled with 1-inch fine sand as pupation medium and one fruit was placed per box. After the pupation, the sand was sieved through 1 mm diameter steel sieve to separate pupae from sand and number of pupae per fruit was recorded. Water was added when required to keep pupation medium at the desired moisture level.

All the following experiments followed the same procedure for pupation, oviposition rate calculation and used the same amount of the neem spray per fruit.

Persistence of neem extracts

The combined neem extract prepared from hexane+ethyl acetate+methanol was used to test the persistence for 1, 3, 5 and 7-days, respectively in open field condition. A 600 mL neem spray solution of 20% (w/v) concentration was prepared and sprayed on 120 fruits on the first day. The treated fruits were wrapped with plastic at 1, 3, 5 and 7-days, respectively as per their spray interval. All the fruits were harvested on the eighth day and placed in the insect rearing cage for pupation.

Extract type and concentration of neem extracts

This experiment was conducted to evaluate the efficacy of neem extract from ethyl acetate and methanol at the different concentration of 20, 30, 40 and 50%. A 500 mL stock solution of 70% w/v neem extracts was prepared with 350 g of neem extracts, 10% Tween 80 and water. Accordingly, the final volume of 200 mL each with the concentration of 20, 30, 40 and 50% was prepared by diluting required quantity from a stock solution in the water. On the first day, 120 guava fruits were sprayed. All the fruits were harvested after 48 hours and placed in pupation box.

Photostabilizer and persistence

This experiment compared 8-hydroxyquinoline and tert-butylhydroquinone photostabilizer with normal surfactant (Tween 80) against the persistence duration of 1, 3, 5 and 7-days, respectively. A 400 mL of 20% neem solution was prepared with 5% 8-hydroxyquinoline (20 g), 5% Tween 80 and 80 g of neem extracts added with water to final volume. Similarly, 400 mL of 20% neem spray with 5% tert-butylhydroquinone powder and 400 mL of 20% neem spray with 10% Tween 80 were prepared. On the first day, 180 fruits were sprayed with respective neem spray. The treated fruits were harvested after 1-day, 3-days, 5-days and 7-days of spraying.

Statistical analysis

The analysis of the efficacy of different neem extracts and persistence was subjected to analysis of variance and mean comparison using Duncan's multiple range test and least significant difference respectively. A factorial analysis of variance was used to analyze the main effect and interaction between type of extract, concentration, type of photostabilizer and persistence on oviposition deterrence. The number of pupae per fruit was transformed using logarithmic transformation $\log_{10}(x+1)$ as described by Gomez and Gomez (1984) to satisfy the homogeneity of variance. All the analyses were based on 95% confidence level using IBM SPSS version 20 software.

Results and Discussion

Field efficacy of different neem extracts

The study evaluated the efficacy of seven different neem extracts on oviposition deterrence of *B. dorsalis* and *B. correcta*. As shown in Table 1, all the neem extracts had a significant effect on the

Table 1. Effect of different neem extracts at 20% concentration on oviposition deterrence and fruit fly emergence

Neem extracts (Extraction solvents)	Number of pupae/fruit (Mean)	Oviposition (%) deterrence	Number of adult/fruit	
			<i>B. dorsalis</i> Mean $\pm$ SD	<i>B. correcta</i> Mean $\pm$ SD
Untreated control	43.3 ^{a1}	0	2.7 $\pm$ 1.9	57.1 $\pm$ 41.6
Hexane	22.3 ^a	48	1.9 $\pm$ 2.3	19.8 $\pm$ 10.1
Hexane + Ethyl acetate	17.8 ^b	59	1.4 $\pm$ 0.9	14.0 $\pm$ 8.7
Ethyl acetate + Methanol	15.0 ^b	65	1.0	20.2 $\pm$ 9.2
Hexane + Methanol	13.9 ^b	68	1.4 $\pm$ 1.2	13.6 $\pm$ 7.4
Methanol	11.9 ^c	72	1.0	21.1 $\pm$ 10.1
Hexane + Ethyl acetate + Methanol	09.9 ^c	80	1.0	14.6 $\pm$ 7.1
Ethyl acetate	07.1 ^c	83	1.0	11.6 $\pm$ 6.6

Mean data were transformed using Log₁₀(x+1) before analysis of variance

¹Mean values followed by different lowercase superscript letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$)

oviposition deterrence as compared to untreated control. The ethyl acetate, hexane+ethyl acetate+methanol and methanol extract showed the significant effect as compared to other extracts and control treatment ($P < 0.05$). The mean number of pupae per fruit was the lowest in ethyl acetate (7 pupae per fruit) and the highest average eggs laid was in hexane extract treated fruits (22 pupae per fruit). Hexane+ethyl acetate+methanol showed the significant effect as compared to other combined extracts. The ethyl acetate deterred the highest oviposition (83%) while hexane extract was the lowest (48%). The number of adult fruit fly emergence per fruit was higher for *B. correcta* (98%) as compared to *B. dorsalis* (2%) in guava.

Although all neem extracts have shown a significant effect, the efficacy differed with the polarity of extraction solvents. The ethyl acetate (mid-polar solvent) and methanol (polar) neem extract showed higher efficacy, while hexane (non-polar) was significantly lower. This may be due to the extraction of higher limonoid compound from the neem seed kernel by the ethyl acetate and methanol,

which has both polar and non-polar group. Limonoids such as azadirachtin, nimbin and salannin found in neem are considered a mid-polar compound, which is more soluble in the mid-polar and polar solvents (Melwita and Ju, 2010). This finding corroborated with the study by Singh and Singh (1998) where the neem extracted with acetone, a mid-polar solvent, provided a complete deterrence against *B. dorsalis* and *B. cucurbitae* on guava. This was also in conformity with finding where polar ethanolic extract showed higher efficacy over the non-polar hexane extract and neem oil at a lower concentration (Singh and Singh, 1998). Similarly, methanolic of dichloromethane *Melia azedarach* extract was effective in deterring oviposition of *B. dorsalis* on tomato fruits (Srinivasan *et al.*, 2015). Furthermore, ethanolic extract of neem reduced egg laying by 93% in *Bactrocera tau* and by 93.6% in *Bactrocera cucurbitae* as compared to other plant extracts (Thakur and Gupta, 2013). Several studies showed that crude neem extracts had higher oviposition deterrence efficacy and attributed it to the complimentary effect of salannin and nimbin beside

azadirachtin in enhancing the efficacy (Chen *et al.*, 1996; Singh and Singh, 1998). This was also emphasized in a study where they found that hexane extract of *Tephrosia vogelii* herb which has rotenone as active constituent significantly deterred the egg laying by maize weevil, *Sitophilus zeamais* in stored maize as compared to acetone extract, ethanol extract and neem oil. They suggested that other compounds besides rotenone are responsible for the deterrence because hexane (non-polar) cannot extract rotenone, which is highly soluble in polar solvents (Koono *et al.*, 2007). Therefore, in this study salannin and nimbin may have contributed in providing higher oviposition deterrence. Hexane+ethyl acetate+methanol extract also showed a similar effect as ethyl acetate or methanol, which might be due to the presence of a larger amount of the neem extracts. Nonetheless, ethyl acetate or methanol may be suggested for the neem extraction over hexane+ethyl acetate+methanol, as it requires three solvents and more time for the extraction.

The major fruit fly infesting guava was *B. correcta* followed by *B. dorsalis*. Perhaps the *B. correcta* may have oviposited earlier, which prevented *B. dorsalis* to oviposit on the same fruit. The female fruit flies usually release host-marking pheromones after oviposition to reduce host

competition from other fruit flies, however, some fruit flies tend to reuse the same site (Prokopy *et al.*, 1999). Similarly, in this study, *B. dorsalis* reused the same site for oviposition because of limited fruits available, which resulted in the emergence of both the fruit flies.

Persistence of neem extracts

The neem extracts have shown a significant effect on the oviposition deterrence in the earlier experiment. This study thus evaluated the persistence of 20% ethyl acetate neem extract under open field condition. There was a significant difference in the mean number of pupae per fruit in each spray interval ($P<0.05$). The mean oviposition rate increased from zero pupa per fruit in the 1-day interval to 67 pupae per fruit in the 7-days spray interval. The efficacy of neem extract was only one day under open field condition (Table 2).

The oviposition deterrence efficacy of 20% neem significantly decreases when the number of days exposed to external environment increases. The efficacy of 20% neem on the guava fruit was only one day, which was similar to the finding of Ahmed (2015) where stability of neem extract on the wheat seeds was also one day under direct sunlight exposure. Although the oviposition rate for 3-days was significantly lower than 5-days or 7-days interval, it provided no benefit as single oviposition could

Table 2. Mean number of pupae per fruit at 20% concentration of hexane+ethyl acetate+methanol neem extract at four different spray intervals

Spray Interval (Number of days)	Number of pupae/fruit (Mean)
1-day	0.0 ^{a1, 2}
3-days	19.6 ^b
5-days	43.6 ^c
7-days	67.2 ^d

¹Mean data were transformed using $\text{Log}_{10}(x+1)$ before analysis of variance

²Mean values followed by different lowercase superscript letters in the same column are significantly different ($P<0.05$)

damage the entire fruit. This corroborated with Caboni *et al.* (2006), where the residue of azadirachtin, salannin and nimbin from both commercial neem and crude extract became significantly negligible after three days of spraying on strawberry. Therefore, this experiment clearly showed the reduced efficacy of neem extract under field condition due to photodegradation of neem bioactive by sunlight.

Extract type and concentration of neem extracts

Although 20% neem extract showed a significant effect for one day, it did not achieve complete deterrence in 3-days or 5-days interval, thus this experiment evaluated four levels of concentrations (20, 30, 40 and 50%) extracted with ethyl acetate and methanol solvent on the oviposition deterrence at 48 hours interval. The factorial analysis of variance indicated no interaction between the types of solvents and concentrations on the oviposition deterrence level ($P>0.05$). There was significant main effect of different concentration levels ($P<0.05$) and neem extract types ($P<0.05$). The ethyl acetate extract (grand mean = 77.3, SD = 39.8) was significantly effective than the methanol extract (grand mean = 108.9, SD = 37.5) in deterring

oviposition with the increase in concentration (Table 3). There was no significant difference in 20 and 30% of ethyl acetate extract but significant effect was observed in 40 and 50%. Similar efficacy trend was observed in methanol extract but significantly lower. The *B. correcta* showed a higher oviposition rate in both the neem extracts (Table 3).

The ethyl acetate extract was significantly effective in deterring oviposition with the increase in concentration. This could be mainly due to the higher potential of ethyl acetate in extracting required mid-polar to polar compounds responsible for oviposition deterrence, whereas methanol could mostly extract compounds present in the polar state. The past laboratory assay showed the increase in deterrence efficiency with the increase in the concentration of the neem extract (Chen *et al.*, 1996; Singh and Singh, 1998; Thakur and Gupta, 2013). A similar trend also occurred under field condition, where the efficacy of both the neem extracts showed the significant effect as the concentration increased from 20 to 50%, but relatively higher concentration was required in the field condition. The 10 and 20% neem extracted with acetone and diethyl ether completely deterred the oviposition of the *B. dorsalis* and *B. cucurbitae* under the laboratory assay (Chen *et al.*,

Table 3. Effect of ethyl acetate and methanol at different concentration levels on oviposition deterrence and emergence rate of *Bactrocera dorsalis* and *B. correcta*

Concentration	Number of pupae/fruit			Number of adult emergence (Mean $\pm$ SD)	
	Mean		Grand mean	<i>B. dorsalis</i>	<i>B. correcta</i>
	Ethyl acetate	Methanol			
20%	91	124	107.8 ^{ab1}	7.4 $\pm$ 5.6	50.8 $\pm$ 27.8
30%	114	125	119.6 ^a	17.2 $\pm$ 11.2	81.7 $\pm$ 32.9
40%	80	96	88.1 ^b	7.9 $\pm$ 5.9	45.1 $\pm$ 19.6
50%	24	91	57.6 ^c	4.2 $\pm$ 5.3	30.7 $\pm$ 21.4
Grand mean ²	77.3 ^A	108.9 ^B			

¹Mean values followed by different lowercase superscript letters in the same column are significantly different ($P<0.05$)

²Mean values followed by different uppercase superscript letters in the same row are significantly different ($P<0.05$)

1996; Singh and Singh, 1998). However, in this study, the ethyl acetate extract did not achieve complete deterrence even at 50% under field condition. This indicates that higher concentration may be required for greater efficacy in the field. The oviposition occurring even at 50% concentration in 48 hours depicts the persistence of the neem residue was reasonably low in the open environment. Therefore, the stabilization of neem compounds using synthetic photostabilizer was essential in spite of increasing the concentration, which may not be attainable (Johnson *et al.*, 2003). As discussed earlier, the *B. correcta* dominates the infestation of guava fruit and the overall oviposition rate was relatively higher in methanol treated fruits.

Photostabilizer and persistence

This experiment evaluated the efficacy of different photostabilizer in enhancing the persistence level of neem extract under field condition. The factorial analysis of variance indicated the interaction between Tween 80 and 8-hydroxyquinoline ($P<0.05$), whereas there was no interaction with tert-butylhydroquinone. There was significant difference between type of photostabilizer ($P<0.05$) and persistence duration ($P<0.05$). The number of pupae

per fruit in neem extract with photostabilizer tert-butylhydroquinone ($M = 16.8$) was significantly lower than the neem extract with 8-hydroxyquinoline (grand mean = 41.2) and Tween 80 (grand mean = 41.4). There was no oviposition in the 1-day interval, while from 3-days onwards, the rate of oviposition increased (Table 4).

In the earlier experiments, although the ethyl acetate neem extract had a significant effect, the efficacy was only one day even with increased concentration. A study reported that the Emulsol N-33 surfactant was found effective in recovering half-life of azadirachtin for 93 minutes under the UV rays (Johnson and Dureja, 2002). Another study showed half-life of azadirachtin was about 59 minutes under UV and 23 minutes under sunlight (Deota *et al.*, 2002). Among the several studies on enhancing the persistence of neem extracts, the study by Johnson *et al.* (2003) found that the half-life of azadirachtin was retained for 44 or 36 days using 8-hydroxyquinoline and tert-butylhydroquinone photostabilizer. However, in this study, both the stabilizers provided persistence for only one day, similar to normal surfactant Tween 80. The tert-butylhydroquinone stabilizer showed higher efficacy possibly due to its higher solubility in neem solution.

Table 4. Effect of 20% ethyl acetate neem extract with 5% 8-hydroxyquinoline, 5% tert-butylhydroquinone and 10% Tween 80 on oviposition deterrence at different persistence duration

Neem extracts with photostabilizer and surfactant	Persistence duration (spray interval)				Grand mean
	Mean number of pupae/fruit				
	1-day	3-days	5-days	7-days	
Tween 80	0.0 ^a	51.7 ^a	56.7 ^a	57.2 ^a	41.4 ^{a1,2}
8-hydroxyquinoline	0.0 ^a	51.1 ^a	45.4 ^a	68.7 ^a	41.3 ^a
tert-butylhydroquinone	0.0 ^a	11.1 ^b	20.2 ^b	41.3 ^b	16.9 ^b
Grand mean	0.00 ^{A3}	37.9 ^{ns}	40.8 ^{ns}	57.5 ^B	

¹Mean data were transformed using $\text{Log}_{10}(x+1)$ before analysis of variance

²Mean values followed by different lowercase superscript letters in the same column are significantly different ($P<0.05$)

³Mean values followed by different uppercase superscript letters in the same row are significantly different ($P<0.05$)

The option to increase the amount of tert-butylhydroquinone above 5% to enhance the persistence is not reasonable, as it showed sign of phytotoxicity on guava fruits. The use of 8-hydroxyquinoline is also not advisable, as it requires alcohol or acetone to dissolve which is phytotoxic to guava fruit. Until promising photostabilizer is studied and identified, the oviposition deterrence of fruit fly using neem extracts may not prove economical and effective in area-wide fruit fly management.

The current study revealed that neem extracts have a significant effect on the oviposition deterrence under field condition. The ethyl acetate neem extract showed higher efficacy as compared to hexane or methanol extract on oviposition deterrence of fruit flies. Despite the efficacy, the persistence of neem extract was only one day with the use of various surfactant or photostabilizer. Thus, the use of neem extract as oviposition deterrence in the open field condition is not advisable as this may necessitate frequent spraying and escalate management and production cost. However, in view of its efficacy, it may be suitable for management of pest and crops through other aspects of insecticidal properties of neem extracts.

Acknowledgment

The authors sincerely thank staff and students of Entomology Department, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus for assisting in the field experiments. We thank Associate Professor Dr. Weerathap Pongprasert, Naresuan University for his valuable comments and guidance. This research study was funded by King's scholarship, Kasetsart University and Bhutan.

References

- Ahmed, A.E.M.B. 2015. Effect of UV light, sunlight and field conditions on the stability of neem seed oil extract. Ph.D. Dissertation, University of Khartoum, Sudan, Africa. 78 p.
- Areekul, S., P. Sinchaisri and S. Tigvatananon. 1988. Effect of Thai plant extracts on the oriental fruit fly. II. Repellency test. Kasetsart Journal (Natural Science) 22: 56-61.
- Caboni, P., G. Sarais, A. Angioni, A.J. Garcia, F. Lai, F. Dedola and P. Cabras. 2006. Residues and persistence of neem formulations on strawberry after field treatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54(26): 10026-10032.
- Chen, C.C., Y.J. Dong, L.L. Cheng and R.F. Hou. 1996. Deterrent effect of neem seed kernel extracts on oviposition of the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in guava. Journal of Economic Entomology 89(2): 462-466.
- Chen, P. and H. Ye. 2007. Population dynamics of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) and analysis of factors influencing populations in Baoshanba, Yunnan, China. Entomological Science 10(2): 141-147.
- Chen, P., H. Ye and J. Liu. 2006. Population dynamics of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) and analysis of the factors influencing the population in Ruili, Yunnan Province, China. Acta Ecologica Sinica 26(9): 2801-2808.
- Deota, P., P. Upadhyay, K. Patel, K. Mehta, A. Varshney and M. Mehta. 2002. Effect of some ultraviolet light absorbers on photo-stabilization of azadirachtin-A. Natural Product Letters 16(5): 329-334.

- Drew, R. and S. Raghu. 2002. The fruit fly fauna (Diptera: Tephritidae: Dacinae) of the rainforest habitat of the Western Ghats, India. *Raffles Bulletin of Zoology* 50(2): 327-352.
- Gomez, K.A. and A.A. Gomez. 1984. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. John Wiley & Sons, New York.
- Johnson, S. and P. Dureja. 2002. Effect of surfactants on persistence of azadirachtin-A (neem based pesticide). *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 37(1): 75-80.
- Johnson, S., P. Dureja and S. Dhingra. 2003. Photostabilizers for azadirachtin-A (a neem-based pesticide). *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 38(4): 451-462.
- José, L., D. Cugala and L. Santos. 2013. Assessment of invasive fruit fly infestation and damage in Cabo Delgado province, northern Mozambique. *African Crop Science Journal* 21(1): 21-28.
- Koona, P., D. Malaa and O.E.S. Koona. 2007. Hexane extracts from *Tephrosia vogelii* Hook. f. protect stored maize against the weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Entomological Science* 10(2): 107-111.
- Mahmoud, M.F. and M.A. Shoeib. 2008. Sterilant and oviposition deterrent activity of neem formulation on peach fruit fly *Bactrocera zonata* Saunders (Diptera: Tephritidae). *Journal of Biopesticides* 1(2): 177-181.
- Melwita, E. and Y. H. Ju. 2010. Separation of azadirachtin and other limonoids from crude neem oil via solvent precipitation. *Separation and Purification Technology* 74(2): 219-224.
- Prokopy, R.J., D.R. Papaj, F. Díaz-Fleischer, M. Aluja and A. L. Norrbom. 1999. Evolution of fruit fly oviposition behavior. pp. 811-849. *In*: M. Aluja and A. L. Norrbom (eds.). *Fruit Flies (Tephritidae) Phylogeny and Evolution of Behavior*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Shi, W., C. Kerdelhue and H. Ye. 2005. Population genetics of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae), in Yunnan (China) based on mitochondrial DNA sequences. *Environmental Entomology* 34(4): 977-983.
- Silva, M.A., G.C.D. Bezerra-Silva, J.D. Vendramim, T. Mastrangelo and M.R. Forim. 2013. Neem derivatives are not effective as toxic bait for tephritid fruit flies. *Journal of Economic Entomology* 106(4): 1772-1779.
- Silva, M.A., G.C.D. Bezerra-Silva, J.D. Vendramim and T. Mastrangelo. 2012. Inhibition of oviposition by neem extract: a behavioral perspective for the control of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 95(2): 333-337.
- Singh, S. 2003. Effects of aqueous extract of neem seed kernel and azadirachtin on the fecundity, fertility and post-embryonic development of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae* and the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology* 127(9-10): 540-547.
- Singh, S. and R. Singh. 1998. Neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts and azadirachtin as oviposition deterrents against the melon fly (*Bactrocera cucurbitae*) and the oriental fruit fly

- (*Bactrocera dorsalis*). *Phytoparasitica* 26(3): 191-197.
- Srinivasan, R., M.Y. Lin, S. Yule, C.C. Huang and Y.C. Hsu. 2015. Effects of botanical extracts and formulations against fruit fly, fruit and pod borers on tomato and yard long bean. *Biological Agriculture & Horticulture* 31(4): 254-264.
- Thakur, M. and D. Gupta. 2013. Plant extracts as oviposition deterrents against fruit flies, *Bactrocera* spp. infesting vegetable crops. *Pesticide Research Journal* 25(1): 24-28.
- Vargas, R.I., R.F. Mau, E.B. Jang, R.M. Faust and L. Wong. 2008. The Hawaii fruit fly areawide pest management programme. pp. 300-325. *In*: O. Koul, G.W. Cuperus and N. Elliott (eds.). *Areawide Pest Management: Theory and Implementation*. CABI Publishing, Wallingford.
- Ye, H.U.I. and J.H. Liu. 2005. Population dynamics of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) in the Kunming area, southwestern China. *Insect Science* 12(5): 387-392.
-

ความรุนแรงของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* และเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในการควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero และเพลี้ยแป้งน้อยหน้า *Planococcus lilacinus* (Cockerell)

Virulences of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for Controlling *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero and *Planococcus lilacinus* (Cockerell)

ณิชนันท์ เกินอาษา^{1, 2*} และ วาสนา หวานชื่น¹
Nichanun Kernasa^{1, 2*} and Wassana Wancheun¹

¹ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

¹Department of Entomology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

²ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวนทรีย์แห่งชาติ ภาคกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

²National Biological Control Research Center, Central Regional Center, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: Email: agropk@ku.ac.th

(Received: 3 October 2017; Accepted: 30 March 2018)

Abstract: *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* are the entomopathogenic fungi of various insect pests. The objective of this study was to evaluated the virulence of two isolates of *B. bassiana* isolated from aphids (BA) and brown planthopper (BN) and one isolate of *M. Anisopliae* (M001) isolated from sugarcane longhorn stem borer for virulence tests against *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero and *Planococcus lilacinus* (Cockerell). The experiments were conducted in laboratory including of five levels of conidia suspensions at 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 and 1×10^8 conidia/ml. with four replications and infected insects were checked every day up to 7 days after application. The results found that *B. bassiana* (BA), *B. bassiana* (BN) and *M. anisopliae* (M001) showed the highest percent mortality to *P. manihoti* at 1×10^8 conidia/ml. The average percent mortalities were 75.83 ± 2.89 , 65.83 ± 7.22 and 55.00 ± 6.61 percent, respectively while *B. bassiana* (BA), *B. bassiana* (BN) and *M. anisopliae* (M001) showed the highest percent mortality to *P. lilacinus* at 1×10^8 conidia / ml and the average percent mortalities were 74.17 ± 7.64 , 70.83 ± 3.82 and 61.67 ± 7.22 percent, respectively within 7 days. LC_{50} of *B. bassiana* (BA), *B. bassiana* (BN) and *M. anisopliae* (M001) on *P. manihoti* were 5.69×10^5 , 1.34×10^6 and 4.29×10^6 conidia/ml, and those on *P. lilacinus* were 1.34×10^6 , 9.37×10^5 and 1.65×10^6 conidia/ml, respectively.

Keywords: Entomopathogenic fungi, LC_{50} , percent mortality

บทคัดย่อ: เชื้อราขาว *Beauveria bassiana* และเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* เป็นเชื้อราก่อโรคของแมลงที่สามารถเข้าก่อโรคกับแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด การศึกษาครั้งนี้เพื่อทดสอบความรุนแรงของเชื้อราขาว *B. bassiana* จำนวน 2 ไอโซเลท และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จำนวน 1 ไอโซเลท ในการเข้าทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero และเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *Planococcus lilacinus* (Cockerell) ในห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วยสารแขวนลอยโคไนเดียของเชื้อราขาว *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ที่ได้จากหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย (M001) ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 และ 1×10^8 โคไนเดียต่อมิลลิลิตร กรรมวิธีละ 4 ชั่วโมง การพ่นสาร 7 วัน พบว่าเชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) ทำให้เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดที่ 1×10^8 โคไนเดียต่อการตายเฉลี่ย 75.83 ± 2.89 , 65.83 ± 7.22 และ 55.00 ± 6.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) ทำให้เพลี้ยแป้งน้อยหน่า *P. lilacinus* มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดเท่ากับ 1×10^8 โคไนเดียต่อมิลลิลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย 74.17 ± 7.64 , 70.83 ± 3.82 และ 61.67 ± 7.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 7 วัน ผลค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) ของเชื้อรา *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) กับเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู เท่ากับ 5.69×10^5 , 1.34×10^6 และ 4.29×10^6 โคไนเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ และกับเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *P. lilacinus* เท่ากับ 1.34×10^6 , 9.37×10^5 และ 1.65×10^6 โคไนเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: เชื้อราก่อโรคกับแมลง LC_{50} เปอร์เซ็นต์การตาย

คำนำ

เพลี้ยแป้ง เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด เพลี้ยแป้งที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero และเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *Planococcus lilacinus* (Cockerell) ซึ่งในช่วงต้นปี ค.ศ. 1970 เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* บังเิญถูกนำจากอเมริกาใต้เข้าไปยังแอฟริกาและแพร่กระจายไป 25 ประเทศในแอฟริกา เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูกลายเป็นแมลงศัตรูมันสำปะหลังที่สำคัญและทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังในแอฟริกาลดลง (Neuenschwander et al., 1988, 1989, 1990; Nwanze, 1982) ซึ่งในประเทศไทยพบการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูในทุกภาคของพื้นที่ที่มีการปลูกมันสำปะหลัง โดยในปี 2559 ได้มีการทำระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ เพื่อทำนายพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก พบว่าพื้นที่ที่

มีความเสี่ยงต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ปราจีนบุรี สระแก้ว ฉะเชิงเทรา ชลบุรี และระยอง (รักษาการรอง และเบญจคุณ, 2559) สำหรับเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *P. lilacinus* พบว่าเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของน้อยหน่า (Butani, 1976) และไม้ผลหลายชนิดรวมทั้งพืชวงศ์ส้ม ทับทิม และฝรั่ง ในประเทศอินเดีย (Mani, 1995) การควบคุมเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดนี้ทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมคือการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีใช้ศัตรูธรรมชาติจำพวกเชื้อราน่าที่จะนำมาใช้เพื่อควบคุมเพลี้ยแป้งดังกล่าว ได้แก่ เชื้อราขาว (*Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin) และเชื้อราเขียว (*Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin) เชื้อราทั้งสองชนิดเป็นเชื้อราก่อโรคกับแมลงที่มีกาใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูหลายชนิด ตัวอ่อนของแมลงหิวขาว *Bemisia* (Wraight et al., 2000) ตัวงเจาะไม้ *Scolytus scolytus* (F.) (Doberski, 1981) ดังนั้น การศึกษานี้จึงได้ทดลองนำเชื้อราขาว *B. bassiana* และเชื้อราเขียว

M. anisopliae มาทดสอบการเข้าทำลายและความรุนแรงต่อเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *P. lilacinus* เพื่อที่จะได้นำไปใช้เพื่อควบคุมเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดโดยชีววิธีต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเพาะเลี้ยงเพลี้ยแป้ง

ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *P. lilacinus* ในห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววินาศย์แห่งชาติ ภาคกลาง ที่อุณหภูมิ $25 \pm 5^\circ\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ RH โดยการแยกห้องเพาะเลี้ยงเพลี้ยแป้งดังกล่าว ด้วยการใช้ผลฟักทองที่ไม่แก่ ผิวเรียบ ไม่ขรุขระ เชียพอแม่พันธุ์เพลี้ยแป้งแต่ละชนิดลงบนผลฟักทองที่เตรียมไว้ และเลี้ยงแยกกับเพลี้ยแป้งชนิดอื่นโดยนำไปวางบนชั้นและใช้ท่อ PVC รองผลฟักทองเพื่อหลีกเลี่ยงเพลี้ยแป้งชนิดอื่น เลี้ยงเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *P. lilacinus* จนได้จำนวนที่มากพอเพื่อใช้ในการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเชื้อราขาว *B. bassiana* และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* เพื่อใช้ในการทดลอง

นำเชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) จากหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย ที่ผ่านการแยกจนบริสุทธิ์แล้ว มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เพื่อเพิ่มจำนวน บ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ $25 \pm 5^\circ\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ RH เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท

นำเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท อายุ 14-21 วัน มาทำโคนิเดียแขวนลอย โดยใช้ด้านหลังของช้อนตักสาร (spatula) แบบสแตนเลส (stainless steel) ชูดโคนิเดียที่ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับน้ำกลั่นผสม Triton X ความเข้มข้น 0.05% ที่นิ่งมาเชื้อแล้วปริมาตร 5 มิลลิลิตร

และปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำไปตรวจนับความเข้มข้นของโคนิเดียด้วย hemacytometer และปรับความเข้มข้นที่ระดับ 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 และ 1×10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ทำการเตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลทเพื่อใช้ในการทดลอง ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 น้ำกลั่นผสม Triton X ความเข้มข้น 0.05 % (control) กรรมวิธีที่ 2 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยอ่อน (BA) ความเข้มข้น 1×10^4 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 3 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยอ่อน (BA) ความเข้มข้น 1×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 4 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยอ่อน (BA) ความเข้มข้น 1×10^6 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 5 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยอ่อน (BA) ความเข้มข้น 1×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 6 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยอ่อน (BA) ความเข้มข้น 1×10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร น้ำกลั่นผสม Triton X ความเข้มข้น 0.05 % (control) กรรมวิธีที่ 7 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) ความเข้มข้น 1×10^4 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 8 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) ความเข้มข้น 1×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 9 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) ความเข้มข้น 1×10^6 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 10 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) ความเข้มข้น 1×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 11 *B. bassiana* ที่แยกได้จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) ความเข้มข้น 1×10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร น้ำกลั่นผสม Triton X ความเข้มข้น 0.05% (control) กรรมวิธีที่ 12 *M. anisopliae* ที่แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาว (M001) ความเข้มข้น 1×10^4 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 13 *M. anisopliae* ที่แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาว (M001) ความเข้มข้น 1×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 14 *M. anisopliae* ที่แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาว (M001) ความเข้มข้น 1×10^6 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 15 *M. anisopliae* ที่แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาว (M001) ความเข้มข้น 1×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร กรรมวิธีที่ 16 *M. anisopliae* ที่แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาว (M001) ความเข้มข้น 1×10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

จากนั้นทำการเตรียมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* และเพลี้ยแป้งน้อยหน้า *P. lilacinus* ที่ใช้ในการทดลอง โดยนำ water agar 0.7% ลงบนจานพลาสติกกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร เทลงไปปริมาณ 1 เซนติเมตร เพื่อให้ความชุ่มชื้นแก่ใบพืชอาหารของเพลี้ยแป้งที่ใช้ในการทดลอง รอผิวหน้าแห้งตัว ตัดใบชบาให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.8 เซนติเมตร เพื่อเป็นพืชอาหารสำหรับเพลี้ยแป้ง นำไปวางลงบนฐานให้พอดี หลังจากนั้นนับเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูและเพลี้ยแป้งน้อยหน้าทั้ง 2 ชนิด และใช้ปลายพู่กันค่อย ๆ เทย 40 ตัว/จานทดลอง โดยแต่ละกรรมวิธีมี 4 ซ้ำ

การพ่นสารแขวนลอยโคโคนิดีเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท

นำหัวสเปรย์มาใส่ใน vial ที่มีปริมาตรของสารแขวนลอยโคโคนิดีทั้ง 3 ไอโซเลท จำนวน 200 ไมโครลิตร นำไปพ่นในจานทดลองที่ใส่เพลี้ยแป้งแต่ละชนิด ที่อยู่ในจานทดลองละ 40 ตัว ซึ่งนับเป็น 1 ซ้ำ พ่นระยะห่าง 18.5 เซนติเมตร สูง 13 เซนติเมตร จากนั้นปิดฝาจานทดลอง นำไปวางที่อุณหภูมิ $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ RH ทำการบันทึกผลการทดลองทุกวันเป็นเวลา 7 วัน ข้อมูลที่ได้นำไปใช้คำนวณความรุนแรงของเชื้อรา (LC_{50}) และอัตราการตายของเพลี้ยแป้ง การคำนวณค่า median

lethal concentration (LC_{50}) ใช้วิธีการของ Finney (1952) ส่วนการวัดการตายดูจากเส้นใยของเชื้อราแทงออกมา นอกลำตัวเพลี้ยแป้งและสร้างสปอร์ปกคลุมลำตัว หากพบการตายในชุดควบคุมทำการคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality) ด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง พบว่า เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) ทำให้เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดที่ 1×10^5 โคโคนิดี/มิลลิลิตร โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 75.83 ± 2.89 , 65.83 ± 7.22 และ 55.00 ± 6.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) ทำให้เพลี้ยแป้งน้อยหน้า *P. lilacinus* มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดที่ 1×10^5 โคโคนิดี/มิลลิลิตร โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 74.17 ± 7.64 , 70.83 ± 3.82 และ 61.67 ± 7.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าเชื้อราขาว *B. Bassiana*

Table 1. Percent mortality of *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero when sprayed with three isolates of fungi at five concentration levels

Concentration (conidia/ml)	Isolate		
	<i>Beauveria bassiana</i> (BA) ^{1/}	<i>Beauveria bassiana</i> (BN) ^{2/}	<i>Metarhizium anisopliae</i> (M001) ^{3/}
	%Mortality (Mean $\pm$ S.D.)	%Mortality (Mean $\pm$ S.D.)	%Mortality (Mean $\pm$ S.D.)
1×10^4	55.83 ± 2.89	39.17 ± 5.20	35.83 ± 10.10
1×10^5	61.67 ± 1.44	48.17 ± 1.61	39.17 ± 7.64
1×10^6	63.33 ± 1.44	53.50 ± 5.29	45.83 ± 11.27
1×10^7	66.67 ± 1.44	59.17 ± 5.77	44.17 ± 15.28
1×10^8	75.83 ± 2.89	65.83 ± 7.22	55.00 ± 6.61
Control	0	0	0

^{1/} *Beauveria bassiana* isolated from aphids (BA)

^{2/} *Beauveria bassiana* isolated from brown planthopper (BN)

^{3/} *Metarhizium anisopliae* isolated from sugarcane longhorn stem borer (M001)

Table 2. Percent mortality of *Planococcus lilacinus* (Cockerell) when sprayed with three isolates of fungi at five concentration levels

Concentration (conidia/ml)	Isolate		
	<i>Beauveria bassiana</i> (BA) ^{1/}	<i>Beauveria bassiana</i> (BN) ^{2/}	<i>Metarhizium anisopliae</i> (M001) ^{3/}
	%Mortality (Mean ± S.D.)	%Mortality (Mean ± S.D.)	%Mortality (Mean ± S.D.)
1×10 ⁴	50.00 ± 7.50	34.17 ± 7.22	40.83 ± 5.77
1×10 ⁵	55.83 ± 12.33	50.83 ± 8.04	45.00 ± 4.33
1×10 ⁶	61.67 ± 14.22	53.33 ± 5.77	52.50 ± 2.50
1×10 ⁷	68.33 ± 8.78	65.00 ± 2.50	55.00 ± 4.33
1×10 ⁸	74.17 ± 7.64	70.83 ± 3.82	61.67 ± 7.22
Control	0	0	0

^{1/} *Beauveria bassiana* isolated from aphids (BA)

^{2/} *Beauveria bassiana* isolated from brown planthopper (BN)

^{3/} *Metarhizium anisopliae* isolated from sugarcane longhorn stem borer (M001)

Table 3. Median lethal concentration (LC₅₀) of three isolates of fungi against *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero and *Planococcus lilacinus* (Cockerell)

Isolate	Median lethal concentration (conidia/ml)	
	<i>Phenacoccus manihoti</i>	<i>Planococcus lilacinus</i>
<i>Beauveria bassiana</i> (BA)	5.69 × 10 ⁵	1.34 × 10 ⁶
<i>Beauveria bassiana</i> (BN)	1.34 × 10 ⁶	9.37 × 10 ⁵
<i>Metarhizium anisopliae</i> (M001)	4.29 × 10 ⁶	1.65 × 10 ⁶

จากเพลี้ยอ่อน (BA) มีประสิทธิภาพทำให้เพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุด Vestergaard *et al.* (1995) ศึกษาการก่อโรคของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ที่มีต่อเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* (Pergande) พบว่า ตัวเต็มวัยของเพลี้ยไฟ *F. occidentalis* เมื่อถูกพ่นด้วยเชื้อราเขียว *M. anisopliae* มีเปอร์เซ็นต์การตายอย่างน้อย 94% ในช่วงเวลา 7 วัน ที่ LC₅₀ 1 × 10⁷ โคนินเดีย/มิลลิลิตร

ผล ค่า ความ เป็น พิ ข (median lethal concentration; LC₅₀) ของเชื้อรา พบว่า เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) มีค่า LC₅₀ กับเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* เท่ากับ 5.69 × 10⁵ 1.34 × 10⁶ และ

4.29 × 10⁶ โคนินเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในเวลา 7 วัน (ตารางที่ 3) และเชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) มีค่า LC₅₀ กับเพลี้ยแป้งน้อยหน้า *P. lilacinus* เท่ากับ 1.34 × 10⁶, 9.37 × 10⁵ และ 1.65 × 10⁶ โคนินเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3) Feng and Johnson (1990) รายงานว่าเชื้อราขาว *B. bassiana* 6 ไอโซเลท สามารถเข้าทำลายเพลี้ยอ่อนข้าวสาลีรัสเซีย *Diuraphis noxia* (Mordvilko) ได้ที่ LC₅₀ 0.57 × 10⁵ โคนินเดีย/มิลลิลิตร Butt *et al.* (1994) ทำการศึกษาความรุนแรงในการเข้าทำลายด้วงหมัดผัก *Psylliodes chrysocephala* (L.) ของเชื้อราขาว *B. bassiana* และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* พบว่า ความเข้มข้นสูงสุดของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ทำให้ด้วง

หมัดผักตายสูงคือที่ LC_{50} 10^6 โคโคนีเดีย/มิลลิลิตร ในเวลา 14 วัน

สรุป

เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) ทำให้เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดที่ 1×10^6 โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 75.83 ± 2.89 , 65.83 ± 7.22 และ 55.00 ± 6.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) ทำให้เพลี้ยแป้งน้อยหน่า *P. lilacinus* มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดที่ 1×10^6 โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย 74.17 ± 7.64 , 70.83 ± 3.82 และ 61.67 ± 7.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 7 วัน

ผลค่าความเป็นพิษ (LC_{50}) ของเชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยอ่อน (BA) เชื้อราขาว *B. bassiana* จากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BN) และเชื้อราเขียว *M. anisopliae* (M001) มีค่า LC_{50} กับเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* เท่ากับ 5.69×10^5 , 1.34×10^6 และ 4.29×10^6 โคโคนีเดีย/มิลลิลิตร กับเพลี้ยแป้งน้อยหน่า *P. lilacinus* เท่ากับ 1.34×10^6 , 9.37×10^5 และ 1.65×10^6 โคโคนีเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

รัฐบาลวรรณ เงินกลิ่น และ เบญจคุณ แสงทองพราว. 2559. ระบบสารสนเทศเพื่อการตัดสินใจและการจัดการเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Hemiptera: Pseudococcidae) ใน ภา ค ตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกเฉียงของ ประเทศไทย. วารสารเกษตร 32(3): 357-368.

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 8(2): 265-267.
- Butani, D.K. 1976. Insect pests of fruit crops and their control - custard apple. *Pesticides* 10(5): 27-28.
- Butt, T.M., L. Ibrahim, B.V. Ball and S.J. Clark. 1994. Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. *Biocontrol Science and Technology* 4(2): 207-214.
- Doberski, J.W. 1981. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus scolytus*: Effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 37: 195-200.
- Feng, M.G. and J.B. Johnson. 1990. Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology* 19(3): 785-790.
- Finney, D.J. 1952. Probit analysis. *Journal of the Institute of Actuaries* 78(3): 388-390.
- Mani, M. 1995. Studies on the natural enemies of oriental mealybug, *Planococcus lilacinus* (Ckll.) (Homoptera: Pseudococcidae) in India. *Journal of Entomological Research* 19(1): 61-70.
- Neuenschwander, P., W.N.O. Hammond, O. Ajuonu, A. Gado, N. Echendu, A.H. Bokonon-Ganta, R. Allomasso and I. Okon. 1990. Biological control of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (Hom., Pseudococcidae) by *Epidinocarsis lopezi*

- (Hym., Encyrtidae) in West Africa, as influenced by climate and soil. Agriculture, Ecosystems and Environment 32: 39-55.
- Neuenschwander, P., W.N.O. Hammond, A.P. Gutierrez and A.R. Cudjoe. 1989. Impact assessment of the biological control of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Hemiptera: Pseudococcidae), by the introduced parasitoid *Epidinocarsis lopezi* (De Santis) (Hymenoptera: Encyrtidae). Bulletin of Entomological Research 79(4): 579-594.
- Neuenschwander, P., H.R. Herren, I. Harpaz, D. Badulescu and A.E. Akingbohunbe. 1988. Biological control of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*, by the exotic parasitoid *Epidinocarsis lopezi* in Africa. (Online). Available: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/318/1189/319.short> (June 14, 2017).
- Nwanze, K.F. 1982. Relationships between cassava root yields and crop infestations by the mealybug, *Phenacoccus manihoti*. Tropical Pest Management 28(1): 27-32.
- Vestergaard, S., A.T. Gillespie, T.M. Butt, G. Schreiter and J. Eilenberg. 1995. Pathogenicity of the Hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. Biocontrol Science and Technology 5(2): 185-192.
- Wraight, S.P., R.I. Carruthers, S.T. Jaronski, C.A. Bradley, C.J. Garza and S. Galaini-Wraight. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. Biological Control 17: 203-217.
-

ชนิดและความสัมพันธ์ของมดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียวบนต้นกาแฟอาราบิกา ในภาคเหนือของประเทศไทย

Species of Ants and Their Relationship with Green Scale Insects on Arabica Coffee Trees in Northern Thailand

วิฑูรดี แสงท้าว¹ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์^{1*} วียะวัฒน์ ใจตรง² และ ไสว บุรณพานิชพันธุ์¹

Withuwadee Sangtow¹, Piyawan Suttiapran^{1*}, Weeyawat Jaitrong² and Sawai Buranapanichpan¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ เทคโนโลยี ด.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

²Thailand Natural History Museum, National Science Museum, Technopolis, Khlang 5, Khlang Luang, Pathum Thani 12120, Thailand

*Corresponding author: Email: piyawanss43@gmail.com

(Received: 29 January 2018; Accepted: 4 May 2018)

Abstract: Ant species and their relationship with green scale insects *Coccus viridis*, on arabica coffee trees in northern Thailand were carried out from three coffee plantations in different altitudes: 1) Ban Pa Miang (ca. 930 m a.s.l.), Doi Saket district, Chiang Mai province; 2) Ban Khun Lao (1,200 m a.s.l.), Wiang Papao district, Chiang Rai province, and 3) Khun Chang Khian (1,350 m a.s.l.), Mueang district, Chiang Mai province. A total of 78 species, 27 genera in six subfamilies was found in the study areas. Among them, 51 species, 22 genera in six subfamilies were collected from Ban Pa Miang; 45 species, 19 genera in five subfamilies from Ban Khun Lao; and 33 species, 18 genera in five subfamilies from Khun Chang Khian. We found that ants as well as green scale insects were abundant in rainy season then gradually decreased in dry season. The most dispersals of green scale insect were found at Ban Pa Miang, while at least in Khun Chang Khian. The correlation between ants and green scale insects was positive. A total of 48 ant species were found inhabiting on the same coffee trees with green scale insects, among them, 12 ant species associated with green scale insects, which were *Dolichoderus butteli*, *Dolichoderus feae*, *Dolichoderus taprobanae*, *Dolichoderus thoracicus*, *Tapinoma melanocephalum*, *Technomyrmex albipes*, *Technomyrmex modiglianii*, *Technomyrmex yamanei*, *Anoplolepis gracilipes*, *Oecophylla smaragdina*, *Crematogaster rogenhoferi* and *Pheidole dugasi*.

Keywords: Ants, green scale insect, arabica coffee, season, altitude

บทคัดย่อ: การศึกษาชนิดและความสัมพันธ์ของมดกับเพลี้ยหอยสีเขียว *Coccus viridis* บนต้นกาแฟอะราบิกาในพื้นที่ภาคเหนือ ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 1) ที่ระดับความสูงประมาณ 930 เมตร บ้านป่าเมี่ยง อำเภอฮอดยะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ 2) ที่ความสูง 1,200 เมตร บ้านขุนลาว อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย และ 3) ที่ระดับความสูง 1,350 เมตร บริเวณสถานีวิจัยเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยนไร่หน้า (ขุนช่างเคี่ยน) อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ได้สำรวจพบมดที่อยู่บนทรงพุ่มของต้นกาแฟทั้งหมด 78 ชนิด 27 สกุล จาก 6 วงศ์ย่อย ในจำนวนนี้ พบที่บ้านป่าเมี่ยง 51 ชนิด 22 สกุล 6 วงศ์ย่อย พื้นที่บ้านขุนลาว 45 ชนิด 19 สกุล 5 วงศ์ย่อย และพื้นที่ขุนช่างเคี่ยน 33 ชนิด 18 สกุล 5 วงศ์ย่อย และพบว่ามดและเพลี้ยหอยสีเขียวระบาดมากในช่วงฤดูฝน และมีแนวโน้มลดจำนวนลงในช่วงฤดูแล้ง พื้นที่บ้านป่าเมี่ยงพบการระบาดของเพลี้ยหอยสีเขียวมากที่สุด ในขณะที่พื้นที่ขุนช่างเคี่ยนมีการระบาดน้อยที่สุด จำนวนมดกับจำนวนเพลี้ยหอยสีเขียวมีแนวโน้มความสัมพันธ์กันในเชิงบวก การศึกษานี้พบมดที่อยู่ร่วมต้นกาแฟเดียวกับเพลี้ยหอยสีเขียว ทั้งหมด 48 ชนิด และในจำนวนนี้มีมด 12 ชนิดที่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียว ได้แก่ *Dolichoderus butteli*, *Dolichoderus feae*, *Dolichoderus taprobanae*, *Dolichoderus thoracicus*, *Tapinoma melanocephalum*, *Technomyrmex albipes*, *Technomyrmex modiglianii*, *Technomyrmex yamanei*, *Anoplolepis gracilipes*, *Oecophylla smaragdina*, *Crematogaster rogenhoferi* และ *Pheidole dugasi*.

คำสำคัญ: มด เพลี้ยหอยสีเขียว กาแฟอะราบิกา ฤดูกาล ความสูง

คำนำ

มดเป็นแมลงสังคมที่แท้จริง (eusocial insect) สามารถพบได้ทุกที่ในระบบนิเวศพื้นดินยกเว้นบริเวณขั้วโลกที่หนาวเย็น มีความสำคัญอย่างมากในระบบนิเวศโดยมีบทบาทเป็นผู้บริโภค จึงเป็นกลไกหนึ่งของสายใยอาหารทำให้ระบบนิเวศอยู่ในสภาวะสมดุล นอกจากนี้มดยังมีความสัมพันธ์กับสัตว์กลุ่มอื่น ๆ ที่อาศัยอยู่บนพืช (วียะวัฒน์, 2554) เช่น การอยู่ร่วมกันกับแมลงจำพวกเพลี้ย ได้แก่ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เป็นต้น มดและเพลี้ยมีความสัมพันธ์ในลักษณะ mutualism ซึ่งเป็นภาวะพึ่งพาอาศัยกัน (Jha *et al.*, 2009; Johnson *et al.*, 2001) โดยมดเป็นตัวนำเพลี้ยให้เคลื่อนย้ายไปยังพืชอื่น ๆ และคอยปกป้องเพลี้ยจากแมลงศัตรูธรรมชาติ ที่เข้ามารบกวน (ชมัยพร และคณะ, 2554; Bach, 1991; Gullan, 1997; Iitoka and Inoue, 1996; Jahn *et al.*, 2003; Jha *et al.*, 2009) ความสัมพันธ์ของมดกับเพลี้ยในลักษณะเช่นนี้เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้มีการระบาดของเพลี้ย ซึ่งพืชจะได้รับผลกระทบจากการถูกดูดกินน้ำเลี้ยง พืชหยุดการเจริญเติบโต หรือตายได้ มดจะได้รับน้ำหวาน (honeydew) ที่เพลี้ยขับออกมาเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน

และนำกลับไปยั้งรัง (เดชา, 2550) และพบว่ามดยังรบกวนเกษตรกรเวลาทำการเก็บเกี่ยวผลผลิต สร้างความรำคาญโดยการกัดและต่อย

ในแปลงปลูกกาแฟอะราบิกาพบแมลงศัตรูที่สำคัญที่เป็นแมลงปากกัดได้แก่ แมอดเจาะผลกาแฟ หนอนดั่งหวดยาว และที่เป็นแมลงปากดูด ได้แก่ เพลี้ยหอยสีเขียว และเพลี้ยอ่อน (สุลธิรัตน์ และคณะ, 2559; เผ่าไท และปิยะวรรณ, 2558) เพลี้ยหอยสีเขียว *Coccus viridis* เป็นแมลงศัตรูสำคัญในต้นกาแฟ ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทางภาคเหนือของประเทศไทย โดยมีพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกามากในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย ประมาณ 60,000 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาชนิดของมดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียว การแพร่กระจายในพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกาที่ระดับความสูงแตกต่างกัน ตลอดจนการศึกษานิสัยและความสามารถของมดบางชนิดในการแพร่กระจายเพลี้ยหอยสีเขียวบนต้นกาแฟอะราบิกา ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการกำจัดเพลี้ยหอยสีเขียวที่เป็นแมลงศัตรูกาแฟต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่ศึกษา

ทำการศึกษานี้ในแปลงกาแฟอะราบิกาที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 1) ที่ระดับความสูงประมาณ 930 เมตร บ้านป่าเมี่ยง อำเภอ ดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ (พิกัด 18°58'49"N, 99°19'35"E) ลักษณะพื้นที่เป็นเนินเขา มีดินไม้ใหญ่ปลูก สลับด้วยลิ้นจี่และลำไย และมีดินไม้ป่าขึ้นปกคลุมหนาแน่น มีวัชพืชคลุมดินหนาแน่น มีแสงสว่างส่องถึง พื้นดินน้อย ต้นกาแฟสูงมากกว่า 1.5 เมตร มีการตัดแต่งกิ่งน้อย 2) ที่ความสูง 1,200 เมตร บ้านขุนลาว อำเภอ เวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย (พิกัด 19°5'25"N, 99°21'39"E) เป็นพื้นที่เนินเขาปลูกต้นกาแฟได้ร่ม โดยปลูกสลับกับต้นอะโวคาโด พญาเสือโคร่ง และไม้ป่า มีแสงแดดส่องถึงพื้นดินปานกลาง มีวัชพืชคลุมดิน ต้นกาแฟสูงประมาณ 1.5 เมตร มีการตัดแต่งกิ่ง และกำจัดวัชพืชเป็นประจำ และ 3) ที่ความสูง 1,350 เมตร บริเวณ สถานีวิจัยเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยนไร่หน้า (ขุนช่างเคี่ยน) อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ (พิกัด 18°50'17"N, 98°53'46"E) เป็นพื้นที่เนินเขามีระบบการปลูกที่ดี โดยปลูกได้ร่มไม้ เช่น พลับ ท้อ พญาเสือโคร่ง เป็นต้น มีการตัดแต่งกิ่ง และกำจัดวัชพืชเป็นประจำ โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ดำเนินการระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2559 – พฤษภาคม พ.ศ. 2560

วิธีการเก็บตัวอย่าง

1. ในแต่ละพื้นที่ศึกษา ทำการเลือกต้นกาแฟจำนวน 105 ต้น เก็บตัวอย่างมดที่อยู่บนต้นกาแฟ ตั้งแต่บริเวณโคนต้นจนถึงบริเวณทรงพุ่ม โดยแต่ละต้นใช้เวลาเก็บตัวอย่าง 5 นาที ด้วยการใช้ปากคีบ (forceps) หรือเครื่องดูดแมลง (aspirator)
2. ทำการนับจำนวนตัวเพลี้ยหอยสีเขียว *Coccus viridis* ที่เกาะอยู่ตามลำต้น กิ่ง ใบ และผลของต้นกาแฟ
3. แต่ละต้นตามข้อที่ 1 บันทึกชนิดของมดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียวบนต้นกาแฟแต่ละต้น

การจำแนกชนิดมด

ทำการจำแนกตัวอย่างมดที่เก็บได้จากภาคสนามโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างมดที่ระบุชื่อแล้ว และเก็บรักษาไว้ ณ พิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ และสาขากีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และเทียบจากคู่มือการจำแนกมด เช่น คู่มือจำแนกสกุลมดในประเทศไทยของวิยะวัฒน์ (2554) และ Australian ants: their biology and identification ของ Shattuck (2000)

วิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยการใช้ดัชนีความหลากหลายชนิด (Shannon - Wiener's index) ดัชนีการกระจายตัว (evenness index) ดัชนีความเด่นโดยใช้สูตรของ index of dominance (Krebs, 1999) ดัชนีความคล้ายคลึง Soresen similarity index (Southwood, 1978) และค่าความชุกชุมของมดในแต่ละพื้นที่ โดยแบ่งเป็นแต่ละระดับดังนี้ ระดับของความชุกชุม ได้แก่ พบมากที่สุด = 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป พบมาก = 60 - 79.99 เปอร์เซ็นต์ ปานกลาง = 40 - 59.99 เปอร์เซ็นต์ พบน้อย = 20 - 39.99 เปอร์เซ็นต์ และ พบน้อยมาก = น้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ทางสถิติ วิเคราะห์ความแตกต่างของความหลากหลายชนิดของมด โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติแบบ one - way ANOVA และเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของมดและเพลี้ยหอยสีเขียวโดยวิธี linear regression

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ความหลากหลายชนิดของมดที่พบบนทรงพุ่มต้นกาแฟอะราบิกาที่ความสูงแตกต่างกัน

จากการศึกษาพบมดที่อยู่บนต้นกาแฟ เป็นมดที่หากินหรือสร้างรังอยู่บนทรงพุ่มไม้ทั้งหมด 78 ชนิด 27 สกุล จาก 6 วงศ์ย่อย ได้แก่ วงศ์ย่อย Formicinae พบมากที่สุด 38 ชนิด 9 สกุล รองลงมาคือวงศ์ย่อย Myrmicinae 24 ชนิด 12 สกุล วงศ์ย่อย Dolichoderinae 13 ชนิด 3 สกุล ส่วนวงศ์ย่อย Ponerinae, Pseudomyrmecinae

และ Ectatomminae พบมดเพียงวงศ์ย่อยละ 1 ชนิด มีเปอร์เซ็นต์ความชุกชุมรวมของมดในทั้งสามพื้นที่เป็น 49.89 เปอร์เซ็นต์ (ความชุกชุมปานกลาง = 40 – 59.99 เปอร์เซ็นต์) การศึกษาครั้งนี้พบมดสกุล *Polyrhachis* 17 ชนิด ซึ่งเป็นสกุลมดที่พบจำนวนชนิดมากที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Watanasit *et al.* (2005) ที่พบมดสกุล *Polyrhachis* มากที่สุดจากการศึกษาองค์ประกอบของมดบนร่มไม้ ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโดนงาช้าง จังหวัดสงขลา ประเทศไทย และยังสอดคล้องกับ Onishi *et al.* (2016) ที่พบมดสกุล *Polyrhachis* มากที่สุดบริเวณทรงพุ่มของต้นกาแฟบนที่สูงทางภาคเหนือ ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่ามดสกุลนี้เป็นมดเด่นที่สามารถพบได้บ่อยตามพุ่มไม้ต่าง ๆ Jaitrong *et al.* (2007) และ Liefke *et al.* (1998) พบมด *Polyrhachis* หลายชนิดสร้างรังและหากินอยู่ตามพุ่มไม้ นอกจากนี้จากการสำรวจจึงพบมดสกุลอื่น ๆ ที่เป็นมดเด่นบริเวณทรงพุ่มของกาแฟ เช่น สกุล *Dolichoderus*, *Camponotus* และ *Techonomyrmex*

จากการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของมดบนทรงพุ่มของต้นกาแฟ ด้วยค่าดัชนีความหลากหลาย (Shannon - Wiener's index, H') ดัชนีการกระจายตัว (evenness index) และจำนวนชนิดของมด (species richness) ตามฤดูกาล พบว่าฤดูฝนมีความหลากหลายทางชีวภาพของมดมากที่สุด รองลงมาคือฤดูร้อน

และฤดูหนาว (ภาพที่ 1) ค่าดัชนีความหลากหลายชนิดของมดในแต่ละฤดูกาลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) และจากค่าปริมาณน้ำฝนในช่วงเดือนต่าง ๆ พบว่า ปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์กับค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพของมด สอดคล้องกับรายงานของ Torchote *et al.* (2010) ที่พบว่าในฤดูฝนมีจำนวนชนิดมดมากกว่าฤดูแล้ง และ Weiser *et al.* (2010) ที่รายงานไว้ว่า ความหนาแน่นของชนิดมดมีความสัมพันธ์กันทางบวกกับปริมาณน้ำฝน

ในแปลงกาแฟบ้านป่าเมี่ยง (ระดับความสูงประมาณ 930 เมตร) พบมดทั้งหมด 51 ชนิด 22 สกุล จาก 6 วงศ์ย่อย บ้านขุนลาว (ความสูง 1,200 เมตร) พบมดทั้งหมด 45 ชนิด 19 สกุล จาก 5 วงศ์ย่อย และขุนช้างเคียน (ความสูง 1,350 เมตร) พบมดทั้งหมด 33 ชนิด 18 สกุล จาก 5 วงศ์ย่อย มีเปอร์เซ็นต์ความชุกชุมเป็น 61.11, 45.55 และ 43.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากระดับความสูงจากน้ำทะเลพบว่า ความสูงจากน้ำทะเลมีผลต่อจำนวนของชนิด (species richness) ความสูงจากน้ำทะเลมากชนิดมดที่พบจะน้อยลง (ภาพที่ 2) สอดคล้องกับรายงานของ Araújo and Fernandes (2003), Burwell and Nakamura (2011), Kusnezov (1957) และ Onishi *et al.* (2016) ซึ่งพบว่าพื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลมากขึ้นมักพบจำนวนชนิดมดน้อยลง

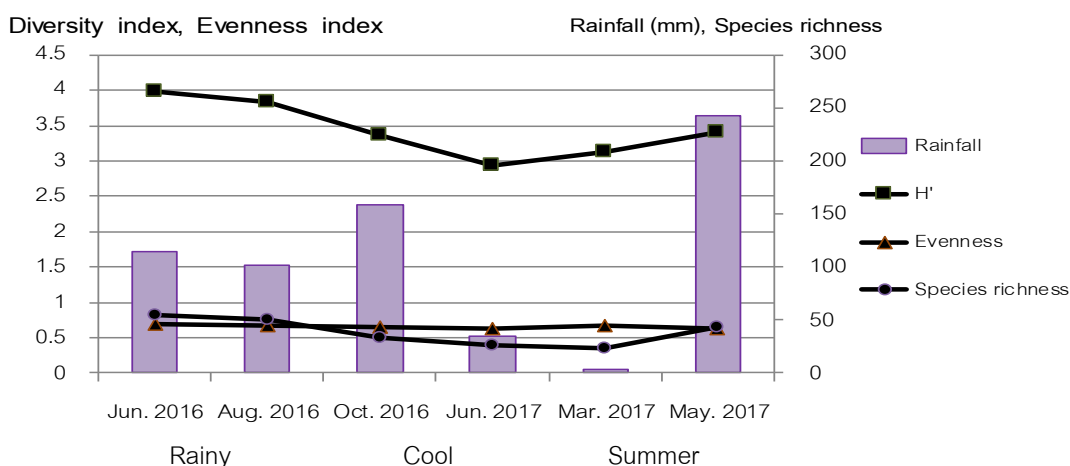


Figure 1. Diversity index (Shannon - Wiener's index, H'), evenness index and species richness in each season on June 2016 - May 2017

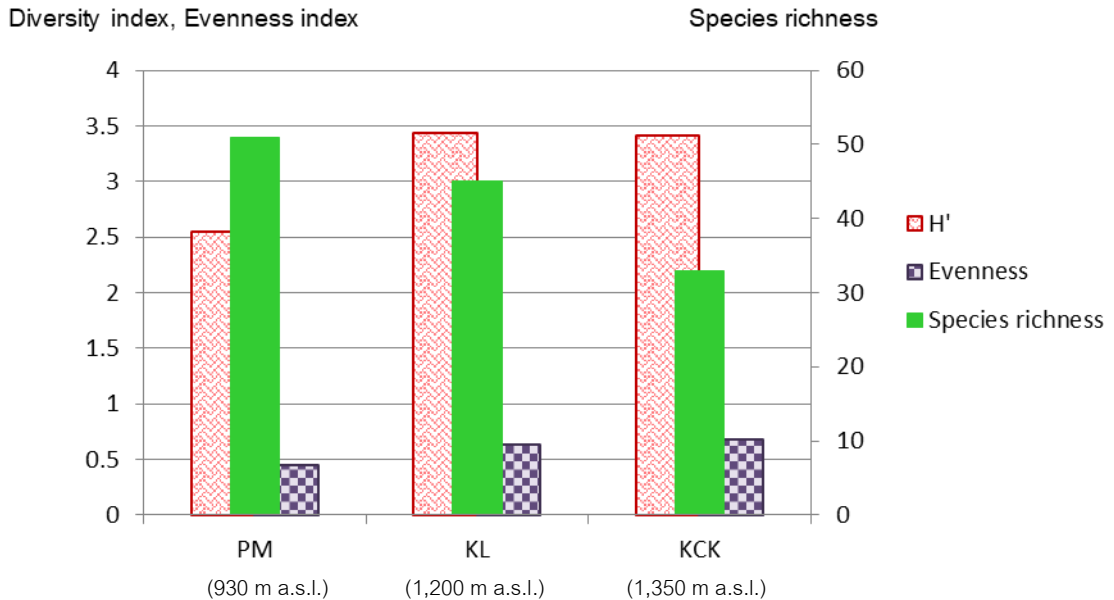


Figure 2. Diversity index (Shannon - Wiener's index, H'), evenness index and species richness in each area; Pa Miang (PM), Khun Lao (KL) and Khun Chang Khian (KCK) during June 2016 - May 2017

และพบว่าค่าดัชนีความหลากหลายชนิด และดัชนีการกระจายตัวที่มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความสูงจากน้ำทะเลเพิ่มขึ้น เนื่องจากการกระจายตัวของชนิดมดมีความสม่ำเสมอขึ้น แสดงให้เห็นว่าเมื่อจำนวนชนิดลดลงการกระจายตัวของชนิดมดจะมากขึ้น และส่งผลต่อค่าความหลากหลายชนิดและการกระจายตัว สอดคล้องกับ Bharti *et al.* (2013) ที่รายงานการศึกษาความหลากหลายชนิดของมดที่ระดับความสูงของพื้นที่แตกต่างกันว่าจำนวนชนิดและค่าดัชนีความหลากหลายชนิดของมดที่พบจะเพิ่มสูงสุดที่ความสูงประมาณ 1,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล และลดลงที่ระดับความสูงมากขึ้นไป (2,000-4,000 เมตร)

เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าดัชนีความหลากหลายชนิดของมดในแต่ละพื้นที่พบว่า ค่าดัชนีความหลากหลายชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความสูงของพื้นที่แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 2) จากค่าความคล้ายคลึงกันของชนิดมดในพื้นที่ทั้งหมดพบว่าพื้นที่บ้านป่าเมี่ยงและบ้านขุนลาวมีความคล้ายคลึงกันของชนิดมดที่พบบนทรงพุ่มต้นกาแฟมากที่สุด เท่ากับ 48.936 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ พื้นที่บ้านป่าเมี่ยงและขุนช่างเคี่ยน เท่ากับ 46.341 เปอร์เซ็นต์ และพื้นที่บ้านขุนลาวและขุนช่างเคี่ยนมีค่าความคล้ายคลึงกันของชนิดมดน้อย

ที่สุด เท่ากับ 44.737 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าค่าความคล้ายคลึงกันของชนิดมดทั้งสามพื้นที่ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากทุกพื้นที่เก็บตัวอย่างมดที่อาศัยอยู่บนทรงพุ่มกาแฟเท่านั้น ค่าดัชนีการกระจายตัว (evenness index) ของมดแต่ละพื้นที่ศึกษาอยู่ระหว่าง 0.4-0.6 ถือว่ามีการกระจายตัวของมดอยู่ในระดับปานกลางหรือค่อนข้างน้อย คือในแปลงปลูกกาแฟพบมดแต่ละชนิดในปริมาณที่แตกต่างกันค่อนข้างมาก อาจเป็นเพราะบริเวณทรงพุ่มของต้นกาแฟเป็นแหล่งสร้างรังและแหล่งหากินของมดบางชนิด เช่น มดในสกุล *Polyrhachis*, *Dolichoderus*, *Camponotus* และ *Technomyrmex* อย่างที่กล่าวแล้วข้างต้น ทำให้พบมดเหล่านี้เด่นกว่ามดกลุ่มอื่นๆ อีกหลายชนิด

พื้นที่บ้านป่าเมี่ยงพบมด *Technomyrmex yamanei*, *Technomyrmex modiglianii*, *Dolichoderus thoracicus*, *Dolichoderus feae* และ *Polyrhachis bicolor* เป็นมดเด่นที่มีค่าดัชนีความเด่น 5 ลำดับแรก คือ 30.517, 1.912, 1.085, 0.131, 0.072 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พื้นที่บ้านขุนลาวพบมด *T. yamanei*, *D. thoracicus*, *Dolichoderus butteli*, *Dolichoderus taprobanae* และ *Technomyrmex albipes* เป็นมดเด่น

ที่มีดัชนีความเด่น คือ 5.874, 3.245, 2.156, 1.442, 0.335 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พื้นที่ขุนช้างเคียนพมด *D. thoracicus*, *Crematogaster fraxitrix*, *Crematogaster rogenhoferi*, *P. bicolor* และ *Anoplolepis gracilipes* เป็นมดเด่น ที่มีดัชนีความเด่น คือ 8.310, 4.519, 1.337, 0.375, 0.140 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Watt *et al.* (2002) ที่พบมดสกุล *Technomyrmex* มากที่สุดจากการศึกษามดที่อยู่บนทรงพุ่มไม้ ทางตอนใต้ของประเทศแคว้นเมอรูน แสดงให้เห็นว่ามดสกุล *Technomyrmex* เป็นมดที่พบได้ทั่วไปบนต้นไม้ อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบมด *T. yamaneii* ในพื้นที่ขุนช้างเคียน ซึ่งมีความสูง 1,350 เมตรจากระดับน้ำทะเล เช่นเดียวกับ Onishi *et al.* (2016) ที่ไม่พบมด *T. yamaneii* ในพื้นที่การศึกษาขุนช้างเคียน ทั้งนี้ระดับความสูงของพื้นที่อาจเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของมดชนิดนี้ ซึ่งมดชนิดนี้มีรายงานพบครั้งแรกในจังหวัดเชียงใหม่ ที่ความสูงประมาณ 700-800 เมตรจากระดับน้ำทะเล (Bolton, 2007) ยังจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเป็นการยืนยันการแพร่กระจายของมด *T. yamaneii* นี้

จากการศึกษาพบการเข้าทำลายของเพลี้ยหอยสีเขียว *Coccus viridis* บนต้นกาแฟ โดยจำนวนของเพลี้ยหอยสีเขียวเพิ่มมากขึ้นในช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนเพิ่มมากขึ้นในฤดูฝน และมีแนวโน้มลดจำนวนลงในช่วงที่ปริมาณน้ำฝนลดลงช่วงฤดูแล้ง (ภาพที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ชูลิรัตน์ และคณะ (2559); ปิยะวรรณ และเยาวลักษณ์ (2557) ที่พบเพลี้ยหอยสีเขียวมากในช่วงฤดูฝน คือตั้งแต่ประมาณเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนสิงหาคม และมีปริมาณลดลงในช่วงฤดูแล้ง พื้นที่บ้านป่าเมี่ยงมีการ

ระบาดของเพลี้ยหอยสีเขียวมากที่สุด รองลงมาคือ พื้นที่บ้านขุนลาว และขุนช้างเคียน ตามลำดับ เป็นที่น่าสังเกตว่าในพื้นที่บ้านป่าเมี่ยง มีมด *T. yamaneii* ชุกชุมมากที่สุด สอดคล้องกับการระบาดของเพลี้ยหอยสีเขียวที่มีมากตามไปด้วย ในขณะที่พื้นที่บ้านขุนลาวพบความชุกชุมน้อยลง และพื้นที่ขุนช้างเคียนไม่พบมดชนิดนี้การระบาดของเพลี้ยหอยสีเขียวก็มีน้อยลงเช่นกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่ามด *T. yamaneii* เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีการเพิ่มจำนวนขึ้นของเพลี้ยหอยสีเขียวในพื้นที่บ้านป่าเมี่ยง อย่างไรก็ตามพบว่าในแต่ละพื้นที่มีการจัดการแปลงกาแฟที่แตกต่างกัน พื้นที่ขุนช้างเคียน มีการจัดการแปลงที่มีระบบการปลูกที่เหมาะสม รองลงมาคือพื้นที่บ้านขุนลาว และพื้นที่บ้านป่าเมี่ยงตามลำดับ ซึ่งอาจส่งผลถึงการเพิ่มและลดลงของจำนวนเพลี้ยหอยสีเขียว สอดคล้องกับการรายงานของ ชูลิรัตน์ และคณะ (2559) และ Barrera (2008) ที่รายงานว่าการจัดการแบบเขตกรรม คือ การตัดแต่งกิ่งให้โปร่ง กำจัดกิ่งที่มีแมลงเข้าทำลาย การกำจัดวัชพืชในแปลงปลูกกาแฟ สามารถลดจำนวนของเพลี้ยหอยสีเขียวได้นอกจากปริมาณน้ำฝน ชนิดมดเด่น ๆ บนทรงพุ่มกาแฟ และระบบการจัดการแปลงปลูกกาแฟแล้ว ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการระบาดของเพลี้ยหอยสีเขียว (ภาพที่ 3) เนื่องจากบนพื้นที่สูงมีอากาศหนาวเย็นอันเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยขัดขวางการแพร่ระบาด

เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของชนิดมดและเพลี้ยหอยสีเขียว พบว่ามีความสัมพันธ์ในเชิงบวก คือเมื่อจำนวนมดมีมากขึ้น จำนวนของเพลี้ยหอยสีเขียวจะเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ ในพื้นที่บ้านป่าเมี่ยง จำนวนของมดกับจำนวนเพลี้ยหอยสีเขียวมีความสัมพันธ์กันเชิงบวก

Table 1. Dominance index (D) of 5 dominance ant species collected in each area; Pa Miang (PM), Khun Lao (KL) and Khun Chang Khian (KCK) during June 2016 - May 2017

PM		KL		KCK	
Species	D	Species	D	Species	D
<i>Technomyrmex yamaneii</i>	30.517	<i>Technomyrmex yamaneii</i>	5.874	<i>Dolichoderus thoracicus</i>	8.310
<i>Technomyrmex modiglianii</i>	1.912	<i>Dolichoderus butteli</i>	3.245	<i>Crematogaster fraxitrix</i>	4.519
<i>Dolichoderus thoracicus</i>	1.085	<i>Dolichoderus thoracicus</i>	2.156	<i>Crematogaster rogenhoferi</i>	1.337
<i>Dolichoderus feae</i>	0.131	<i>Dolichoderus taprobanae</i>	1.442	<i>Polyrhachis bicolor</i>	0.375
<i>Polyrhachis bicolor</i>	0.072	<i>Technomyrmex albipes</i>	0.335	<i>Anoplolepis gracilipes</i>	0.140

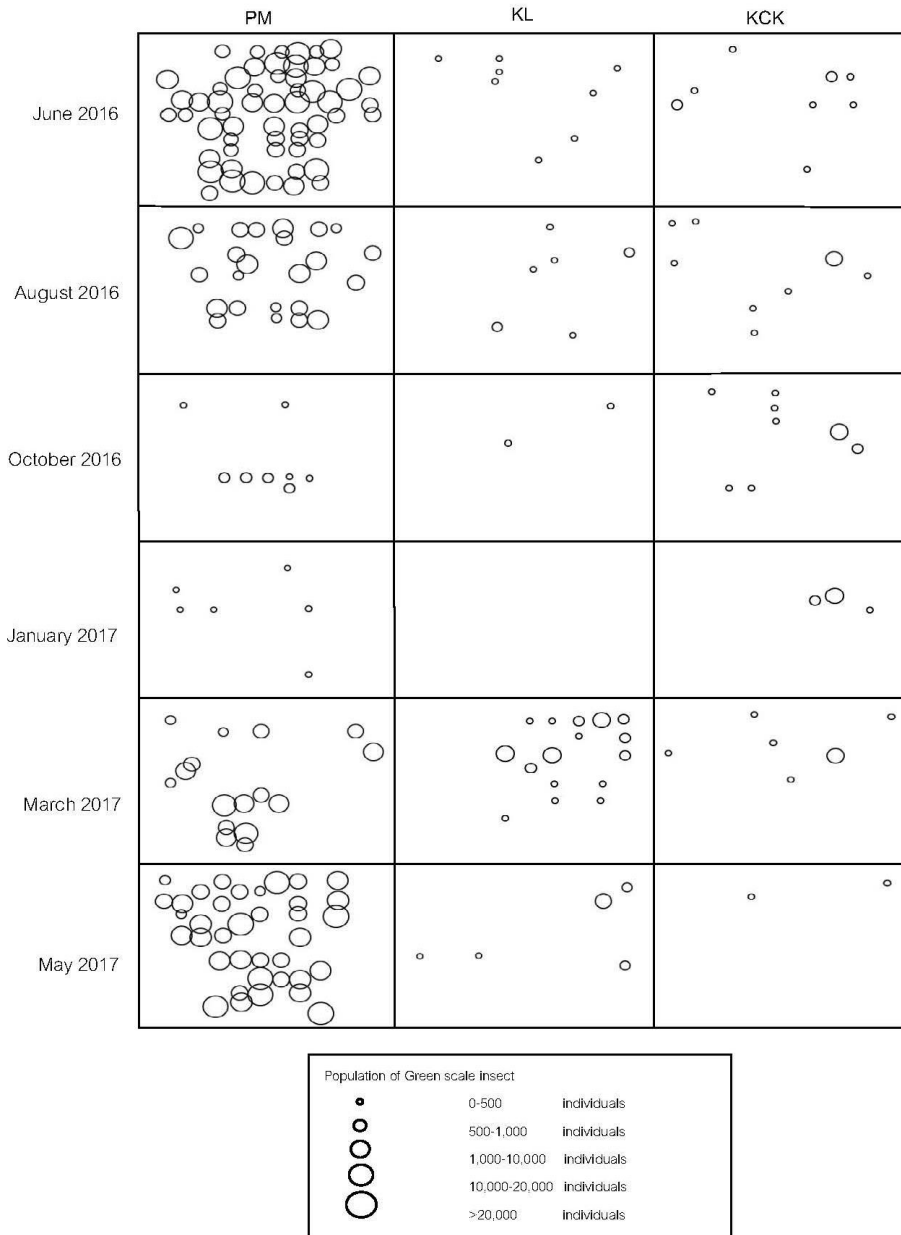


Figure 3. Population of green scale insect in each area; Pa Miang (PM), Khun Lao (KL) and Khun Chang Khian (KCK) during June 2016 - May 2017

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่าความสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.719 แสดงว่าเมื่อพบเพลี้ยหอยสีเขียวมากขึ้นจะพบมดมากขึ้นเช่นกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Bach (1991) ที่พบว่า

เมื่อมีมดอยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียว จำนวนของเพลี้ยหอยสีเขียวจะเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัว แต่เมื่อนำมดออกไปจำนวนเพลี้ยหอยสีเขียวจะคงที่ ขณะที่พื้นที่บ้านขุนลาวและขุนช่างเคี่ยน พบว่าจำนวนของมดกับจำนวนเพลี้ย

หอยสีเขียวไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P>0.05$) ซึ่งมีค่าความสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.295 และ 0.497 ตามลำดับ (ภาพที่ 4) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการดูแลแปลงปลูกที่ดีทำให้ทั้งสองพื้นที่ที่พบมดและเพลี้ยหอยสีเขียวในจำนวนที่น้อย

การศึกษานี้พบมดทั้งหมด 48 ชนิดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียวบนต้นกาแฟ ในจำนวนนี้เป็นมดที่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียวบนต้นกาแฟในลักษณะต่าง ๆ เช่น คอยดูแลเพลี้ยหอยสีเขียวจากศัตรูธรรมชาติ เก็บนำหวานจากเพลี้ยหอยสีเขียว มีมดทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ *D. butteli*, *D. feae*, *D. taprobanae*, *D. thoracicus*, *Tapinoma melanocephalum*, *T. albipes*, *T. modiglianii*, *T. yamanei*, *A. gracilipes*, *Oecophylla smaragdina*, *C. rogenhoferi* และ *Pheidole dugasi* ในพื้นที่บ้านป่าเมี่ยงพบมดที่อาศัยอยู่ร่วมกับเพลี้ยหอย 8 ชนิด คือ *D. feae*, *D. taprobanae*, *D. thoracicus*,

T. melanocephalum, *T. albipes*, *T. modiglianii*, *T. yamanei* และ *O. smaragdina* พื้นที่บ้านขุนลาวพบ 6 ชนิด คือ *D. butteli*, *D. taprobanae*, *D. thoracicus*, *T. albipes*, *T. yamanei* และ *P. dugasi* และพื้นที่ขุนช่างเคี่ยน พบ 4 ชนิด คือ *D. thoracicus*, *T. yamanei*, *A. gracilipes* และ *C. rogenhoferi* (ตารางที่ 2) แบ่งระดับความสัมพันธ์ของมดและเพลี้ยหอยสีเขียวจากดัชนีความเด่นของมดที่ปรากฏร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียว พบว่ามด *T. yamanei* และ *D. thoracicus* มีความสัมพันธ์กับเพลี้ยหอยสีเขียวในระดับที่มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Onishi *et al.* (2016) ที่พบมดว่า *T. yamanei* เป็นมดที่อาศัยอยู่ร่วมกันกับเพลี้ยหอยสีเขียวในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย นอกจากนี้รายงานของ Jha *et al.* (2009) พบว่ามด *Camponotus* sp. และ *Crematogaster* sp. เป็นมดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียว และจากการรายงานของ Murphy (1991) พบมด *Pheidole* sp. เป็นมดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียวบนต้น

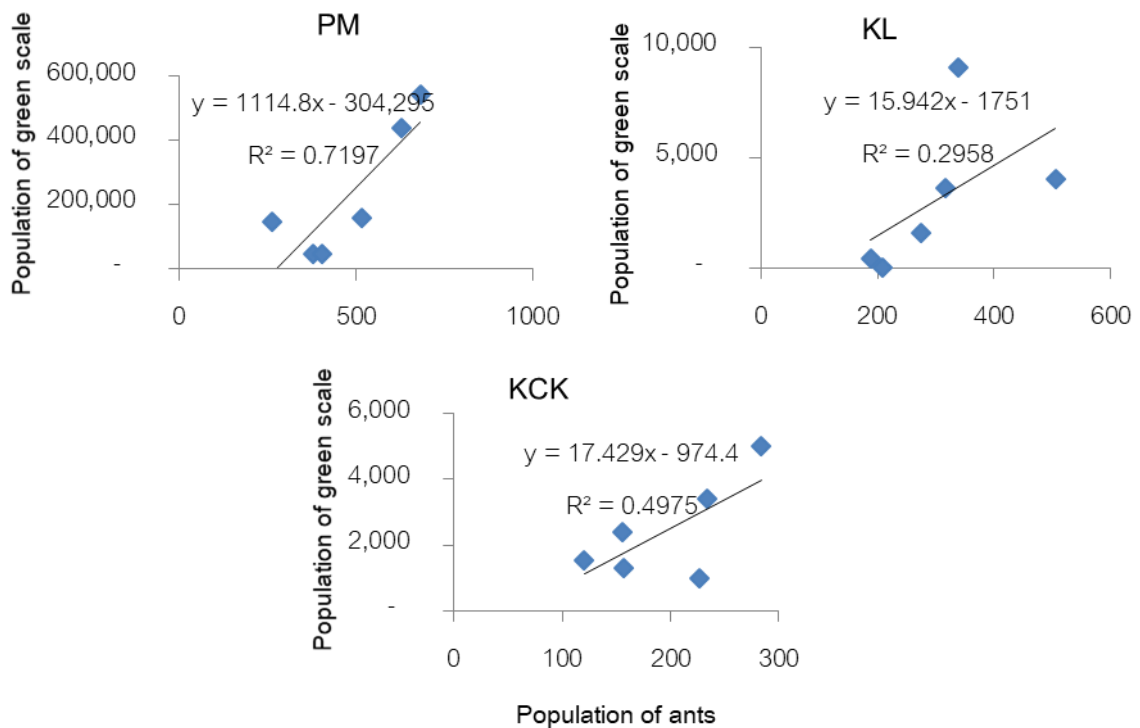


Figure 4. Regression analysis of ants and green scale insect in Pa Miang (PM), Khun Lao (KL) and Khun Chang Khian (KCK) during June 2016 - May 2017

Table 2. Ant species and green scale insect association found in coffee plantations; Pa Miang (PM), Khun Lao (KL) and Khun Chang Khian (KCK) during June 2016 - May 2017

Species	PM	KL	KCK
Dolichoderinae			
<i>Dolichoderus butteli</i>		✓	
<i>Dolichoderus feae</i>	✓		
<i>Dolichoderus taprobanae</i>	✓	✓	
<i>Dolichoderus thoracicus</i>	✓	✓	✓
<i>Tapinoma melanocephalum</i>	✓		
<i>Technomyrmex albipes</i>	✓	✓	
<i>Technomyrmex modiglianii</i>	✓		✓
<i>Technomyrmex yamaneii</i>	✓	✓	
Formicinae			
<i>Anoplolepis gracilipes</i>			✓
<i>Oecophylla smaragdina</i>	✓		
Myrmicinae			
<i>Crematogaster rogenhoferi</i>			✓
<i>Pheidole dugasi</i>		✓	

กาแฟในประเทศปาวานิกินี แสดงให้เห็นว่ามดเหล่านี้เป็นมดที่มักอาศัยอยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียว และจากรายงานของ Onishi *et al.* (2017) ที่พบว่ามด *Dolichoderus* sp. และ *Tapinoma* sp. เป็นมดที่มีศักยภาพเป็นมดตัวห้ำของมดเจาะผลกาแฟซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญของกาแฟ แสดงว่ามด *Dolichoderus* sp. และ *Tapinoma* sp. เป็นมดที่มีทั้งประโยชน์และโทษในแปลงปลูกกาแฟ

ข้อเสนอแนะในการกำจัดมด และเพลี้ยหอยสีเขียวสามารถทำได้โดยการตัดแต่งทรงพุ่มให้โปร่ง เก็บรังมดไปทำลาย เนื่องจากมดที่อยู่บนทรงพุ่มไม้จะสร้างรังที่มีขนาดใหญ่ (Weiser *et al.*, 2011) และสามารถใช้สาร buprofezin และน้ำคั้นมะละกอ กำจัดเพลี้ยหอยสีเขียวได้ตามคำแนะนำจากรายงานของ ชูลีรัตน์ และคณะ (2559)

สรุป

พบมดที่อยู่บนทรงพุ่มกาแฟอะราบิกาในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทยจำนวน 78 ชนิด 27 สกุล 6 วงศ์ย่อย โดยพบมดในวงศ์ย่อย Formicinae มากที่สุด และพบมด *T. yamaneii* และ *D. thoracicus* เป็นมดชนิดเด่นบนทรงพุ่มของต้นกาแฟ ความหลากหลายทางชีวภาพของมดสูงมากที่สุดในฤดูฝน รองลงมาคือฤดูร้อนและฤดูหนาว แต่มีดัชนีความหลากหลายชนิดไม่ต่างกันในพื้นที่ศึกษา เพลี้ยหอยสีเขียวมีการระบาดมากในช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มลดลงในช่วงฤดูแล้งที่มีปริมาณน้ำฝนน้อย พื้นที่บ้านป่าเมี่ยงพบการระบาดของเพลี้ยหอยสีเขียวมากที่สุด จำนวนของมดกับจำนวนเพลี้ยหอยสีเขียวมีความสัมพันธ์กันเชิงบวกในทุกพื้นที่ พบมดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียวบนต้นกาแฟจำนวน 48 ชนิด และมีมด 12 ชนิดที่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียว โดยพบว่ามด *T. yamaneii* มีความสัมพันธ์กับจำนวนเพลี้ยหอยสีเขียวในระดับที่มากที่สุด และอาจเป็นหนึ่งในชนิดมดที่สามารถ

แพร่กระจายเพลี้ยหอยสีเขียว ดังนั้นหากควบคุมเพลี้ยหอยสีเขียวจำเป็นต้องควบคุมมดที่อยู่ร่วมกับเพลี้ยหอยสีเขียวด้วย เพื่อประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูกาแฟ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณอย่างสูงต่อองค์การพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติที่อนุญาตให้คณะผู้วิจัยเข้าศึกษาตัวอย่างมดที่เก็บรักษาไว้ ณ พิพิธภัณฑสถานชาติวิทยาและขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ชัยพร บัวมาศ และ เดชา วิวัฒน์วิทยา. 2548. การศึกษา
มดในห้วยเขย่ง อำเภอทองผาภูมิ จังหวัด
กาญจนบุรี. วารสารวนศาสตร์ 24: 59-72.

ชลีรัตน์ รังสรรค์ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์ และ เยาว
ลักษณ์ จันทรวง. 2559. ชีววิทยาของเพลี้ย
หอยสีเขียว (*Coccus viridis* Green) และการ
ควบคุมด้วยสารฆ่าแมลงและเชื้อราสาเหตุโรค
แมลงในแปลงปลูกกาแฟ. วารสารเกษตร 32(1):
83-93.

เดชา วิวัฒน์วิทยา. 2550. มดน้ำ. ข่าวสารเกษตรศาสตร์
52(2): 14-22.

ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์ และ เยาวลักษณ์ จันทรวง.
2557. การสำรวจแมลงศัตรูกาแฟอาราบิก้าและ
แมลงศัตรูธรรมชาติ ในจังหวัดเชียงใหม่และ
เชียงราย. วารสารเกษตร 30(3): 233-242.

เผ่าไท ถายะพินธุ์ และ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์. 2558.
การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีภูมิสารสนเทศใน
การศึกษาคความหลากหลายและการแพร่กระจาย
ของแมลงศัตรูกาแฟอาราบิก้าในจังหวัด
เชียงใหม่และเชียงราย. วารสารเกษตร 31(2):
203-213.

วิยะวัฒน์ ใจตรง. 2554. คู่มือการจำแนกสกุลมดใน
ประเทศไทย. บริษัทพดด้วง เอ็นเตอร์ไพรส์,
ปทุมธานี. 155 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. กาแฟ. (ระบบ
ออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [http://www.oae.go.th/
download/prcai/farmcrop/coffee.pdf](http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrop/coffee.pdf)
(10 มกราคม 2561).

Araújo L. M. and G. W. Fernandes. 2003. Altitudinal
patterns in a tropical ant assemblage and
variation in species richness between
habitats. *Lundiana* 4(2):103-109.

Bach, C.E. 1991. Direct and indirect interactions
between ants (*Pheidole megaceph*), scales
(*Coccus viridis*) and plants (*Pluchea
indica*). *Oecologia* 87: 233-239.

Barrera, J.F. 2008. Coffee pests and their
management. pp. 961-998. *In*: J.L.
Capinera (ed.). *Encyclopedia of
Entomology*. Springer, Dordrecht.

Bharti H., Y. Sharma, M. Bharti and M. Pfeiffer. 2013.
Ant species richness, endemism and
functional groups, along an elevational
gradient in the Himalayas. *Asian
Myrmecology* 5: 79-101.

Bolton, B. 2007. Taxonomy of the dolichoderine ant
genus *Technomyrmex* Mayr (Hymenoptera:
Formicidae) based on the worker caste.
*Contributions of the American
Entomological Institute* 35(1): 1-149.

Burwell C.J. and A. Nakamura. 2011. Distribution of
ant species along an altitudinal transect in
continuous rainforest in subtropical
Queensland, Australia. *Memoirs of the
Queensland Museum - Nature* 55(2): 391-
411.

Gullan, P.J. 1997. Relationships with ants. pp. 351-
373. *In*: Y. Ben-Dov and C.J. Hodgson
(eds.). *Soft Scale Insects - Their Biology,
Natural Enemies and Control*. Elsevier
Science, Amsterdam.

- Itioka, T. and T. Inoue. 1996. The role of predators and attendant ants in the regulation and persistence of a population of the citrus mealybug *Pseudococcus citriculus* in a Satsuma orange orchard. *Applied Entomology & Zoology* 31(2):195-202.
- Jahn, G.C., J.W. Beardsley and H.G. Hernandez. 2003. A review of association of ants with mealybug wilt disease of pineapple. *Hawaiian Entomological Society* 36: 9-28.
- Jaitrong, W. and J. Nabhitabhata. 2005. A list of known ant species of Thailand (Formicidae: Hymenoptera). *The Thailand Natural History Museum Journal* 1(1): 9-54.
- Jaitrong, W., P. Kumthong and S. Hasin. 2007. Nest structure and nesting habits of *Polyrhachis muelleri* Forel, 1893 in eastern Thailand (Hymenoptera: Formicidae). *The Thailand Natural History Museum Journal* 2(1): 19-25.
- Jha, S., J.H. Vandermeer and I. Perfecto. 2009. Population dynamics of *Coccus viridis*, a ubiquitous ant-tended agricultural pest, assessed by a new photographic method. *Bulletin of Insectology* 62(2): 183-189.
- Johnson C., D. Agosti, J.H. Delabie, K. Dumpert, D. J. Williams, M. von Tschimhaus and U. Maschwitz. 2001. Acropyga and Azteca ants (Hymenoptera: Formicidae) with scale insects (Stemorrhyncha: Coccoidea): 20 million years of intimate symbiosis. *American Museum novitates*, no. 3335. American Museum of Natural History, New York. 18 p.
- Krebs, C.J. 1999. *Ecological Methodology*. 2nd ed. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA. 620 p.
- Kusnezov, N. 1957. Numbers of species of ants in faunae of different latitudes. *Evolution* 11: 298-299.
- Liefke, C., W.H.O. Dorow, B. Holldobler and U. Maschwitz. 1998. Nesting and food resources of syntopic species of the ant genus *Polyrhachis* (Hymenoptera, Formicidae) in West-Malaysia. *Insectes Sociaux* 45: 411-425.
- Murphy, S.T. 1991. Insect natural enemies of coffee green scales (Hemiptera: Coccidae) in Kenya and their potential for biological control of *Coccus celatus* and *C. viridis* in Papua New Guinea. *Entomophaga* 36(4): 519-529.
- Onishi, Y., P. Suttiaprapan, J. Kulsarin, W. Jaitrong and F. Ito. 2017. Behavioral interactions between coffee berry borers and ants in Chiang Mai, Thailand. *Journal of Agriculture* 33(1): 1-8.
- Onishi, Y., W. Jaitrong, P. Suttiaprapan, S. Buranapanichpan, Y. Chanbang and F. Ito. 2016. Ant species diversity in coffee plantation in Chiang Mai province, northern Thailand. *The Thailand Natural History Museum Journal* 10(1): 33-48.
- Shattuck, S. O. 2000. *Australian Ants: Their Biology and Identification*. CSIRO Publishing, Collingwood. 226 p.
- Southwood, T.R.E. 1978. *Ecological Methods*. 2nd ed. Chapman & Hall, New York. 524 p.
- Torchote, P., D. Sitthicharoenchai and C. Chaisuekul. 2010. Ant species diversity and community composition in three different habitats: mixed deciduous forest, teak plantation and fruit orchard. *Tropical Natural History* 10(1): 37-51.
- Watanasit, S., S. Tongjerm and D. Wiwatwitaya. 2005. Composition of canopy ants (Hymenoptera: Formicidae) at Ton Nga Chang Wildlife Sanctuary, Songkhla

- province, Thailand. Songklanakarin Journal of Science and Technology 27 (Suppl. 3): 665-673.
- Watt, A.D., N.E. Stork and B. Bolton. 2002. The diversity and abundance of ants in relation to forest disturbance and plantation establishment in southern Cameroon. Journal of Applied Ecology 39: 18-30.
- Weiser, M.D., N.J. Sander, D. Agosti, A.N. Andersen, A.M. Ellison, B.L. Fisher, H. Gibb, N.J. Gotelli, A.D. Gove, K. Gross, B. Guénard, M. Janda, M. Kaspari, J.P. Lessard, J.T. Longino, J.D. Majer, S.B. Menke, T.P. McGlynn, C.L. Parr, S.M. Philpott, J. Retana, A.V. Suarez, H.L. Vasconcelos, S.P. Yanoviak and R.R. Dunn. 2010. Canopy and litter ant assemblages share similar climate - species density relationships. Biology Letters 6: 769-772.
-

ประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีทส์จากผึ้งมีมดำ (*Apis andreniformis*)
ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*
สาเหตุโรครากปมพริกในสภาพโรงเรือน

Efficiency of Actinomycetes Isolated from Black Dwarf Honey Bee
(*Apis andreniformis*) in Controlling Root - Knot Nematode, *Meloidogyne incognita*
Causes Root Knot Disease of Chili in Greenhouse

จันทิมา สันติสุข¹ เยาวนุช พรมนวล² อมรศรี ขุนอินทร์¹ พงศ์ระวี นิ่มน้อย¹ และ พรทิพย์ เรือนปานันท์^{1*}
Jantima Santisuk¹, Yaowanoot Promnuan², Amonsri Khun-In¹, Pongrawee Nimnoi²
and Pornthip Ruanpanun^{1*}

¹ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

¹Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Nakhon Pathom 73140, Thailand

²โครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

²Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Sciences, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon
Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: Email: fagrptr@ku.ac.th

(Received: 12 February 2018; Accepted: 15 June 2018)

Abstract: A total of 33 actinomycete isolates obtained from black dwarf honey bee (*Apis andreniformis*) were subjected to primary screening *in vitro* for their effects on *Meloidogyne incognita* by using their spore suspensions. Eleven isolates showed high activity in decreasing egg hatch rate and increasing infective second-stage juvenile mortality rate of *M. incognita* significantly. *Streptomyces* sp. isolate A038 reduced egg hatch rate the most by 92.04% and isolate A027 increased the juvenile mortality rate by 51.31% compared to the control. Then eleven isolates were subjected to secondary screening *in vitro* for their effects on hatching of egg mass of *M. incognita* by using their spore suspension. *Streptomyces* sp. isolate A032 and A031 reduced egg mass hatch rate the most by 69.51% and 69.43%, respectively. In pot experiment, strain A032 presented the highest control efficacy in reducing root gall of chili by 50%. Additionally, this strain promoted chili growth by increasing dry shoot weight.

Keywords: *Meloidogyne incognita*, biological control, actinomycetes, *Apis andreniformis*

บทคัดย่อ: การทดสอบแอคติโนไมซีทส์ที่แยกได้จากลำไส้ฝั่มมีมด้า (*Apis andreniformis*) จำนวน 33 ไอโซเลท ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าแอคติโนไมซีทส์จำนวน 11 ไอโซเลทมีความสามารถในการลดอัตราการฟักของไข่และเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ซึ่งเป็นระยะเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ไอโซเลท A038 ลดอัตราการฟักไข่ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 92.04 และไอโซเลท A027 เพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 มากที่สุดถึงร้อยละ 51.31 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม จากนั้นนำเชื้อแอคติโนไมซีทส์ทั้ง 11 ไอโซเลท มาทดสอบผลของการฟักของไข่ในกลุ่มไข่ พบว่าแอคติโนไมซีทส์ไอโซเลท A032 และ A031 สามารถลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่มากที่สุดถึงร้อยละ 69.51 และ 69.43 ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อแอคติโนไมซีทส์ทั้ง 11 ไอโซเลทมาทดสอบการควบคุมโรครากปมของพริกในระดับโรงเรือนพบว่าเชื้อแอคติโนไมซีทส์ไอโซเลท A032 สามารถลดการเกิดปมของรากพริกสูงถึงร้อยละ 50 นอกจากนี้ยังทำให้น้ำหนักแห้งของพริกเพิ่มขึ้นอีกด้วย

คำสำคัญ: *Meloidogyne incognita* การควบคุมโดยชีววิธี แอคติโนไมซีทส์ *Apis andreniformis*

คำนำ

พริก เป็น พืช ใน วงศ์ Solanaceae สกุล *Capsicum* ที่ได้รับความนิยมบริโภคทั่วโลก สำหรับในประเทศไทยนั้น พริกถือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหาร โดยมีพื้นที่เพาะปลูกพริกทั่วประเทศ 490,000 ไร่ (นุชนารถ และคณะ, 2552) ปริมาณการส่งออก 12,283 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 114 ล้านบาท (กมล, 2555) ในการผลิตพริกมีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตไม่ว่าจะเป็นเชื้อก่อโรคและแมลงศัตรูพืช ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. ถือเป็นศัตรูพืชที่สำคัญที่สร้างความเสียหายต่อพริกโดยเฉพาะชนิด *M. incognita* ในปี พ.ศ. 2550 พบการระบาดของไส้เดือนฝอยชนิดดังกล่าวในแปลงปลูกพริกจำนวน 1,629 ไร่ ในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี พบความเสียหายของผลผลิตและคุณภาพลดลงตั้งแต่ร้อยละ 50 และในบางบริเวณเสียหายถึงร้อยละ 100 (นุชนารถ, 2550) ลักษณะอาการของโรครากปมคือเกิดปมที่มีขนาดใหญ่กว่ารากปกติ เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปมดูดกินสารอาหารภายในเซลล์พืช ทำให้เซลล์ที่ถูกทำลายนั้นแบ่งตัวผิดปกติเกิดเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ (giant cell) ปิดกั้นท่อน้ำท่ออาหารจากรากไปเลี้ยงลำต้นส่วนเหนือดิน ทำให้พริกแสดงอาการเหี่ยวเฉา ต้นแคระแกร็นและหลุดโทรม ในรายที่มีการเข้าทำลายอย่างรุนแรงพริกจะไม่ให้ผลผลิตและตายในที่สุด

การกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยชีววิธี (biocontrol) เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากไม่ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม มีการนำศัตรูธรรมชาติที่เกิดขึ้นในแปลง เช่น วัชพืชขมาเป็นพืชคลุมดิน (น่านมราชสิทธิ์ และญาไชยง) และปลวกไถกลบบำรุงดินเนื่องจากมีผลของอัลลีโลพาตีที่ทำให้ลดจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยในดินลดลงได้ (อภิรัฐและทศพล 2560; จำเริญและคณะ, 2561) ในปัจจุบันแอคติโนไมซีทส์เป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่มีความสนใจและศึกษาสำหรับใช้เป็นชีวภัณฑ์เพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอย (Nimnoi et al., 2017) มีการรายงานการใช้เชื้อ *Streptomyces avermitilis* สามารถสร้างสาร avermectins ที่มีผลในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* กันอย่างกว้างขวาง (Faske and Starr 2006; Jin et al., 2017) แหล่งที่พบแอคติโนไมซีทส์มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชนั้นมีหลายแหล่งทั้งในดินที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอย (Ruanpanun et al., 2010) ตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอย (Sun et al., 2006) รวมถึงมูลไส้เดือนดิน (Ruanpanun and Chamswang, 2016) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการทดสอบแอคติโนไมซีทส์ที่แยกได้จากลำไส้ฝั่มมีมด้าในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ทั้งนี้มีการรายงาน *Streptomyces* spp. ในรังฝั่มสามารถป้องกันรังฝั่มจากการทำลายของเชื้อรา อีกทั้งยังสร้างสารต้านเชื้อก่อโรคในฝั่มได้ นอกจากนี้ยังพบว่าแอคติโนไมซีทส์ที่แยกจากลำไส้ฝั่มสามารถผลิตเอนไซม์ polyketide synthase ซึ่งเป็นตัว

บ่งชี้ความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะอีกด้วย (Inglis *et al.*, 1993) พบการรายงานแอคติโนไมซีตส์สกุล *Streptomyces* ที่แยกได้จาก ผึ้งชนิดต่าง ๆ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ protease และ chitinase ได้ ซึ่งมีผลในการรบกวนการฟักของไข่ของ *Meloidogyne hapla* และทำให้ตัวอ่อนที่ฟักออกมาไม่สามารถที่จะมีชีวิตรอดในดินได้ (Mercer *et al.*, 1992) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาประสิทธิภาพของแอคติโนไมซีตส์ที่แยกได้จากไส้ผึ้งมีมด้า (*Apis andreniformis*) ในการควบคุมโรครากปมในพริก เพื่อเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเชื้อแอคติโนไมซีตส์

นำแอคติโนไมซีตส์ที่แยกได้จากไส้ผึ้งมีมด้า จำนวน 33 ไอโซเลทจากโครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา ศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน มาเลี้ยงบนอาหาร yeast malt extract agar (YM) บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 30^{\circ}\text{C}$) นาน 7-14 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณโคโลนีของเชื้อ นำไปใส่ในขวดแก้วที่บรรจุน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วเขย่าให้ได้สารแขวนลอยสเปิร์มความเข้มข้น 10^5 สเปิร์ต่อมิลลิลิตร ใช้สำหรับทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ

ในการเตรียมเชื้อแอคติโนไมซีตส์เพื่อทดสอบในระดับโรงเรือน ทำการเพิ่มจำนวนสเปิร์มแอคติโนไมซีตส์ในเมล็ดข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน จนกระทั่งเชื้อสร้างสเปิร์มคลุมเมล็ดข้าว จากนั้นเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อจนท่วมเมล็ดข้าว แยกสเปิร์ออกจากเมล็ดข้าวโดยการกรองผ่านตะแกรง ปรับปริมาตรให้มีความเข้มข้น 10^6 สเปิร์ต่อมิลลิลิตร (Ruanpanun and Chamswang, 2016) และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2. การเตรียมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

นำต้นพริกที่เป็นรากปมจากแปลงศูนย์พืชผักเขตร้อนใน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน มาล้างรากด้วยน้ำให้สะอาด เชียกลุ่มไข่

สีน้ำตาลเข้มบริเวณรากมา 1 กลุ่มไข่ ปลูกลงในต้นกล้าพริกอายุ 3 สัปดาห์ ดูแลรดน้ำเป็นเวลา 30 - 45 วัน ตรวจสอบชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมโดยดูจากรอยย่นส่วนก้นของตัวเต็มวัยเพสเมีย (perineal pattern) ที่มีลักษณะตรงกับไส้เดือนฝอยรากปมชนิด *M. incognita* คือมีรอยย่นส่วนก้น dorsal arch ยกสูง เส้นรอยย่น (striae) มีลักษณะเส้นซิกแซก (zigzag) และเป็นแบบคลื่น (smooth to wavy) รอยเส้นด้านข้าง (lateral line) ขาดมองเห็นไม่ชัดเจน มี vulva และ anus เด่นชัด (Eisenback *et al.*, 1981) นำกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ปลูกลงต้นกล้าพริกเพื่อขยายจำนวนกลุ่มไข่ให้ได้จำนวนตามต้องการ เพื่อใช้ในการทดสอบตามวิธีการของ Ruanpanun and Chamswang (2016)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนไมซีตส์ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอย *M. incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการ

3.1 การทดสอบผลของแอคติโนไมซีตส์ต่อการควบคุมการฟักของไข่และการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

นำแอคติโนไมซีตส์จำนวน 33 ไอโซเลทมาทดสอบผลต่อการฟักของไข่และการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* โดยนำไข่ไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 200 ฟองในน้ำ 50 ไมโครลิตร ใส่ในจานหลุมขนาด 24 หลุม (24 well plate) นำสารแขวนลอยสเปิร์มแอคติโนไมซีตส์ที่มีความเข้มข้น 10^5 สเปิร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลุม 24 well plate ใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อแทนสารแขวนลอยสเปิร์มในชุดควบคุม วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) มีทั้งหมด 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ นำจานหลุมขนาด 24 หลุมบ่มที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 7 วัน ตรวจนับจำนวนไข่ ตัวอ่อนระยะที่ 2 ทั้งหมด และแยกนับตัวอ่อนระยะที่ 2 ที่ตาย คำนวณอัตราการตายของตัวอ่อนและอัตราการฟักของไข่โดยใช้สูตร ร้อยละอัตราการฟักของไข่ = $100 \times \text{ตัวอ่อนระยะที่ 2} / (\text{ไข่} + \text{ตัวอ่อนระยะที่ 2})$ และ ร้อยละอัตราการตายของตัวอ่อน = $100 \times \text{ตัวอ่อนระยะที่ 2 ที่ตาย} / \text{จำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ทั้งหมด}$ (Ruanpanun *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2006)

3.2 การทดสอบผลของแอคติโนไมซีตต่อการฟักของกลุ่มไข่ไข่เดือนฝอย *M. incognita*

นำเชื้อแอคติโนไมซีต ที่ให้ผลในการลดอัตราการฟักของไข่และเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไข่เดือนฝอยรากปม *M. incognita* อย่างมีนัยสำคัญ ในข้อ 3.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดการฟักของไข่ ที่มี gelatinous matrix หุ้มอยู่หรือกลุ่มไข่ (egg mass) โดยนำสารแขวนลอยสปอร์ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลุม 24 well plate ที่มีกลุ่มไข่ 1 กลุ่มไข่อยู่ในจานหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) เป็นเวลา 7 วัน มีทั้งหมด 2 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ตรวจสอบจำนวนตัวอ่อนของไข่เดือนฝอยที่ฟักเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารแขวนลอยสปอร์

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนไมซีตต่อการควบคุม โรครากปมพริกในสภาพเรือนทดลอง

นำแอคติโนไมซีตจำนวน 11 ไอโซเลตที่ให้ผลในการลดอัตราการฟักของไข่และเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนและการฟักของกลุ่มไข่ของไข่เดือนฝอยรากปม *M. incognita* อย่างมีนัยสำคัญในข้อที่ 3 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมของพริกในระดับโรงเรือน โดยนำสารแขวนลอยสปอร์มาคลุกกับดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 10^6 สปอร์/ดิน 1 กระถาง ($15 \times 10 \times 15$ เซนติเมตร) ปลูกต้นกล้าพริกที่มีอายุ 3 สัปดาห์ลงในกระถาง ใส่ไข่เดือนฝอยรากปมตัวอ่อนระยะที่ 2 ในวันที่ย้ายต้นกล้าพริกตามลงไปใกล้บริเวณโคนรากจำนวน 1,000 ตัวต่อต้น รดน้ำวันละ 1 ครั้งเป็นเวลาทั้งสิ้น 45 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้แก่ ดินพริกปกติ (control 1) และดินพริกที่ปลูกเฉพาะไข่เดือนฝอยรากปมลงไป (control 2) วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) ทั้งหมด 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ประเมินประสิทธิภาพการควบคุมโรคโดยนับจำนวนกลุ่มไข่ ประเมินระดับการเกิดปมของรากตามวิธีการของ Ruanpanun and Chamswang (2016) และประเมินผลของเชื้อต่อการเจริญของพริกโดยวัดความสูงของต้นพริก น้ำหนักสดต้นและราก และน้ำหนักแห้งของต้นพริก

5. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองโดย วิธีของ Duncan's new multiple range test (DMRT) ($P \leq 0.05$)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีตต่อการควบคุมไข่เดือนฝอย *M. incognita* ในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบความสามารถในการควบคุมไข่เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ของเชื้อแอคติโนไมซีตทั้ง 33 ไอโซเลต ที่แยกได้จากลำไส้ฝั่มดำ ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยประเมินจากการลดอัตราการฟักของไข่ การเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 รวมถึงผลต่อการฟักของกลุ่มไข่ที่มี gelatinous matrix หุ้มอยู่ (egg mass) พบว่า 11 ไอโซเลต ประกอบด้วย A010, A013, A020, A027, A029, A031, A032, A033, A034, A038 และ A039 ให้ผลในการควบคุมไข่เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยที่ 6 ไอโซเลต ประกอบด้วย A029, A031, A032, A033, A034 และ A038 สามารถทำให้ไข่มีอัตราการฟักลดลงมากกว่าร้อยละ 80 โดยไอโซเลต A038 สามารถลดอัตราการฟักของไข่มากที่สุดถึงร้อยละ 92.04 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และมี 2 ไอโซเลต ประกอบด้วย A027 และ A032 สามารถเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 มากกว่าร้อยละ 45 โดยไอโซเลต A027 เพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 มากที่สุดถึงร้อยละ 51.37 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดสอบผลของแอคติโนไมซีตต่อการฟักของกลุ่มไข่ไข่เดือนฝอย *M. incognita* พบว่ามี 9 ไอโซเลต ประกอบด้วย A010, A013, A020, A027, A029, A031, A032, A033 และ A034 สามารถทำให้กลุ่มไข่มีอัตราการฟักลดลงมากกว่าร้อยละ 60 โดยไอโซเลต A032 สามารถลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่มากที่สุดถึงร้อยละ 69.51 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการวิจัยอื่น ๆ แอคติโนไมซีตที่แยกจากลำไส้ฝั่มดำให้ผลใน

Table 1. Effective of actinomycete isolates to egg hatching rate, juvenile mortality and egg mass hatching rate of *Meloidogyne incognita* at 7 days

Isolate	Egg hatching rate (%) ¹	Juvenile mortality (%) ¹	Egg mass hatching rate (%) ¹
A010	83.66 ± 1.09 d	27.60 ± 2.11 bc	30.23 ± 5.93 a
A013	19.33 ± 0.44 b	14.82 ± 2.68 cde	25.30 ± 5.04 a
A020	33.83 ± 9.49 c	27.86 ± 2.73 bc	26.76 ± 7.79 a
A027	39.50 ± 4.19 c	54.41 ± 2.64 a	28.69 ± 9.20 a
A029	11.66 ± 1.16 ab	15.70 ± 0.51 cde	33.69 ± 10.14 ab
A031	15.16 ± 1.66 ab	8.98 ± 2.93 e	24.57 ± 9.50 a
A032	13.00 ± 1.73 ab	51.36 ± 10.15 a	24.49 ± 4.98 a
A033	12.50 ± 1.04 ab	23.65 ± 5.06 bcd	26.27 ± 13.01a
A034	12.50 ± 1.04 b	12.68 ± 2.82 de	33.63 ± 13.91ab
A038	5.83 ± 0.44 a	30.17 ± 9.42 b	44.85 ± 5.85 b
A039	19.33 ± 2.24 b	13.37 ± 2.35 de	70.73 ± 7.69 c
Control	97.87 ± 0.52 e	3.04 ± 0.25 e	94.00 ± 4.99 d

¹ Values with the same letter are not significantly different ($P < 0.05$) according to Duncan's test

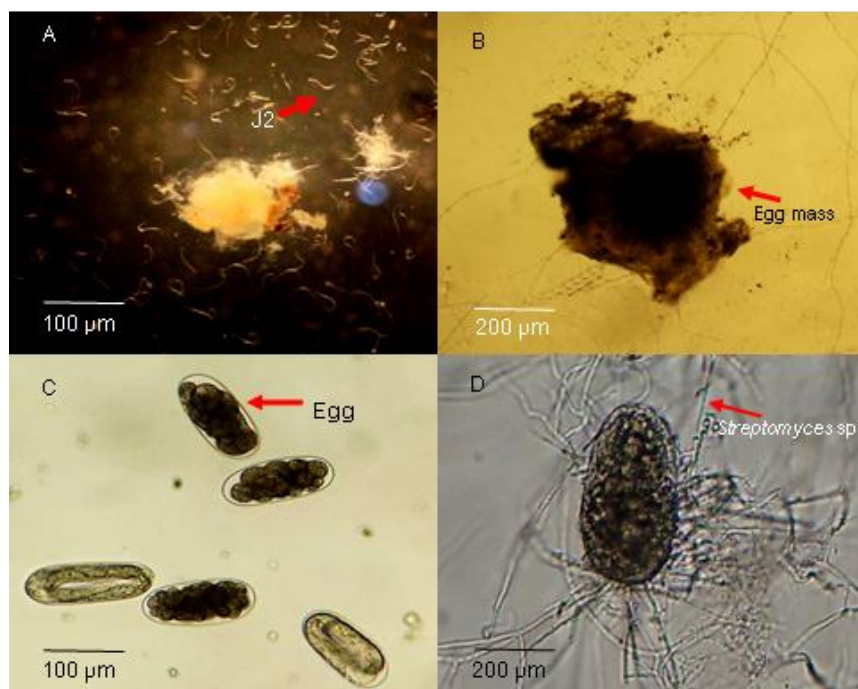


Figure 1. Egg mass and egg after treating with actinomycete isolates: Non-treated (A, C), treated with *Streptomyces* sp. A032 (B, D)

การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงถึง 33.33% เมื่อเทียบกับแอกติโนไมซีตส์จากแหล่งอื่น อาทิ จากไข่ของไส้เดือนฝอยประมาณ 12.1% (Na *et al.*, 2017) ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของไส้เดือนฝอยรากปมประมาณ 7.7% (Sun *et al.*, 2006) และดินรอบรากพืชที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมประมาณ 14.5% (Ruanpanun *et al.*, 2010) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าแอกติโนไมซีตส์จากลำไส้มีงมีมดามีคุณสมบัติในการสร้างสารหรือกลไกบางอย่างที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปม อาทิ ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ในกลุ่ม polyketide synthase ที่เป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการสร้างทุติยภูมิ (Ingliš *et al.*, 1993; Promnuan *et al.*, 2009) ซึ่งอาจมีผลต่อไส้เดือนฝอย และนอกจากสารทุติยภูมิจะมีผลต่อไข่และตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอย *M. incognita* แล้วยังมีผลต่อกลุ่มไข่ซึ่งมี gelatinous matrix หุ้มอยู่ รัตติกาล และคณะ (2554) ได้รายงานเกี่ยวกับเชื้อ *Streptomyces* PR-87 สามารถยับยั้งการฟักของไข่และฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงนั้นเกิดจากฤทธิ์ของสารทุติยภูมิที่เชื้อปลดปล่อยออกมาออกเซลล์ในระหว่างการเพาะเลี้ยงบนอาหาร arginine glycerol mineral salt agar มีความเป็นไปได้ว่าอาจเป็นเอนไซม์ที่มีผลต่อการฟักของไข่หรือเป็นสารพิษที่มีฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนระยะที่ 2 และสารดังกล่าวอาจส่งผลต่อโครงสร้างของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบทั้งในส่วน gelatinous matrix และชั้นของเปลือกไข่ (Bird and Bird, 2012) ทำให้การฟักของไข่ในกลุ่มไข่นั้นลดลง มีการรายงานสารทุติยภูมิที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปม อาทิ avermectin และ fevenulin (Dong and Zhang, 2006; Ruanpanun *et al.*, 2011) ในขณะที่ Palmieri *et al.* (2001) รายงานว่าเอนไซม์ protease ที่เชื้อราปฏิภักษ์บางชนิดสร้างขึ้นก็มีผลทำให้การฟักของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยลดลงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบการรายงานแอกติโนไมซีตส์สกุล *Streptomyces* ที่แยกได้จากพืชชนิดต่าง ๆ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ protease และ chitinase ได้ ซึ่งมีผลในการรบกวนการฟักของไข่ของ *Meloidogyne hapla* และทำให้ตัวอ่อนที่ฟักออกมาไม่สามารถที่จะมีชีวิตรอดในดินได้ (Mercer *et al.*, 1992)

จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่ากลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* มีอัตราการฟักลดลงจึงมีความเป็นไปได้ว่าแอกติโนไมซีตส์ที่สามารถลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่สามารถสร้างเอนไซม์ดังกล่าวได้ อย่างไรก็ตามก็จะได้มีการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยรากปมของแอกติโนไมซีตส์เหล่านั้นในอนาคตต่อไป และจากผลการทดลองที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นนั้นแสดงให้เห็นว่าลำไส้มีงมีมดามีเป็นแหล่งของแอกติโนไมซีตส์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมอีกแห่งหนึ่ง อีกทั้งงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่มีการศึกษาประสิทธิภาพของแอกติโนไมซีตส์ที่แยกได้จากลำไส้มีมดดำ (*A. andreniformis*) ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita*

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีตส์ในการควบคุมโรครากปมพริกในเรือนทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีตส์ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในสภาพเรือนทดลองโดยนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อแอกติโนไมซีตส์คลุกกับดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว แล้วปลูกกล้าพริกอายุ 3 สัปดาห์ พร้อมใส่ตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมลงไปเทียบกับต้นพริกที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายโดยไม่มีการใส่สปอร์ของเชื้อแอกติโนไมซีตส์ลงไป (control 2) ซึ่งการใส่แอกติโนไมซีตส์ลงในดินก่อนที่ไส้เดือนฝอยจะเข้าทำลายเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมมากกว่าการใส่แอกติโนไมซีตส์ลงไปพร้อมหรือหลังจากที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายพืชทั้งนี้การใส่แอกติโนไมซีตส์ไปก่อนทำให้แอกติโนไมซีตส์มีเวลาในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในดินซึ่งพร้อมในการสร้างสารหรือกลไกอื่นที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยหรือชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อไส้เดือนฝอยได้ทำให้การควบคุมโรครากปมมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น (Ruanpanun and Chamswang 2016; Tarkka and Hampp, 2008; Tarkka *et al.*, 2008) จากผลการทดลองพบว่าแอกติโนไมซีตส์ไอโซเลท A032 สามารถลดจำนวนกลุ่มไข่ (egg mass) ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 65.30 เมื่อประเมินผลจากจำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในดินพบว่าทุกไอโซเลทสามารถลดจำนวน

ไส้เดือนฝอยในดินได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (control 2) โดยที่ไอโซเลท A032 สามารถลดจำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ได้มากที่สุดร้อยละ 32.3 จากการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมโรคพบว่า ไอโซเลท A032 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้มากถึงร้อยละ 52.1 (ภาพที่ 2, ตารางที่ 2) ซึ่งแตกต่างกับผลการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการที่ไอโซเลท A038 สามารถลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่ได้มากที่สุด ไอโซเลท A027 เพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้มากที่สุดเป็นไปได้อาไอโซเลท A038 และ A027 สามารถสร้างสารหรือมีกลไกที่มีผลต่อการฟักและการตายของตัวอ่อนในห้องปฏิบัติการแต่ประสิทธิภาพดังกล่าวจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมในดิน (Ruanpanun *et al.*, 2011) อย่างไรก็ตามในอนาคตต่อไปจะได้นำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพของเชื้อไอโซเลทดังกล่าวเมื่อใส่ลงไปในดินหรือศึกษากลไกอื่น อาทิการสร้างสารทุติยภูมิหรือเอนไซม์ที่มีผลยับยั้งไส้เดือนฝอยเพื่อนำไปเป็นต้นแบบในการสังเคราะห์สารสำหรับใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยต่อไป นอกจากนี้เมื่อประเมินผลของแอกติโนไมซีทส์ต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกจากความสูงของลำต้น ความยาวราก น้ำหนักราก และน้ำหนักสด พบว่าแอกติโนไมซีทส์ที่สามารถยับยั้งไส้เดือนฝอยรากปมในห้องปฏิบัติการทั้ง 11 ไอโซเลทไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกเมื่อเทียบกับชุดควบคุมต้นพริกปกติ (control 1) (ตารางที่ 2) ในขั้นต้น

นี้มีความเป็นไปได้ว่าแอกติโนไมซีทส์ไอโซเลท A032 สามารถพัฒนาต่อยอด เป็นชีวภัณฑ์สำหรับการป้องกันและควบคุมโรครากปม พริกซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยได้ และควรมีการศึกษาการนำไปใช้เพิ่มเติม อาทิ ผลของแอกติโนไมซีทส์ดังกล่าวต่อสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์อื่นในดิน การอยู่รอดหรือประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีทส์เมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงจริง ระยะเวลาในการใส่แอกติโนไมซีทส์ ปริมาณสปอร์ของเชื้อที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการควบคุมโรค รวมถึงกลไกการเข้าทำลายไส้เดือนฝอยทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์สูงสุดในการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

สรุป

แอกติโนไมซีทส์ไอโซเลท A038 ที่แยกได้จากลำไส้ผึ้งมีมด้ามีประสิทธิภาพในการลดอัตราการฟักของไข่ การเพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 และลดอัตราการฟักของกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้ดีที่สุดในการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ และ ไอโซเลท A032 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมของพริกมากที่สุด โดยสามารถลดจำนวนตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในดิน และลดการเกิดปม แอกติโนไมซีทส์ไอโซเลทดังกล่าวควรได้รับการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อการควบคุมโรครากปมของพริกในอนาคตต่อไป

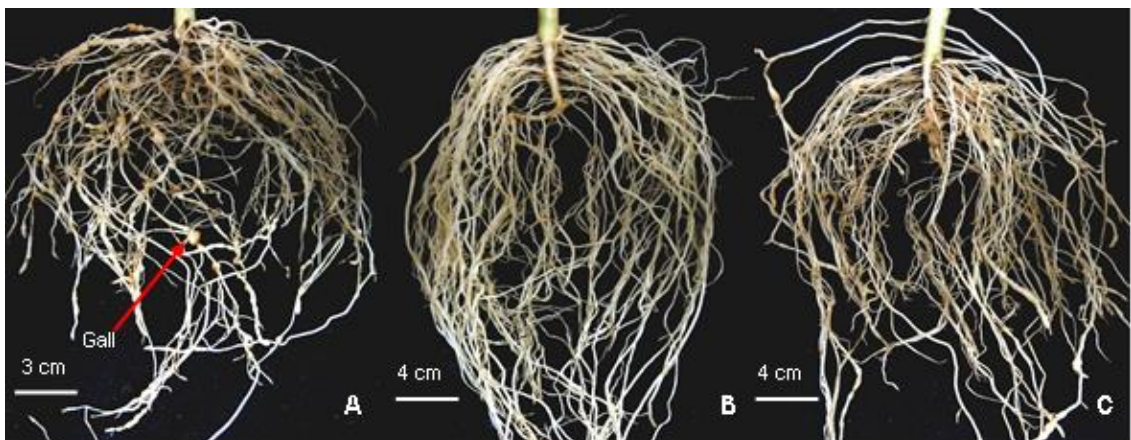


Figure 2. Gallling root of chili caused by *Meloidogyne incognita* : control group with nematode (A), control group without nematode (B), Adding spore actinomycetes isolate A032 and J2s at the same time (C)

Table 2. Effect of actinomycetes to control root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on chili in the greenhouse at 45 days after inoculation (DAI) of nematode

Isolates	No. of egg masses / plant ¹	No. of J2 / 20 g soil ¹	Galling index ^a	Control efficacy ^b	Plant length (cm) ¹		Fresh weight (g) ¹		Dry weight (g) ¹	
					Shoot	Root	Shoot	Root	Shoot	Root
A010	18.00 ± 4.85 abc	20.50 ± 4.63 abc	54.16	43.48	26.93 ± 4.29 abcd	23.11 ± 5.48 a	2.63 ± 0.71 abc	1.74 ± 0.42 bcd	0.38 ± 0.08 abc	
A013	26.66 ± 6.68 d	29.66 ± 6.94 de	75.00	21.74	29.20 ± 1.89 ab	18.01 ± 2.84 a	2.68 ± 0.31 abc	1.59 ± 0.26 cde	0.32 ± 0.04 cd	
A020	22.83 ± 10.54 bcd	25.33 ± 8.81 bcde	70.83	26.09	24.60 ± 3.18 cd	21.65 ± 4.13 a	2.16 ± 0.50 bcd	1.37 ± 0.21 def	0.26 ± 0.05 de	
A027	22.66 ± 9.72 bcd	25.50 ± 9.36 cde	70.83	26.09	28.46 ± 4.08 ab	18.66 ± 2.28 a	3.00 ± 0.51 a	2.10 ± 0.34 ab	0.46 ± 0.12 a	
A029	29.83 ± 6.82 d	33.16 ± 7.22 e	83.33	13.04	26.08 ± 3.04 abcd	20.21 ± 3.22 a	2.74 ± 0.54 abc	2.35 ± 0.35 a	0.44 ± 0.06 ab	
A031	27.83 ± 5.23 d	31.00 ± 5.76 e	79.16	17.40	24.78 ± 2.84 cd	20.50 ± 6.97 a	2.30 ± 0.52 abcd	1.58 ± 0.32 cde	0.31 ± 0.05 cd	
A032	9.83 ± 3.25 a	14.50 ± 1.87 a	45.83	52.18	29.03 ± 2.96 ab	21.41 ± 7.32 a	2.97 ± 0.64 a	2.15 ± 0.38 ab	0.45 ± 0.08 ab	
A033	13.00 ± 5.17 a	16.16 ± 4.44 ab	50	47.82	28.16 ± 2.04 abc	21.96 ± 4.71 a	2.22 ± 0.73 ab	1.86 ± 0.49 bc	0.44 ± 0.07 ab	
A034	14.33 ± 6.91 ab	20.66 ± 5.20 abcd	50	47.82	23.26 ± 1.18 d	17.91 ± 3.46 a	1.65 ± 0.59 d	1.08 ± 0.17 f	0.22 ± 0.04 e	
A038	16.83 ± 6.94 ab	19.50 ± 7.23 abc	70.83	26.09	25.56 ± 2.21 ab	22.56 ± 3.65 a	2.29 ± 0.53 cd	1.26 ± 0.30 ef	0.30 ± 0.08 cde	
A039	25.50 ± 7.03 cd	30.16 ± 7.73 e	83.30	13.07	26.78 ± 2.53 abcd	18.68 ± 4.77 a	2.93 ± 0.81 abcd	2.04 ± 0.18 ab	0.43 ± 0.07 ab	
Control ¹	-	-	-	-	29.30 ± 3.26 a	21.63 ± 5.58 a	2.74 ± 0.60 abc	2.13 ± 0.27 ab	0.42 ± 0.06 ab	
Control ²	27.33 ± 9.00 d	44.83 ± 5.70 f	95.83	0	27.20 ± 3.20 abc	18.81 ± 3.46 a	2.74 ± 0.40 abc	2.06 ± 0.35 ab	0.35 ± 0.05 bcd	

¹ Values with the same letter are not significantly different ($P < 0.05$) according to Duncan's test

^a Roots were scored for degree of galling: 1 ≤ 25 %, 2 = 25–50 %, 3 = 51–75 % and 4 ≥ 75 % of total root system. Galling index = [(number of plants in class 1 × 1) + (number of plants in class 2 × 2) + (number of plants in class 3 × 3) + (number of plants in class 4 × 4)] × 100 / (number of plants × 4)

^b Control efficacy = (galling index of control—galling index of isolate) × 100 / galling index of control. The results were calculated from five replicates (Ruanpanun and Chamsawang, 2016)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต
กำแพงแสน ที่สนับสนุนห้องปฏิบัติการเครื่องมือการ
ทดลองและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- กมล เลิศรัตน์. 2555. การผลิต การปลูก การแปรรูป และ
การตลาดของพริกและผลิตภัณฑ์พริกใน
ประเทศไทย. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล:
[http://www.trf.or.th/index.php?option=com_](http://www.trf.or.th/index.php?option=com_content&view=article&id=186)
[content&view=article&id=186](http://www.trf.or.th/index.php?option=com_content&view=article&id=186) (1 สิงหาคม 2560).
- จำเนียร ชมพู อมรศรี ขุนอินทร์ อภิรัฐ บัณฑิต และ ทศพล
พรพรม. 2561. ผลของอัลลีโลพาตีในวัชพืชที่
ปลูกร่วมกับมะเขือเทศต่อการเข้าทำลายของ
ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.).
วารสารเกษตร 34(1): 55-56.
- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2550. การควบคุมโรครากปมใน
พริก. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด วราภรณ์ ประกอบ และ สิริกุล วะสี.
2552. การคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริก
ต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม. หน้า 331-341.
ใน: รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืช
แห่งชาติ ครั้งที่ 9. วันที่ 24-26 พฤศจิกายน
2552. โรงแรมสุโขทัยแกรนด์ จ. อุบลราชธานี.
- รัตติกาล ยุทธศิลป์ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และ อนันต์
หิรัญ สาลี. 2554. ศักยภาพของเชื้อ
Streptomyces-PR87 ปฏิบัติ และวิธีการใช้
สำหรับควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม
(*Meloidogyne incognita*) ในสภาพโรงเรือน
ปลูกพืชทดลอง. เกษตร 41(1) พิเศษ: 213-
219.
- อภิรัฐ บัณฑิต และ ทศพล พรพรม. 2560. การประเมิน
คุณลักษณะทางอัลลีโลพาตีจากหญ้าขจร้อยต่อ

การยับยั้งการเติบโตของวัชพืชในสภาพแปลง.
วารสารเกษตร 33(2): 193-202.

- Bird, A.F. and J. Bird. 2012. The Structure of
Nematodes. 2nd ed. Academic Press, San
Diego. 317 p.
- Dong, L.Q. and K.Q. Zhang. 2006. Microbial control
of plant-parasitic nematodes: a five party
interaction. Plant and Soil 288(1-2): 31-45.
- Eisenback, J.D., H. Hirschmann, J.N. Sasser and
A.C. Triantaphyllou. 1981. A guide to the
four most common species of root-knot
nematodes (*Meloidogyne* spp.), with a
pictorial key. North Carolina State
University, Raleigh, North Carolina. 48 p.
- Faske, T.R. and J.L. Starr. 2006. Cotton root
protection from plant-parasitic nematodes
by abamectin-treated seed. Journal of
Nematology 39(1): 27-30.
- Inglis, G.D., S. Lynne and M. S. Goette. 1993.
Aerobic microorganisms associated with
alfalfa leafcutter bees *Megachile rotundata*.
Microbial Ecology Journal 26: 125-143.
- Mercer, C.F., D.R. Greenwood and J.L. Grant. 1992.
Effect of plant and microbial chitinases on
the eggs and juveniles of *Meloidogyne*
hapla Chitwood. Nematologica 38: 227-236.
- Na, J., H. Xue, W.J. Li, X.Y. Wang, Q. Liu, S.S. Liu,
J.J. Zhao and H. Jian. 2017. Field
evaluation of *Streptomyces rubrogriseus*
HDZ-9-47 for biocontrol of *Meloidogyne*
incognita on tomato. Journal of Integrative
Agriculture 16(6): 1347-1357.
- Nimnoi, P., N. Pongsilp and P. Ruanpanun. 2017.
Monitoring the efficiency of *Streptomyces*
galilaeus strain KPS C004 against root knot
disease and the promotion of plant growth
in the plant-parasitic nematode infested
soils. Biological Control 114: 158-166.

- Palmieri, G., C. Bianco, G. Cennamo, P. Giardina, G. Marino, M. Monti and G.I. Sannia. 2001. Purification, characterization, and functional role of a novel extracellular protease from *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology* 6: 2754-2759.
- Promnuan, Y., T. Kudo and P. Chantawannakul. 2009. Actinomycetes isolated from beehives in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25: 1685-1689.
- Ruanpanun, P. and C. Chamswang. 2016. Potential of actinomycetes isolated from earthworm casting in controlling root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Journal of General Plant Pathology* 82: 43-50.
- Ruanpanun, P., H. Laatsch, N. Tangchitsomkid and S. Lumyong. 2011. Nematicidal activity of fervenulin isolated from a nematicidal actinomycete, *Streptomyces* sp. CMU-MH021, on *Meloidogyne incognita*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 1373-1380.
- Ruanpanun, P., N. Tangchitsomkid, K.D. Hyde and S. Lumyong. 2010. Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3 -acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26: 1569-1578.
- Sun, M.H., L. Gao, Y.X. Shi, B.J. Li and X.Z. Liu. 2006. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. *Journal of Invertebrate Pathology* 93: 22-28.
- Tarkka, M.T. and R. Hampp. 2008. Secondary metabolites of soil *Streptomyces* in biotic interactions. pp. 107-126. *In*: P. Karlovsky (ed.). *Secondary Metabolites in Soil Ecology*. Springer, Berlin.
- Tarkka, M.T., N.A. Lehr, R. Hampp and S.D. Schrey. 2008. Plant behavior upon contact with *Streptomyces*. *Plant Signaling & Behavior* 3: 917-919.
-

ความสำเร็จในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกร ในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่

Success in Implementation of Agricultural Activities of Young Farmer Project in Sueksa Songkhro Chiang Mai School

สัญญา สิงห์ใจ และ บุศรา ลัมน์รินทร์กุล*

Sunjana Singjai and Budsara Limnirankul*

ภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

*Corresponding author: Email: lbudsara@gmail.com

(Received: 30 November 2017; Accepted: 1 June 2018)

Abstract: This research aims to study implementation of agricultural activities and study success implementation of agricultural activities of young farmer project in Sueksa Songkhro Chiang Mai School by using CIPP Model. The Group sample was; 1) administrator for 5 people; 2) teacher responsible for the activity for 6 people; 3) Student was registered this project for 100 people; 4) Parent of student for 100 people. The instrument used for data collection were in-depth interview, questionnaire and test. Descriptive analysis was applying such as frequency, average, percentage, mean, max and S.D. The result founded that implementation of activities has 9 process. Normally, context evaluation was related with mission and vision of school ($\bar{x} = 4.60$) and completed with the purpose ($\bar{x} = 4.33$); input evaluation has enough personality ($\bar{x} = 5.00$) and school were support the instrument or budget ($\bar{x} = 3.80$); process evaluation was teacher responsible for the activity ($\bar{x} = 4.80$) and duration of the event was appropriate ($\bar{x} = 4.50$); product evaluation was students agreed that the implementation of agricultural activities of young farmer project made the student be positive towards the activities. They had responsibility for themselves. They relied on themselves ($\bar{x} = 3.82$).

Keywords: Success, CIPP model, young farmer project

บทคัดย่อ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตร และศึกษาความสำเร็จในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้รูปแบบการประเมินแบบ CIPP Model กลุ่มตัวอย่าง คือ 1) คณะผู้บริหาร จำนวน 5 คน 2) ครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมฯ จำนวน 6 คน 3) นักเรียนที่เข้าร่วมกิจกรรมฯ จำนวน 100 คน 4) ผู้ปกครองนักเรียนที่เข้าร่วมกิจกรรมฯ จำนวน 100 คน เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย คือ แบบสัมภาษณ์ แบบสอบถาม และแบบทดสอบ การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าความถี่ ค่าเฉลี่ย ค่าร้อยละ ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ผลการศึกษา พบว่าการดำเนินกิจกรรมฯ ประกอบด้วย 9 ขั้นตอน โดยภาพรวมด้านบริบท กิจกรรมฯ มีความสอดคล้องกับพันธกิจ วิสัยทัศน์ของโรงเรียน ($\bar{x} = 4.60$) และเป็นไปตามวัตถุประสงค์ ($\bar{x} = 4.33$) ด้านปัจจัย พบว่า มีบุคลากรที่เพียงพอ ($\bar{x} = 5.00$) และโรงเรียนมีการสนับสนุนเครื่องมือ งบประมาณ ($\bar{x} = 3.80$) ด้านกระบวนการ ครูให้การดูแล ช่วยเหลือ อยู่เสมอ ($\bar{x} = 4.80$) และระยะเวลาที่จัดกิจกรรมมีความเหมาะสม ($\bar{x} = 4.50$) ด้านผลผลิต นักเรียนมีทัศนคติที่ดีต่อการดำเนินกิจกรรม มีความรับผิดชอบ และสามารถพึ่งพาตนเองได้ ($\bar{x} = 3.82$) ตามลำดับ

คำสำคัญ: ความสำเร็จ CIPP model โครงการยุวเกษตรกร

คำนำ

โรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ เป็นโรงเรียนสังกัดสำนักบริหารงานการศึกษาพิเศษ สำนักงานคณะกรรมการการศึกษาขั้นพื้นฐาน กระทรวงศึกษาธิการ ได้รับอนุมัติให้เปิดทำการสอนตามประกาศกระทรวงศึกษาธิการ เมื่อปี พ.ศ. 2519 ให้เป็นโรงเรียนประเภทสหศึกษา ประเภทอยู่ประจำ สังกัดกองการศึกษาพิเศษ กรมสามัญศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ โดยมีวัตถุประสงค์เริ่มแรกในการรับเด็กเข้าเรียนคือ เพื่อความมั่นคงของประเทศ และแก้ปัญหาทางการเมืองจาก 3 จังหวัดภาคเหนือ คือ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง ตามจำนวนที่กรมสามัญศึกษากำหนดไว้โดยมีนโยบายในการส่งเสริมในการจัดการศึกษา เพื่อการมีงานทำ มีรายได้ระหว่างเรียน ให้ความสำคัญกับงานด้านอาชีพ ซึ่งมีการดำเนินงานมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2540 และได้ดำเนินกิจกรรมของโครงการยุวเกษตรกรหลาย ๆ กิจกรรม โดยทางโรงเรียนมีการส่งเสริมให้นักเรียน เกิดทักษะในการประกอบอาชีพและสร้างรายได้ให้กับสมาชิกกลุ่ม อีกทั้งปลูกฝังคุณธรรมและฝึกฝนการอยู่ร่วมกันของสมาชิกยุวเกษตรกร นอกจากนี้โรงเรียนยังให้การสนับสนุนการเรียนรู้หลักการทำการเกษตร เคทิกเกษตร และการทำธุรกิจเกษตรแบบครบวงจร โดยกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่

ได้แก่ การปลูกข้าว การเลี้ยงปลาในกระชัง การปลูกพืชผัก ปลอดภัยจากพิษ การเลี้ยงกบ การปลูกกล้วยและการแปรรูปกล้วย (โรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่, 2557)

จากการจัดกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ที่ผ่านมา ได้ดำเนินการจัดกิจกรรมด้านการเกษตรมาเป็นเวลานานแล้ว และยังไม่เคยมีการประเมินความสำเร็จของกิจกรรมยุวเกษตรกรอย่างเป็นระบบ จากงานวิจัยหลายเรื่องที่ได้ศึกษาวิจัยถึงปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จของโครงการ ซึ่งไม่ใช่โครงการของกลุ่มยุวเกษตรกร เช่น งานวิจัยของ ผ่องพรรณ (2541) ที่ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จของโครงการส่งเสริมการประกอบอาชีพอิสระ ของนักเรียนในโรงเรียนมัธยมศึกษา จังหวัดเชียงใหม่ และงานวิจัยของ นิภาภรณ์ และคณะ (2551) ที่ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการดำเนินงานของธุรกิจชุมชน ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดร้อยเอ็ด ซึ่งงานวิจัยดังกล่าวเป็นการวิจัยความสำเร็จของกลุ่มอื่น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ศึกษาความสำเร็จของการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกร ในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ ในด้านบริบท ด้านปัจจัยเบื้องต้น ด้านกระบวนการ และด้านผลผลิต ที่เกิดจากการดำเนินกิจกรรม เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปปรับปรุง แก้ไขพัฒนาการดำเนินกิจกรรมต่อไป ภายใต้กรอบแนวคิดตามรูปแบบการประเมิน Stufflebeam's CIPP Model ของ

Stufflebeam and Shinkfield (2007) ทั้ง 4 ด้าน ได้แก่ ด้านบริบท (context) ด้านปัจจัยเบื้องต้น (input) ด้านกระบวนการ (process) และด้านผลผลิต (product)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การออกแบบการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นแบบผสมผสานวิธี โดยใช้แบบแผนอธิบายขยายความ ศึกษาใช้วิธีการเชิงปริมาณในขั้นตอนแรกแล้วตามด้วยการวิจัยเชิงคุณภาพ โดยเก็บข้อมูลวิจัย ตั้งแต่ สิงหาคม ถึง ตุลาคม 2559

2. ประชากรและกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ประชากรในการวิจัยครั้งนี้ คือ คณะผู้บริหาร ครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ นักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 3 ที่เข้าร่วมกิจกรรมฯ และผู้ปกครองนักเรียนที่เข้าร่วมกิจกรรมฯ ประจำปีการศึกษา 2558 รวมประชากรทั้งสิ้น 413 คน

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา จำนวนทั้งสิ้น 211 คน แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม และมีวิธีการเก็บข้อมูลที่แตกต่างกันไป ดังนี้

กลุ่มที่ 1 คณะผู้บริหาร จำนวน 5 คน โดยเลือกแบบเจาะจง เก็บข้อมูลโดยใช้แบบสัมภาษณ์

กลุ่มที่ 2 ครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมด้านการเกษตร จำนวน 6 คน โดยเลือกแบบเจาะจง เก็บข้อมูลโดยใช้แบบสอบถาม

กลุ่มที่ 3 นักเรียนที่เข้าร่วมกิจกรรมฯ จำนวน 100 คน คำนวณจากสูตรการหาขนาดตัวอย่างของ Yamane (1967) จากจำนวนนักเรียนทั้งหมด 134 คน ทำการสุ่มตัวอย่างโดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (simple random sampling) และเก็บข้อมูลโดยใช้แบบทดสอบ

กลุ่มที่ 4 ผู้ปกครองจำนวน 100 คน ซึ่งเป็นผู้ปกครองของนักเรียนกลุ่มตัวอย่าง เก็บข้อมูลโดยใช้แบบสอบถาม

3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยและการเก็บรวบรวมข้อมูล

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ แบบสัมภาษณ์ โดยใช้คำถามปลายปิดและปลายเปิด แบบสอบถาม และแบบทดสอบโดยคณะผู้บริหารดำเนินการใช้แบบสัมภาษณ์ คณะครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมใช้แบบสอบถาม ส่วนการเก็บข้อมูลเชิงปริมาณจะใช้แบบสอบถามและแบบทดสอบกับนักเรียน และผู้ปกครองนักเรียน

หาค่าความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับข้อคำถามของแบบทดสอบภาคทฤษฎีของนักเรียนจำนวน 50 ข้อ จากผู้เชี่ยวชาญจำนวน 5 ท่าน และมีการทดสอบความถูกต้องของเนื้อหา (content validity) แล้วนำไปทดลองเก็บข้อมูลกับนักเรียนและผู้ปกครองที่ไม่ใช่กลุ่มประชากร จำนวน 20 คน และตรวจสอบความน่าเชื่อถือของแบบสอบถามที่เป็นคำถามแบบให้เลือกตอบตามมาตรวัด 5 ระดับแบบลิเคิร์ต สเกล (Likert, 1932) พบว่า แบบสอบถาม ตอนที่ 2 ของผู้ปกครอง มีค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค (Cronbach, 1951) เท่ากับ 0.953 และแบบทดสอบภาคทฤษฎีของนักเรียน มีค่าสัมประสิทธิ์แอลฟา เท่ากับ 0.802 ซึ่งเป็นค่าที่สูงพอ จึงนำไปเก็บรวบรวมข้อมูลได้

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับการวิจัยทางสังคมศาสตร์ ได้แก่ ค่าความถี่ (frequency) ค่าร้อยละ (percentage) ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าสูงสุด (maximum) ค่าต่ำสุด (minimum) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ในการวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับความคิดเห็นโดยให้ตอบตามมาตรวัด 5 ระดับของลิเคิร์ต ผู้วิจัยใช้การคำนวณค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนัก (weighted mean score) ในการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ (qualitative data) ใช้วิธีการวิเคราะห์เนื้อหา (content analysis)

ผลการศึกษา

1. ข้อมูลบริบท

โรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เป็นโรงเรียนประเภทอยู่ประจำ ทำการสอนตั้งแต่ระดับชั้นประถมศึกษาปีที่ 1-6 ปัจจุบันมีจำนวนนักเรียนทั้งหมด 868 คน มีครูทั้งสิ้น 86 คน นักเรียนส่วนใหญ่มีปัญหาทางเศรษฐกิจ และสังคม เช่น เด็กด้อยโอกาส เด็กขาดโอกาสทางสังคม ซึ่งมีความหลากหลายทางชาติพันธุ์ โรงเรียนดังกล่าวได้รับการสนับสนุนโดยรัฐบาล มีนโยบายในการจัดการศึกษาเพื่อการมีงานทำ ตลอดจนโรงเรียนให้ความสำคัญกับงานส่งเสริมงานอาชีพ เพื่อให้นักเรียนเกิดกระบวนการเรียนรู้และเกิดทักษะในการปฏิบัติด้วยตนเอง

โรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ได้ดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรในโครงการยุวเกษตรกรในปี พ.ศ. 2558 โดยมีสมาชิกนักเรียนทุกคนเป็นยุวเกษตรกร ในโครงการฯ ประกอบด้วยกิจกรรมทั้งหมด 9 กิจกรรม ได้แก่ การปลูกข้าวไทย การเลี้ยงปลาในกระชัง การปลูกพืชผักสวนครัว การปลูกพืชผักปลอดสารพิษ ผักพื้นบ้านและสมุนไพร การเลี้ยงกบ การเพาะเห็ด การปลูกกล้วย และ การแปรรูปผลผลิตกล้วย โดยทางโรงเรียนได้มีการสอดแทรกกิจกรรมด้านการเกษตรทั้งในเวลาเรียนและนอกเวลาเรียนให้กับนักเรียน

2. ข้อมูลทั่วไปของคณะผู้บริหารสถานศึกษา

จากการศึกษา พบว่า คณะผู้บริหารเป็นเพศชาย คิดเป็นร้อยละ 60 โดยร้อยละ 80 มีอายุเฉลี่ย 47.80 ปี ทุกคนเป็นผู้ช่วยผู้บริหารสถานศึกษา และจบการศึกษาระดับปริญญาโท ร้อยละ 80 มีประสบการณ์ด้านการบริหาร 5-10 ปี โดยมีประสบการณ์ด้านการบริหารเฉลี่ย 5.60 ปี ร้อยละ 40 มีประสบการณ์ในด้านการส่งเสริมการจัดกิจกรรมด้านการเกษตร 6-10 ปี และ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 ปี เท่ากัน มีประสบการณ์ในด้านการส่งเสริมการจัดกิจกรรมด้านการเกษตรเฉลี่ย 7.80 ปี

3. ข้อมูลทั่วไปของคณะครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมด้านการเกษตร

จากการศึกษา พบว่า ครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมด้านการเกษตร ของโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ เป็นเพศชายและเพศหญิง ในจำนวนเท่ากันคือร้อยละ 50 ครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมร้อยละ 67 มีอายุระหว่าง 51-60 ปี เฉลี่ย 53 ปี ร้อยละ 50 มีสถานภาพสมรส ร้อยละ 67 จบการศึกษาระดับปริญญาโท ร้อยละ 33 มีอายุราชการระหว่าง 16-20 ปี และ 21-25 ปี โดยเฉลี่ย 29 ปี ร้อยละ 60 เป็นครูผู้สอนกลุ่มสาระการเรียนรู้การงานอาชีพและเทคโนโลยี โดยร้อยละ 50 มีจำนวนคาบสอน/สัปดาห์ระหว่าง 13 คาบขึ้นไป จากการศึกษาระดับการประเมินในด้านการส่งเสริมการจัดกิจกรรมด้านการเกษตรของครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมด้านการเกษตร พบว่า ครูผู้สอนจำนวนร้อยละ 33 เท่ากับมีประสบการณ์ในด้านการส่งเสริมการจัดกิจกรรมด้านการเกษตร น้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 ปี และ มากกว่าหรือเท่ากับ 31 ปี โดยมีประสบการณ์เฉลี่ย 20 ปี ร้อยละ 67 มีความเกี่ยวข้องในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรในฐานะเป็นครูผู้สอนกิจกรรมด้านการเกษตร และร้อยละ 17 มีความเกี่ยวข้องในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรในฐานะเป็นผู้รับผิดชอบโครงการและเป็นทีปรีक्षाโครงการยุวเกษตรกร

4. ข้อมูลทั่วไปของนักเรียนที่เข้าร่วมกิจกรรมด้านการเกษตร

จากการศึกษาข้อมูลนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 3 ที่เข้าร่วมกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกร พบว่า นักเรียนที่ทำแบบทดสอบกิจกรรมฯ ร้อยละ 67 เป็นเพศหญิง ร้อยละ 45 มีอายุระหว่าง 15-20 ปี อายุเฉลี่ย 16 ปี ร้อยละ 45 มีเชื้อชาติม้ง และร้อยละ 54 นับถือศาสนาพุทธ

การศึกษาแหล่งรายได้ของนักเรียน พบว่า ร้อยละ 84 มีแหล่งรายได้/รายรับจากบิดา/มารดา ร้อยละ 60 มีการวางแผนก่อนการใช้จ่ายเงิน ร้อยละ 62 มีการบันทึกรายรับ-รายจ่ายก่อนการใช้จ่ายเงิน ร้อยละ 58 มีเงินเหลือเก็บจากการใช้จ่ายในแต่ละวัน ร้อยละ 67 มีเงินเหลือเก็บและ

มีการบริหารจัดการเงินโดยเก็บออม และร้อยละ 79 ออมเงินในรูปแบบของเงินฝากกลุ่มออมทรัพย์ธนาคารโรงเรียน

5. ข้อมูลทั่วไปของผู้ปกครองนักเรียนที่เข้าร่วมกิจกรรมด้านการเกษตร

จากการศึกษา พบว่า ผู้ปกครองของนักเรียนที่เข้าร่วมกิจกรรมฯ ร้อยละ 59 เป็นเพศหญิง ร้อยละ 46 มีอายุระหว่าง 41-50 ปี โดยมีอายุเฉลี่ย 43 ปี ร้อยละ 48 มีการศึกษาระดับประถมศึกษาหรือต่ำกว่าประถมศึกษา ร้อยละ 60 มีอาชีพเกษตรกรรมร้อยละ 63 มีรายได้เฉลี่ยของครอบครัวในแต่ละเดือน น้อยกว่า 10,000 บาท

6. การดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่

จากการศึกษา พบว่า โรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ ได้ดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกร ในปี พ.ศ. 2558 จำนวนทั้งหมด 9 กิจกรรม ได้แก่ การปลูกข้าวไทย การเลี้ยงปลาในกระชัง การปลูกพืชผักสวนครัว การปลูกพืชผักปลอดสารพิษ ผักพื้นบ้าน และสมุนไพร การเลี้ยงกบ การเพาะเห็ด การปลูกกล้วย และการแปรรูปผลผลิตกล้วย โดยทางโรงเรียนได้มีการสอดแทรกกิจกรรมด้านการเกษตรทั้งในเวลาเรียนและนอกเวลาเรียนให้กับนักเรียน เช่น ในเวลาเรียน โรงเรียนได้จัดคาบเรียนชุมนุม และคาบเรียนศักยภาพ จำนวน 3 คาบ/สัปดาห์ เพื่อให้ นักเรียนสามารถเลือกลงรายวิชาด้านอาชีพตามที่ตนเองสนใจ ส่วนกิจกรรมนอกเวลาเรียน เมื่อมีเวลาว่างหลังเลิกเรียนหรือช่วงวันหยุดเสาร์-อาทิตย์ นั้น นักเรียนสามารถรวมกลุ่มกันเองตามความสมัครใจ และจัดทำโครงการขึ้นมาตามที่ได้ตกลงกันในกลุ่มและร่วมกันดำเนินกิจกรรม ซึ่งจะเห็นได้ว่าทางโรงเรียนให้ความสำคัญกับกิจกรรมด้านการเกษตรเป็นอย่างมาก เนื่องจากทางโรงเรียนมีนโยบายที่มุ่งเน้นให้ผู้เรียน เรียนรู้ และฝึกฝนการปฏิบัติงานด้วยตนเอง การทำงานร่วมกันเป็นกลุ่ม รวมถึงการบริหารจัดการทรัพยากรที่มีอยู่อย่างจำกัดให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยการสร้างมูลค่าให้กับสินค้าเกษตร เช่น กล้วย นำมาแปรรูปเป็นกล้วยทอด กล้วยฉาบ เป็นต้น นอกจากนี้ทางโรงเรียนยังได้ให้การสนับสนุนและส่งเสริมให้นักเรียนเกิดทักษะในการบริหาร

จัดการทุนและกำไรที่ได้จากการดำเนินกิจกรรม โดยการจัดตั้งโรงเรียนธนาคาร ซึ่งได้รับการสนับสนุนจากธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร (ธ.ก.ส.) เพื่อให้ นักเรียนเกิดการเรียนรู้เกี่ยวกับการขั้นตอนและกระบวนการในการฝากเงิน ถอนเงินหรือขั้นตอนต่าง ๆ ในการทำธุรกรรมทางการเงิน ซึ่งกิจกรรมเหล่านี้จะช่วยให้ นักเรียนเกิดความรู้ความเข้าใจ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวันต่อไปได้

7. ความสำเร็จในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่

ผลการศึกษาความสำเร็จในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ พบว่า

1) ด้านบริบท (context) พบว่าการดำเนินงานประสบความสำเร็จอยู่ในระดับมาก ($\bar{x} = 3.56$) นักเรียนเข้าร่วมกิจกรรมด้านการเกษตร ตามความสามารถ ความถนัดและความสนใจของตนเอง ซึ่งกิจกรรมด้านการเกษตรที่จัดขึ้น มีความสอดคล้องกับพันธกิจ วิสัยทัศน์ และเป้าหมายในการจัดการศึกษาของโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์ ซึ่งมุ่งเน้นในด้านทักษะอาชีพทางการเกษตร ($\bar{x} = 4.60$) การดำเนินกิจกรรมเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของโครงการ ($\bar{x} = 4.33$) โรงเรียนได้ชี้แจงวัตถุประสงค์ของโครงการยุวเกษตรกรและกิจกรรมด้านการเกษตรแก่ผู้ปกครองก่อนดำเนินกิจกรรมทุกครั้ง ($\bar{x} = 3.46$) มีการติดต่อประสานงานในการปฏิบัติกิจกรรมด้านการเกษตรอย่างต่อเนื่อง เช่น การเชิญร่วมวางแผนการจัดกิจกรรม โรงเรียนมีสถานที่เพียงพอกับการทำกิจกรรมด้านการเกษตรทั้ง 6 กิจกรรม คือ กิจกรรมการปลูกข้าว การเลี้ยงปลา ในกระชัง การปลูกพืชผักสวนครัว การเลี้ยงกบ การปลูกกล้วย การแปรรูปผลผลิตกล้วย ($\bar{x} = 3.99$) การดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์ส่งผลให้นักเรียนมีความรู้ ทางด้านเกษตร มีทักษะ ความชำนาญทางการประกอบอาชีพเกษตรกรรม ($\bar{x} = 4.00$) นักเรียนรู้จักใช้เวลาว่างให้เกิดประโยชน์ และสามารถพึ่งตัวเองได้ ($\bar{x} = 3.73$) โรงเรียนมีการประสานงาน มีการประชุมวางแผนการดำเนินงานร่วมกับ

หน่วยงานภายนอก เช่น กรมพัฒนาที่ดิน สำนักงานเกษตรอำเภอ แะริม ($\bar{x}=3.52$)

2) ด้านปัจจัยเบื้องต้น (input) พบว่าการดำเนินงานประสบความสำเร็จอยู่ในระดับมาก ($\bar{x}=3.55$) ทางโรงเรียนได้มีการจัดหาทุนสนับสนุนทั้งทาง ด้านบุคลากร งบประมาณ เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดจนความร่วมมือจากหน่วยงานภายนอก ($\bar{x}=3.80$) ทางโรงเรียนมีทุน เครื่องมือ พันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ วัสดุ อุปกรณ์ ($\bar{x}=3.80$) โรงเรียนมีบุคลากรเพียงพอในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรพร้อมจะให้คำแนะนำแก่นักเรียนได้ทุกเมื่อ ($\bar{x}=5.00$) โรงเรียนมีพื้นที่ให้ดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรและเป็นพื้นที่ที่เหมาะสม มีแหล่งน้ำเพียงพอสำหรับการเกษตร ($\bar{x}=3.57$)

3) ด้านกระบวนการ (process) พบว่าการดำเนินงานประสบความสำเร็จอยู่ในระดับมาก ($\bar{x}=3.62$) โดยภาพรวมโรงเรียนได้จัดกิจกรรมด้านการเกษตรอย่างต่อเนื่อง มีการแต่งตั้งคณะกรรมการ ที่ปรึกษากิจกรรม รวมทั้งนักเรียนได้ลงมือปฏิบัติกิจกรรมจริง ($\bar{x}=3.65$) จึงทำให้การเรียนการสอนบรรลุผลตามแนวทางและแผนงานที่วางไว้ ($\bar{x}=4.00$) ซึ่งสังเกตได้จากครูผู้รับผิดชอบกิจกรรมที่ได้ให้การดูแล ช่วยเหลือ ชี้แนะ แนะนำให้กับนักเรียนอยู่เสมอ ตั้งแต่เริ่มดำเนินกิจกรรมจนถึงสิ้นสุดการจัดกิจกรรม ($\bar{x}=4.80$) ทำให้นักเรียนได้รับความรู้และทักษะเกี่ยวกับการปฏิบัติกิจกรรมด้านการเกษตร ($\bar{x}=4.00$) มีระยะเวลาที่ใช้ในการจัดกิจกรรมด้านการเกษตรมีความเหมาะสมทั้งในภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติ ($\bar{x}=4.50$) มีการนำนักเรียนไปทัศนศึกษา/ศึกษาดูงานนอกสถานที่เพื่อนำความรู้กลับมาประยุกต์ใช้ในกิจกรรมของโรงเรียน ($\bar{x}=3.83$) นักเรียนสามารถเรียนรู้ที่จะอยู่ร่วมกันได้ แก้ไขปัญหาพร้อมกันได้ ($\bar{x}=3.41$) นักเรียนได้ลงมือปฏิบัติกิจกรรมอย่างต่อเนื่อง นักเรียนเกิดทักษะในการประกอบอาชีพ ($\bar{x}=3.54$)

4) ด้านผลผลิต (product) พบว่าการดำเนินงานประสบความสำเร็จอยู่ในระดับมาก ($\bar{x}=3.78$) การให้โอกาสแก่นักเรียนในการตัดสินใจเลือกกิจกรรมตามที่ตนเองถนัดหรือสนใจ ทำให้นักเรียนรู้จักกระบวนการทำงาน การคิดวิเคราะห์ด้วยตนเอง ส่งผลให้นักเรียนเกิดความรักในอาชีพเกษตรกรรม มีความ

กระตือรือร้นในการปฏิบัติงานทั้งในเวลาเรียนและนอกเวลาเรียน ($\bar{x}=4.40$) รวมทั้งส่งผลให้นักเรียนมีทักษะทางด้านการเกษตรและสามารถนำความรู้ที่ได้รับไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวันได้ ($\bar{x}=4.40$) นอกจากนี้ ผลผลิตทางการเกษตรที่ได้จากการดำเนินกิจกรรมของกลุ่มยุวเกษตรกร มีคุณภาพและเป็นไปตามวัตถุประสงค์ ($\bar{x}=4.20$) สามารถนำไปจำหน่ายเป็นคนได้เสริมให้กับนักเรียน ($\bar{x}=3.62$) นักเรียนมีทัศนคติที่ดีต่อการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตร ($\bar{x}=4.17$) นักเรียนมีความรับผิดชอบต่อตนเองและส่วนรวม ($\bar{x}=4.00$) นักเรียนมีความรู้ความเข้าใจ และทักษะในด้านการเกษตร ในด้านการผลิตสามารถทำการเกษตรเพื่อบริโภค และสร้างอาชีพสร้างคนได้ให้แก่ตนเอง รวมทั้งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการบริโภค ($\bar{x}=3.62$) ตลอดจนสามารถปลูกผักขายเพื่อเป็นรายได้ให้กับตนเอง นำมาเป็นอาชีพและพึ่งตนเองได้ ประกอบอาชีพเป็นของตนเอง นำไปเผยแพร่ให้กับผู้ปกครอง ($\bar{x}=3.77$) จากการทดสอบความรู้ภาคทฤษฎีโดยการประเมินความรู้ความเข้าใจของนักเรียนด้านกิจกรรมการเกษตร โดยใช้แบบสอบถามที่มีคะแนนเต็ม 40 คะแนน เกณฑ์การผ่าน ร้อยละ 65 คือ 26 คะแนน นักเรียนทำคะแนนได้สูงสุด 35 คะแนน ต่ำสุด 11 คะแนน โดยมีค่าเฉลี่ย 26.14 คะแนน มีผู้สอบผ่านจำนวนร้อยละ 66 ผลการทดสอบปรากฏดังตารางที่ 1

8. ปัญหา อุปสรรคและข้อเสนอแนะ

ปัญหาและอุปสรรค

1) โรงเรียนตั้งอยู่ในเขตชุมชน ใกล้โรงพยาบาล การทำกิจกรรมด้านการเกษตรยังไม่เหมาะสม 2) โรงเรียนมีเป้าหมายที่ดี แต่การนำความรู้สู่การปฏิบัติยังไม่ครอบคลุม 3) บุคลากรและเครื่องมือ มีความพร้อม แต่บุคลากรส่วนใหญ่ไม่ตระหนักในการทำงานอย่างเต็มที่ 4) การดำเนินกิจกรรมควรมีกิจกรรมที่หลากหลายและรับความรู้ใหม่ ๆ 5) พื้นที่ทำการเกษตรน้อยลง ฝนตกน้ำท่วม แปลงผัก เนื่องจากเป็นที่ลุ่ม 6) งบประมาณมีน้อย มีแค่อุปกรณ์แต่บดำเนินการมีไม่เพียงพอต่อความต้องการ 7) ผู้เรียนมีเวลาในการทำกิจกรรมนอกเวลาค่อนข้างน้อย เนื่องจากตารางกิจกรรมในโรงเรียนค่อนข้างจำกัด 8) ผลผลิตทางการเกษตรที่ได้รับจากการดำเนินกิจกรรมมี

Table 1. The student's test scores on cognitive

n = 100			
Score range	Number of students	%	Criterion
36-40	0	0	
31-35	19	19	Passed
26-30	47	47	Passed
21-25	23	23	Fail
16-20	8	8	Fail
11-15	3	3	Fail
Lower -10	0	0	
Total	100	100	

ปริมาณน้อย 9) พื้นที่ที่ใช้ในการเกษตรค่อนข้างจำกัด และ 10) บุคลากรที่มีความรู้ทางด้านการเกษตรโดยตรงค่อนข้างน้อย

อภิปรายผล

การศึกษาความสำเร็จในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ สามารถนำมาอภิปรายผลได้ ดังนี้

ด้านบริบท กิจกรรมด้านการเกษตรของกลุ่มยุวเกษตรกรสอดคล้องกับพันธกิจ วิสัยทัศน์ เป้าหมายในการจัดการศึกษาของโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์ ซึ่งมุ่งเน้นในด้านทักษะอาชีพทางการเกษตร มีความสอดคล้องกับนโยบายของท้องถิ่น คือ เน้นทักษะทางด้านอาชีพ มีการประชุมปรึกษาหารือและวางแผนร่วมกันในการดำเนินกิจกรรม ระหว่างคณะผู้บริหารสถานศึกษา คณะกรรมการสถานศึกษา และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง แสดงให้เห็นว่า คณะผู้บริหารสถานศึกษาให้ความสำคัญและมีส่วนร่วมในการดำเนินกิจกรรมอย่างจริงจัง สอดคล้องกับ นิภาภรณ์ และคณะ (2553) พบว่า ปัจจัยด้านผู้นำ การสร้างเครือข่าย การบริหารและการจัดการ และคณะกรรมการกลุ่ม มีผลต่อความสำเร็จในการดำเนินงานของธุรกิจชุมชนเป็นอันดับแรก สอดคล้องกับ ทศนีย์ และคณะ (2561) พบว่า สภาพความร่วมมือระหว่างโรงเรียนกับชุมชนในการบริหารโรงเรียนขนาดเล็กเขตภาคเหนือ

ตอนบน ในด้านการร่วมคิด การร่วมวางแผน การร่วมดำเนินการ การร่วมติดตาม และการประเมินผลของผู้บริหาร ครู บุคลากรทางการศึกษา และชุมชน มีผลต่อความสำเร็จอยู่ในระดับปานกลาง 3

ด้านปัจจัยเบื้องต้น พบว่า ด้านทุน เครื่องมือ พันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ วัสดุ อุปกรณ์ สถานที่ เพียงพอต่อการจัดกิจกรรมให้แก่นักเรียน มีการสนับสนุนบุคลากรงบประมาณ เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดจนความร่วมมือจากหน่วยงานภายนอก ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลให้การดำเนินกิจกรรมประสบความสำเร็จ ซึ่งสอดคล้องกับ ฅนภัทร (2559) พบว่า สมาชิกยุวเกษตรกรส่วนมากให้ความสำคัญต่อการได้รับการสนับสนุนจากทางโรงเรียนในระดับดีมาก โดยเฉพาะการสนับสนุนด้านความรู้แก่กลุ่ม การสนับสนุนด้านการเงิน

ด้านกระบวนการ โดยการทำกิจกรรมด้านการเกษตร การลงมือปฏิบัติกิจกรรมของนักเรียน การจัดกิจกรรมการเรียนการสอนบรรลุผล ตามตามแผนงานที่วางไว้ ครูและนักเรียน มีส่วนร่วมในการเลือกกิจกรรม ทำให้การจัดกิจกรรมด้านการเกษตรมีความเหมาะสมกับการเรียนรู้ของนักเรียน นักเรียนสามารถเลี้ยงกบ เลี้ยงปลา ปลุกข้าว ปลุกพืชผักสวนครัว ปลุกกล้วย และแปรรูปกล้วยได้จริงตามวัตถุประสงค์ของโครงการ สอดคล้องกับ ปุณยวีร์ และคณะ (2559) พบว่า บทบาทของกลุ่มตัวอย่างยุวเกษตรกร ในส่วนของบทบาทจริงที่สมาชิกกลุ่มยุวเกษตรกรที่ได้ปฏิบัติจริง ผ่านการดำเนินงานร่วมกับกลุ่มรวม ในด้านการผลิตและการตลาด การอนุรักษ์และ

การพัฒนาทรัพยากรธรรมชาติ ด้านการพัฒนาชุมชนและด้านการร่วมมือกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร พบว่า บทบาทจริงของสมาชิกกลุ่มยุวเกษตรกร อยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.30)

ด้านผลผลิต พบว่า นักเรียนมีความรู้ความเข้าใจ และทักษะในด้านการเกษตร ตลอดจนสามารถปลูกผักขาย เพื่อเป็นรายได้ให้กับตนเอง นำมาเป็นอาชีพและพึ่งตนเองได้ สามารถนำความรู้ไปเผยแพร่ให้กับผู้ปกครอง ชาวบ้านที่นักเรียนตั้งถิ่นฐานอยู่ สอดคล้องกับ ศันสนีย์ และคณะ (2559) ด้านของทัศนคติของทายาทเกษตรกรต่อการประกอบอาชีพเกษตรนั้น ในส่วนของทัศนคติด้านบวก ทายาทเกษตรกรเห็นว่า อาชีพเกษตรเป็นอาชีพที่มีความสำคัญต่อชุมชนและประเทศชาติในระดับมากที่สุด (ค่าเฉลี่ย 4.26) รองลงมาเห็นว่า เป็นอาชีพที่สอดคล้องกับบริบทและสภาพแวดล้อมของชุมชน (ค่าเฉลี่ย 4.01 ระดับมาก) เป็นอาชีพที่มีความสำคัญมากในอนาคต จึงควรสืบทอดอาชีพต่อจากบรรพบุรุษ (ค่าเฉลี่ย 3.91 ระดับมาก) ซึ่งแตกต่างจาก ยศ และชนินทร์ (2558) พบว่า เงื่อนไขสำคัญที่เป็นข้อแม้หรือมีแนวโน้มทำให้บุตรหลานเกษตรกรไม่เข้าสู่อาชีพเกษตรกรรมคือผู้ที่มีความต้องการความสวยงามของร่างกาย และเห็นว่าการประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นอาชีพที่มีความลำบาก

นอกจากนี้ในด้านผลผลิต ยังพบว่า นักเรียนสามารถนำความรู้ด้านการเกษตรไปปฏิบัติที่บ้านของตน และชุมชนของตนเองได้ นักเรียนมีทักษะการปลูกข้าว การเก็บเกี่ยว นักเรียนมีความรู้และทักษะด้านการดำรงชีวิตแบบเกษตรกรได้อย่างยั่งยืน สอดคล้องกับ บุศรา (2554) พบว่า ระบบการส่งเสริมเกษตรยั่งยืนนั้น มีแนวทางการมีส่วนร่วมเป็นกระบวนการหลักของการพัฒนาระบบเกษตรยั่งยืน โดยการเปลี่ยนแปลงด้านความคิด การขยายระดับการทำงานเหนือระดับครัวเรือนไปถึงชุมชน กลุ่มและเครือข่าย ได้มีการเชื่อมโยงระบบเกษตรยั่งยืนกับความมั่นคงทางอาหาร โดยการขยายผลของระบบเกษตรยั่งยืนเป็นการขยายผลเชิงความคิด การจัดการความรู้ การบริหารและจัดการชุมชน ซึ่งรูปแบบการเรียนรู้เป็นการเรียนรู้ตามอัธยาศัย การจัดการเรียนรู้รูปแบบของเวทีแลกเปลี่ยนประสบการณ์ระหว่างกลุ่ม ทำให้ชุมชนเกิดกระบวนการมีส่วนร่วมและเกิดการเรียนรู้

นักเรียนสามารถพึ่งตนเองได้ในด้านการผลิตสามารถทำการเกษตรเพื่อบริโภค และสร้างอาชีพ สร้างรายได้ให้แก่ตนเอง รวมทั้งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการบริโภค ทั้งนี้จะเนื่องมาจากนักเรียนมีประสบการณ์ในการปฏิบัติกิจกรรมด้านการเกษตรอย่างต่อเนื่อง จนเกิดการจดจำและเข้าใจถึงขั้นตอนวิธีการต่าง ๆ ในการปลูกพืช นักเรียนมีความรู้และทักษะทางด้านการเกษตร เช่น การปลูกกล้วย การเพาะพันธุ์กล้วย การแยกประเภทหลักการวิธีการปลูก กระบวนการขั้นตอนในการปลูก การกำหนดราคาขาย การทำบัญชีธุรกิจการแสวงหาโอกาส และการพัฒนาธุรกิจการปลูกกล้วย นักเรียนมีความรู้และทักษะในการเลือกใช้วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเกษตร ที่เกิดจากการเข้าใจและได้เรียนรู้จากการปฏิบัติจริง ซึ่งสอดคล้องกับ บุศรา และคณะ (2557) และ ศิริมาศ และบุศรา (2555) การสร้างการเรียนรู้ในการปฏิบัติและการมีส่วนร่วม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านความรู้และการปฏิบัติ นอกจากนี้ ยังรวมถึงการฝึกอบรมจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรหรือครูผู้รับผิดชอบกิจกรรม รวมทั้งการศึกษาดูงานนอกสถานที่

สรุป

ความสำเร็จในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ ด้านบริบท มีความสำเร็จอยู่ในระดับมาก คือ ทางโรงเรียนให้ความสำคัญกับการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตร ตั้งแต่ก่อนการดำเนินกิจกรรมจนถึงสิ้นสุดกิจกรรม ด้านปัจจัยเบื้องต้นมีความสำเร็จอยู่ในระดับมาก คือ มีความพร้อมด้านบุคลากร ความร่วมมือจากหน่วยงาน ด้านกระบวนการ มีความสำเร็จอยู่ในระดับมาก คือ โรงเรียนมีความพร้อมในการจัดกิจกรรมเนื่องจากเป็นโรงเรียนประเภทอยู่ประจำ สามารถจัดกิจกรรมได้อย่างต่อเนื่อง นักเรียนได้ดำเนินกิจกรรมด้วยตนเอง ด้านผลผลิตมีความสำเร็จในระดับมาก คือ นักเรียนผ่านการทดสอบภาคทฤษฎี แสดงให้เห็นว่านักเรียนมีความรู้ด้านการเกษตร สามารถพึ่งพาตนเองได้ และสามารถนำความรู้ที่ได้รับเหล่านี้ขยายผลไปยังชุมชนของตนเองได้

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าโรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่ มีความสำเร็จในการดำเนินกิจกรรมด้านการเกษตรของโครงการยุวเกษตรกรในทุกด้าน ซึ่งในความสำเร็จแต่ละด้านนั้นพบปัญหาและอุปสรรคเพียงเล็กน้อย คือ ปัญหาด้านพื้นที่ทำการเกษตรที่จำกัด จำนวนวัสดุอุปกรณ์ในการทำเกษตรมีน้อย และเวลาในการทำกิจกรรมค่อนข้างจำกัด

เอกสารอ้างอิง

- ณภัทร กำนันท์. 2559. การมีส่วนร่วมในการดำเนินงานของสมาชิกกลุ่มยุวเกษตรกรในโรงเรียนกรณีศึกษากลุ่มยุวเกษตรกรโรงเรียนบ้านบุ่งคล้า ตำบล บุ่งคล้า อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.stou.ac.th/thai/grad_std/Masters (17 กันยายน 2559).
- ทัศนีย์ บุญมาภิ สมบูรณ์ ดันยะ กรองทิพย์ นาควิเชตร และ ศรดา ชัยสุวรรณ .2561. รูปแบบความร่วมมือระหว่างโรงเรียนกับชุมชนในการบริหารโรงเรียนขนาดเล็ก เขตภาคเหนือตอนบน. วารสารชุมชนวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา 12(1): 73-86.
- นิภาภรณ์ จงวุฒิเวศย์ รั้งสรรค์ สิงห์เลิศ และ สมสงวน บัณฑิตสาโก. 2553. ปัจจัยที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการดำเนินงานของธุรกิจชุมชนในเขตอำเภอเมือง จังหวัดร้อยเอ็ด. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม 4(2): 103-112.
- บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล. 2554. นวัตกรรมส่งเสริมเพื่อขยายผลเกษตรยั่งยืน. วารสารเกษตร 27(3): 293-303.
- บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล ถาวร อ่อนประไพ และ พฤกษ์ ยิบมันตะศิริ. 2557. ศักยภาพของชุมชนตำบลแม่ทาในการจัดการทรัพยากรเกษตรที่ระดับลุ่มน้ำ. เกษตร 42(ฉบับพิเศษ 2): 288-295.
- ปณณวีร์ เกิดศรี สายสกุล พงมุล พหล คักคิทัศน์ และ นเรศ รั้งควิต. 2559. บทบาทของสมาชิกกลุ่มยุวเกษตรกรต่อการส่งเสริมการเกษตรในอำเภอแม่ฮาด จังหวัดเชียงใหม่. วารสารการพัฒนาชุมชนและคุณภาพชีวิต 4(1): 109-121.
- ผ่องพรรณ ชัยสาร. 2541. ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จของโครงการส่งเสริมการประกอบอาชีพอิสระ ของนักเรียนในโรงเรียนมัธยมศึกษา จังหวัดเชียงใหม่. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://cmuir.cmu.ac.th/handle/6653943832/18883> (6 สิงหาคม 2561).
- ยศ บริสุทธิ และ ชนินทร์ แก้วคะดา. 2558. เงื่อนไขฐานรากในการเข้าสู่อาชีพเกษตรกรรมของเกษตรกรและบุตรหลานเกษตรกร. วารสารเกษตร 31(2): 215-224.
- โรงเรียนศึกษาสงเคราะห์เชียงใหม่. 2557. ประวัติโรงเรียน. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.sscm.ac.th/main/index.php?option=com_content&view=article&id=313&Itemid=303#page (10 กันยายน 2559).
- คันสนีย์ กระจำจิม สุदारัตน์ อุทธารัตน์ ณัฐสิทธิ์ ศรีนุรักษ์ และ อุบลรัตน์ หยาไผ่. 2559. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับแรงจูงใจของทายาทเกษตรกรในการสานต่ออาชีพเกษตรในอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 31(1): 29-38.
- ศิริมาศ แสงเมือง และ บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล. 2555. การเปลี่ยนแปลงของระบบการผลิตข้าว: ความเข้าใจการปรับตัวและการยอมรับของเกษตรกรต่อขั้นตอนการผลิตข้าวที่ใช้ทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพในที่ราบลุ่มเชียงใหม่. วารสารมหาวิทยาลัยนครพนม ฉบับงานประชุมวิชาการระบบเกษตรแห่งชาติ ครั้งที่ 8: 208-214.
- Cronbach, L. J. 1951. Coefficient alpha and the internal structure of tests. Psychometrika 16(3): 297-334.
- Likert, R. 1932. A Technique for the Measurement of Attitudes. New York University, New York. 55 p.
- Stufflebeam, D. L. and A. J. Shinkfield. 2007. Evaluation Theory, Models, and

Applications. Jossey-Bass, San Francisco.
768 p.

Yamane, T. 1967. Statistics: An Introductory Analysis.
2nd ed. Harper and Row, New York. 886 p.

การวิเคราะห์ทางการเงินของการเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ในบ่อดิน: กรณีศึกษาคลองวาฬโมเดล

Financial Analysis of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Culture in Earthen Pond: Case Study of Klongwan Models

วุฒิชัย อ่อนเอี่ยม^{1*} วาสนา อากรณ์รัตน์¹ และ ประภาพร ดีมาก²
Vutthichai Oniam^{1*}, Wasana Arkronrat¹ and Prapapron Deemark²

¹สถานีวิจัยประมงคลองวาฬ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ต.คลองวาฬ อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์ 77000

¹Klongwan Fisheries Research Station, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Khlong Wan Subdistrict, Mueang District, Prachuap Khiri Khan 77000, Thailand

²กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กรุงเทพฯ 10900

²Coastal Aquaculture Research and Development Division, Department of Fisheries, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author: Email: toey.oniam@gmail.com

(Received: 26 October 2017; Accepted: 30 April 2018)

Abstract: The objectives of this study were to investigate the general information concerning production and a financial analysis of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture in 1 Rai (1,600 m²) earthen ponds at Klongwan Fisheries Research Station, Prachuap Khiri Khan province, during April 2014 to May 2016. Shrimps were reared under 2 models, namely, Klongwan model 1 and Klongwan model 2, with eight crops per model. Results showed that the body weight, survival rate, average daily growth (ADG), feed conversion ratio (FCR) and production of shrimps reared under both models were not significantly different ($P>0.05$). The financial analysis of investment found that the cost of shrimps reared under Klongwan model 1 and 2 were cover the cost according to the net present value (NPV) were positive value equal 839,086.2 and 539,645.6 THB, the benefit cost ratio (BCR) were 1.6 and 1.5 and the internal rate of return (IRR) were 79.8 and 67.1 %, respectively. But the investment of shrimps reared under Klongwan model 2 had a relatively high risk due to the changes of cost and benefit of the investments, i.e. both 20% increased in cost and 20% decreased in benefit. This study indicates that an alternative option is to use Klongwan model 1 to shrimp production for small scale farming in the future.

Keywords: Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), financial analysis, Klongwan models

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาพทั่วไปด้านการผลิต และวิเคราะห์ทางการเงินของการเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) โดยใช้ข้อมูลจากกิจกรรมการเลี้ยงกุ้งในบ่อดินขนาด 1 ไร่ ของสถานีวิจัยประมงคลองวาฬ ตำบลคลองวาฬ อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในช่วงเดือนเมษายน 2557 - พฤษภาคม 2559 โดยแบ่งการเลี้ยงออกเป็น 2 รูปแบบ คือ คลองวาฬโมเดล 1 และคลองวาฬโมเดล 2 รูปแบบการเลี้ยงละ 8 ไร่ ผลการศึกษาพบว่า น้ำหนักตัวกุ้ง อัตรารอดตาย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) และผลผลิตของการเลี้ยงกุ้งทั้งสองรูปแบบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนผลการวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางการเงิน พบว่า การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 และ 2 มีความเหมาะสมในการลงทุน เนื่องจากมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) มีค่าเป็นบวกเท่ากับ 839,086.2 และ 539,645.6 บาท อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) มีค่าเท่ากับ 1.6 และ 1.5 และอัตราผลตอบแทนภายในโครงการ (IRR) มีค่าเท่ากับร้อยละ 79.8 และ 67.1 ตามลำดับ แต่การเลี้ยงกุ้งตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 ยังคงมีความเสี่ยงอยู่มากเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงด้านต้นทุน และผลประโยชน์ของการลงทุน โดยเฉพาะในกรณีที่สมมุติให้ต้นทุนเพิ่มขึ้น 20% กับผลประโยชน์ลดลง 20% ดังนั้นจากการวิเคราะห์ข้อมูลในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งรายย่อยสำหรับนำไปใช้ในการเลี้ยงต่อไป

คำสำคัญ: กุ้งขาว การวิเคราะห์ทางการเงิน คลองวาฬโมเดล

คำนำ

กุ้งเป็นสัตว์น้ำที่นิยมบริโภคของประชากรในประเทศ อีกทั้งเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งการเลี้ยงกุ้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีมูลค่าสูงสำหรับประเทศไทยมีอยู่หลายชนิด เช่น กุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (เมธาวิ และคณะ, 2560) กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* (ชลอ และ นิติ, 2560) และกุ้งขาวแวนนาไม *Litopenaeus vannamei* (จุฑามาศ และคณะ, 2558) เป็นต้น สำหรับอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล โดยเฉพาะกุ้งขาวแวนนาไม หรือกุ้งขาวได้มีการพัฒนา และเติบโตอย่างรวดเร็ว จนเป็นอุตสาหกรรมสำคัญที่สร้างรายได้ให้กับประเทศปีละหลายหมื่นล้านบาท (ประจวบ, 2543; ชลอ และพรเลิศ, 2547; Lin, 2000) ซึ่งในปี พ.ศ. 2560 ประเทศไทยส่งออกกุ้งขาว 212,625 ตัน คิดเป็นมูลค่า 69,940 ล้านบาท โดยปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นมากในตลาดจีน และเกาหลีใต้ (สุทธสินี, 2561) แต่ถึงอย่างไรก็ตาม จากข้อมูลสถิติการประมงแห่งประเทศไทย พบว่า ปริมาณและมูลค่าการส่งออกกุ้งขาวของไทยลดลงมาจากอดีต และยังคงมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ประมาณต้นปี พ.ศ. 2557 เป็นต้นมา ทั้งนี้เนื่องจากเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาว

กำลังประสบกับปัญหาราคากุ้งตกต่ำ ปัญหาด้านโรคระบาด และปัญหาอื่น ๆ จนทำให้ขาดทุนเล็กน้อยกันไปหลายราย ตัวอย่างเช่น ในปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยสามารถผลิตกุ้งขาวได้สูงถึง 603,200 ตัน จากนั้นผลผลิตของกุ้งขาวเริ่มลดลง จนในปี พ.ศ. 2557 ผลผลิตลดลงเหลือเพียง 263,200 ตัน หรือลดลงเฉลี่ยปีละ 18.7% (กรมประมง, 2559)

จากปัญหาที่เกิดกับการผลิตและผลผลิตกุ้งขาวของไทย ทำให้เกิดองค์ความรู้ หรือการพัฒนาแนวทางการเลี้ยงกุ้งขาวออกมาในหลากหลายรูปแบบ (Yuan et al., 2010; Zarain-Herzberg et al., 2010; Baloi et al., 2013) แต่ปัจจุบันกลับพบว่า เกษตรกร โดยเฉพาะกับเกษตรกรรายย่อยที่มีอยู่ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70 นิยมเลี้ยงกุ้งโดยใช้ประสบการณ์ ซึ่งได้จากการลองผิดลองถูกเป็นส่วนใหญ่ (ข้อมูลจากการลงพื้นที่สัมภาษณ์เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และจังหวัดฉะเชิงเทราของคณะผู้วิจัย ในช่วงเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม 2558) ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะว่า องค์ความรู้ หรือเทคโนโลยีการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาที่มีอยู่มีความซับซ้อน ใช้พื้นที่มาก และต้องใช้ต้นทุนในการดำเนินการสูงทำให้เกษตรกรรายย่อยดำเนินการตามได้ยาก ด้วยเหตุนี้ การพัฒนาองค์ความรู้ที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งขาวของเกษตรกรรายย่อย

ด้วยการนำแนวทางการทำเกษตรแบบเศรษฐกิจพอเพียง มาประยุกต์ใช้ โดยเฉพาะด้านการใช้พื้นที่ไม่มาก และการลงทุนไม่สูงมากนักจึงมีความจำเป็น

ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ เพื่อศึกษาสภาพทั่วไปด้านการผลิต การวิเคราะห์ต้นทุน และผลตอบแทนทางการเงินของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล (Klongwan models) ซึ่งเป็นรูปแบบต้นแบบการเลี้ยงกุ้งขาวของสถานีวิจัยประมงคลองวาฬ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่มีเป้าหมายขยายองค์ความรู้สู่กลุ่มผู้เลี้ยงกุ้งแถบภาคใต้ตอนบน ซึ่งเป็นภูมิภาคที่มีการเลี้ยงกุ้งมากเป็นอันดับหนึ่งของประเทศ คือ ประมาณ 28 % เมื่อเทียบกับภูมิภาคอื่น (สุทธสินี, 2561) องค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ น่าจะช่วยให้เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งรายย่อยสามารถใช้เป็นแนวทางในการดำเนินงานปรับปรุง และมีการจัดการฟาร์มที่ดีขึ้นแทนการลองผิดลองถูกด้วยตนเองได้ และเพื่อนำมาเป็นข้อมูลในการพิจารณาของหน่วยงานภาครัฐ หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่จะนำไปใช้ในการส่งเสริม หรือสนับสนุนการเลี้ยงกุ้งตามรูปแบบนี้สู่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ขอบเขตการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาถึงสภาพทั่วไปเกี่ยวกับการเลี้ยงกุ้งขาว การวิเคราะห์ต้นทุน และผลตอบแทนที่ได้รับ โดยใช้รูปแบบการเลี้ยงที่เรียกว่า “คลองวาฬโมเดล” ซึ่งเป็นรูปแบบการเลี้ยงที่องค์ความรู้ทางวิชาการ มีโปรแกรมการให้อาหารของแต่ละช่วงเวลา การเลี้ยง ไม่มีการใช้ยาและสารเคมีระหว่างเลี้ยง ใช้พื้นที่ไม่มาก และลงทุนไม่มาก โดยกรณีศึกษานี้ จะมีรูปแบบการเลี้ยงอยู่ 2 รูปแบบ ซึ่งแตกต่างกันที่ระยะเวลาการเลี้ยงเท่านั้น คือ คลองวาฬโมเดล 1 (Klongwan model 1) เลี้ยงกุ้งที่ระยะเวลา 100 วัน และคลองวาฬโมเดล 2 (Klongwan model 2) เลี้ยงกุ้งที่ระยะเวลา 90 วัน

การเก็บและรวบรวมข้อมูล

เก็บและรวบรวมข้อมูลด้านการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล ได้แก่ ข้อมูลพื้นฐานทั่วไป

ผลผลิต ต้นทุน และผลตอบแทนจากกิจกรรมการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินขนาด 1 ไร่ ของสถานีวิจัยประมงคลองวาฬ ตำบลคลองวาฬ อำเภอเมืองประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในช่วงเดือนเมษายน 2557 - พฤษภาคม 2559 รูปแบบการเลี้ยงละ 8 บ่อ (n = 8)

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์เชิงพรรณนา (descriptive method) ซึ่งจะใช้อธิบายถึงสภาพทั่วไปของการเลี้ยงกุ้งขาวทั้ง 2 รูปแบบ ตลอดจนปัญหา และอุปสรรคในการเลี้ยง

2. การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative method) ซึ่งแบ่งออกเป็น

2.1) การวิเคราะห์การตัดสินใจลงทุนโครงการ ตามวิธีการวิเคราะห์ต้นทุน และผลประโยชน์ (cost-benefit analysis, CBA) โดยมีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (net present value, NPV) อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (benefit cost ratio, BCR) และอัตราผลตอบแทนภายในโครงการ (internal rate of return, IRR) เป็นตัววัดความสำเร็จของโครงการ (ชูชีพ, 2544) ดังนี้

มูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) คือ ผลตอบแทนสุทธิของการลงทุนเลี้ยงกุ้งขาวที่ปรับค่าตลอดอายุโครงการ โดยมีหลักเกณฑ์การตัดสินใจโครงการว่าถ้า NPV มีค่ามากกว่าศูนย์ หรือมีค่าเป็นบวก แสดงว่าการเลี้ยงกุ้งขาวนี้มีความเหมาะสมที่จะลงทุนได้ แต่ถ้า NPV มีค่าน้อยกว่าศูนย์ หรือมีค่าติดลบ แสดงว่าโครงการนี้ไม่เหมาะสมที่จะลงทุน ซึ่งคำนวณ NPV ได้จาก

$$NPV = \sum_{t=1}^n \frac{(B_t - C_t)}{(1 + r)^t}$$

อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) คือ มูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์ (present value benefit, PVB) หาวด้วยมูลค่าปัจจุบันของต้นทุนรวม (present value of costs, PVC) โดยมีหลักเกณฑ์การตัดสินใจที่แสดงว่าโครงการมีความเหมาะสม และคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ คือ BCR เท่ากับหนึ่ง หรือมีค่ามากกว่าหนึ่ง ซึ่งคำนวณ BCR ได้จาก

$$BCR = \frac{PVB}{PVC}$$

หรือ

$$BCR = \frac{\sum_{t=1}^n B_t (1+r)^{-t}}{\sum_{t=1}^n C_t (1+r)^{-t}}$$

อัตราผลตอบแทนภายในโครงการ (IRR) คือ อัตราคิดลด r (discount rate) ที่ทำให้ค่า NPV ของโครงการเท่ากับศูนย์ โดยมีหลักเกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินใจ คือ ทำการเปรียบเทียบค่า IRR ที่คำนวณได้ กับค่าของอัตราคิดลด หรือค่าเสียโอกาสเงินลงทุนที่เป็นเกณฑ์หรือมาตรฐาน ซึ่งกำหนดไว้ก่อนแล้ว ถ้าค่า IRR ที่คำนวณได้ สูงกว่าอัตราคิดลดที่กำหนดแสดงว่า การลงทุนของกิจการให้ผลคุ้มค่า แต่ถ้าต่ำกว่าแสดงว่า การลงทุนของกิจการให้ผลไม่คุ้มค่า ซึ่งสามารถคำนวณได้ ดังนี้

$$\sum_{t=1}^n \frac{(B_t - C_t)}{(1+r)^t} = 0$$

2.2) การวิเคราะห์ความอ่อนไหวของโครงการ (sensitivity analysis) เป็นการพิจารณาผลกระทบจากความเสี่ยง และความไม่แน่นอนในอนาคต เพื่อประกอบการตัดสินใจ โดยใช้ผลการวิเคราะห์ต้นทุนและผลประโยชน์ (cost-benefit analysis, CBA) มาประยุกต์ใช้ภายใต้ข้อสมมุติที่แตกต่างกันออกไปดังนี้ 1) กรณีที่ต้นทุนเพิ่มขึ้น 20% (และผลประโยชน์คงที่) 2) กรณีที่ผลประโยชน์ลดลง 20% และต้นทุนคงที่ และ 3) กรณีที่ต้นทุนเพิ่มขึ้น 20% และผลประโยชน์ลดลง 20% ทั้งนี้ การสมมุติในส่วนของต้นทุน หมายถึง ต้นทุนค่าพันธุ์กุ้ง และค่าอาหารกุ้งที่เพิ่มขึ้น หรือคงที่โดยปัจจัยอื่น ๆ และการสมมุติในส่วนของผลประโยชน์ หมายถึง ขนาดกุ้งที่ขาย และราคาขายกุ้งที่คงที่ หรือลดลงโดยปัจจัยอื่น ๆ นอกจากนี้ทำการทดสอบเพื่อหาว่า ณ ระดับต้นทุนเพิ่มมากกว่า หรือผลตอบแทนลดลงมากกว่าเท่าไรผู้ลงทุนจึงสามารถลงทุนได้ โดยใช้วิธีการทดสอบค่าความแปรเปลี่ยน (switching value test, SVT) ดังนี้

1) การทดสอบค่าความแปรเปลี่ยนด้านต้นทุน (SVT_C) หมายความว่า ร้อยละของต้นทุนโครงการที่สามารถเพิ่มขึ้นได้ก่อนที่จะทำให้มูลค่าปัจจุบันสุทธิมีค่าเป็นศูนย์ ซึ่งคำนวณได้จาก

$$SVT_C = \frac{NPV}{PVC} \times 100$$

2) การทดสอบค่าความแปรเปลี่ยนด้านผลประโยชน์ (SVT_B) หมายความว่า ร้อยละของผลประโยชน์โครงการที่สามารถลดลงได้ก่อนที่จะทำให้มูลค่าปัจจุบันสุทธิมีค่าเป็นศูนย์ ซึ่งคำนวณได้จาก

$$SVT_B = \frac{NPV}{PVB} \times 100$$

การคำนวณหา NPV, BCR, IRR และ SVT จะกำหนดให้ B_t เท่ากับผลประโยชน์ของโครงการในปีที่ t , C_t เท่ากับต้นทุนของโครงการในปีที่ t , r เท่ากับอัตราคิดลด หรืออัตราดอกเบี้ยเงินกู้โดยพิจารณา ณ ระดับอัตราคิดลดร้อยละ 7.50 ต่อปี ซึ่งจะใช้อัตราคิดลดเพียง 1 ปี และ t เท่ากับระยะเวลาของโครงการ (1 ปี) โดยการวิเคราะห์ต้นทุนในการวิจัยครั้งนี้เป็นต้นทุนบางส่วน (partial budget) เท่านั้น

2.3) การวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและหาความแตกต่างของข้อมูล (ผลผลิต ต้นทุน และผลตอบแทน) ระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 และ 2 ด้วยวิธี independent-sample t-tests ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิเคราะห์และประมวลผลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics (Version 21.0; IBM Corp., Armonk, NY, USA)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สภาพทั่วไปของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล

การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดลจะมีการวางแผนการดำเนินการในด้านต่าง ๆ โดยอิงกับองค์ความรู้ที่มีอยู่ เช่น หลักการเตรียมบ่อ การเตรียมน้ำและอาหารธรรมชาติ การเตรียมลูกพันธุ์หรือการเลือกลูกกุ้งที่

ดีมีคุณภาพ รวมไปถึงการบริหารจัดการฟาร์มตามหลักเศรษฐกิจพอเพียงโดยปล่อยกุ้งในอัตราความหนาแน่นที่เหมาะสม มีการควบคุมปริมาณอาหารที่ให้ ไม่มีการใช้ยา และสารเคมีระหว่างเลี้ยง และระหว่างการเลี้ยงควรมีการตรวจสอบสุขภาพกุ้งเป็นระยะ โดยมีรูปแบบการดำเนินการดังนี้ ปล่อยลูกกุ้งขาวระยะโพสลาร์วา 12-15 (P 12-15) ที่อัตราความหนาแน่น 100,000 ตัว/ไร่ ที่ช่วงการเลี้ยง 1-5 วันแรก จะไม่มีการให้อาหาร เนื่องจากจะใช้อาหารธรรมชาติที่เกิดขึ้นในบ่อ ช่วงการเลี้ยง 6-10 วัน ให้อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งทะเล เบอร์ 2 วันละ 1 มื้อ (เวลาประมาณ 7.00 น.) ที่ปริมาณ 1 กิโลกรัม/วัน ช่วงการเลี้ยง 11-20 วัน ให้อาหารเบอร์ 2 วันละ 2 มื้อ (เวลาประมาณ 7.00 และ 17.00 น.) มื้อละ 2 กิโลกรัม ช่วงการเลี้ยง 21-30 วัน ให้อาหารเบอร์ 2 วันละ 3 มื้อ (เวลาประมาณ 7.00, 12.00 และ 17.00 น.) มื้อละ 3 กิโลกรัม ช่วงการเลี้ยง 31-60 วัน ให้อาหารเบอร์ 3 วันละ 3 มื้อ ที่อัตราประมาณ 5%/น้ำหนักตัว/วัน และช่วงการเลี้ยง 61-100 วัน ให้อาหารเบอร์ 4S วันละ 3 มื้อ ที่อัตราประมาณ 3%/น้ำหนักตัว/วัน นอกจากนี้ มีโปรแกรมการจัดการคุณภาพน้ำระหว่างเลี้ยงดังนี้ ที่ช่วงการเลี้ยง 30 วันแรก ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ช่วงการเลี้ยง 31-60 วัน มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ที่ปริมาตรน้ำประมาณ 20% ช่วงการเลี้ยง 61-100 วัน มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ๆ ละ 20% (ตารางที่ 1)

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้แบ่งรูปแบบการเลี้ยงออกเป็น 2 รูปแบบ คือ คลองวาฬโมเดล 1 (เลี้ยงกุ้งนาน 100 วัน) และคลองวาฬโมเดล 2 (เลี้ยงกุ้งนาน 90 วัน) ผลการศึกษาพบว่า ผลผลิตของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 และ 2 อยู่ในช่วง 627.6-1,164.3 กิโลกรัม/ไร่ (เฉลี่ย 867.9 ± 156.8 กิโลกรัม/ไร่) และ $530.6-975.9$ กิโลกรัม/ไร่ (เฉลี่ย 705.3 ± 143.8 กิโลกรัม/ไร่) ตามลำดับ กุ้งขาวที่ได้มีน้ำหนักตัวอยู่ในช่วง 8.5-15.7 กรัม/ตัว (เฉลี่ย 12.2 ± 2.3 กรัม/ตัว) และ $9.0-13.7$ กรัม/ตัว (เฉลี่ย 10.5 ± 1.7 กรัม/ตัว) ตามลำดับ มีอัตราการรอดอยู่ในช่วง 51.3-91.3% (เฉลี่ย $71.7 \pm 12.0\%$) และ 42.8-83.0% (เฉลี่ย $67.6 \pm 13.8\%$) ตามลำดับ มีอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) อยู่ในช่วง 1.05-2.32 (เฉลี่ย 1.59 ± 0.36) และ 1.04-2.01 (เฉลี่ย 1.52 ± 0.30) ตามลำดับ และมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) อยู่ในช่วง 0.09-0.16 กรัม/วัน (เฉลี่ย 0.12 ± 0.02 กรัม/วัน) และ $0.10-0.15$ กรัม/วัน (เฉลี่ย 0.11 ± 0.01 กรัม/วัน) โดยผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักตัวกุ้ง อัตราการรอดตาย อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่จะแตกต่างกันที่ปริมาณอาหารที่ให้ทั้งหมด ($P<0.05$) คือ การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 ที่ระยะเวลาเลี้ยง 100 วัน ใช้อาหารไปทั้งหมด 1,223.6-1,456.0 กิโลกรัม/ไร่ (เฉลี่ย $1,337.6 \pm$

Table 1. Klongwan model for Pacific white shrimp culture in earthen pond, at a density of 100,000 shrimps/rai

Rearing period (days)	Feeding program	Water exchange program
1-5	not fed, used natural food in pond	not change
6-10	fed with shrimp feed No.2 at 1 kg per day, 1 time (7.00 am)	
11-20	fed with shrimp feed No.2 at 2 kg per day, 2 times (7.00 am and 5.00 pm)	
21-30	fed with shrimp feed No.2 at 3 kg per day, 3 times (7.00 am, 12.00 pm and 5.00 pm)	
31-60	fed with shrimp feed No.3 at 5% of body weight per day (3 times)	20% of the water volume was changed once a week
61-100	fed with shrimp feed No.4S at 3% of body weight per day (3 times)	20% of the water volume was changed twice a week

81.0 กิโลกรัม/ไร่) ส่วนการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 ที่ระยะเวลาเลี้ยง 90 วัน ใช้อาหารไปทั้งหมด 949.6-1,123.6 กิโลกรัม/ไร่ (เฉลี่ย $1,036.2 \pm 60.7$ กิโลกรัม/ไร่) ซึ่งเป็นผลให้ต้นทุนการเลี้ยงกุ้งขาว (เฉพาะต้นทุนด้านลูกพันธุ์ และอาหาร) ตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 สูงกว่าการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 ($P < 0.05$) คือ มีต้นทุนเท่ากับ 57,391-67,152 บาท/ไร่ (เฉลี่ย $62,181 \pm 3,402$ บาท/ไร่) และ 45,883-53,191 บาท/ไร่ (เฉลี่ย $49,521 \pm 2,550$ บาท/ไร่) ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าต้นทุนการผลิตของการเลี้ยงกุ้งขาวทั้ง 2 รูปแบบจะแตกต่างกัน แต่ผลตอบแทนหรือ กำไรสุทธิที่ได้รับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) คือ การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1

มีกำไรสุทธิเท่ากับ 1,884-128,897 บาท/ไร่ (เฉลี่ย $50,795 \pm 44,508$ บาท/ไร่) และการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 มีกำไรสุทธิเท่ากับ 8,574- 92,993 บาท/ไร่ (เฉลี่ย $33,412 \pm 25,841$ บาท/ไร่) (ตารางที่ 2) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า ผลตอบแทน หรือกำไรสุทธิที่ได้รับจากการเลี้ยงกุ้งขาวมีปัจจัยผันแปรที่สำคัญ คือ ขนาดกุ้ง และราคาขาย ณ ช่วงเวลานั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งราคาขายกุ้งในช่วงการศึกษาค้างนี้ (เมษายน 2557-พฤษภาคม 2559) ถือว่าเป็นช่วงที่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาวกำลังประสบกับปัญหาราคากุ้งตกต่ำ และไม่แน่นอน ตัวอย่างเช่น การผลิตกุ้งขาวที่ 80 ตัว/กิโลกรัม ในช่วงปี 2557 ราคาขายหน้าฟาร์มอยู่ที่กิโลกรัมละ 130-150 บาท ช่วงปี พ.ศ. 2558-2559 ราคาขายหน้าฟาร์มอยู่ที่กิโลกรัมละ 100-120 บาท เป็นต้น โดยทั่วไปแล้วต้นทุนในการผลิตกุ้งขาวของ

Table 2. General information, production, cost and benefit of Pacific white shrimp culture in ponds under Klongwan models, crop year 2014-2016

Items	Shrimp culture		P-value
	Klongwan model 1	Klongwan model 2	
General information			
Culture area (rai)	1	1	-
Density of shrimp (shrimps/m ²)	62.5	62.5	-
Shrimp larva cost (THB/shrimp)	0.06	0.06	-
Seed cost (THB/Rai)	6,000	6,000	-
Shrimp feed cost (THB/kg)	42	42	-
Culture period (days)	100	90	-
Production			
Yield (kg/rai)	627.6-1,164.3 (867.9 ± 156.8)	530.6-975.9 (705.3 ± 143.8)	0.051
Body weight (g)	8.5-15.7 (12.2 ± 2.3)	9.0-13.7 (10.5 ± 1.7)	0.123
Survival rate (%)	51.3-91.3 (71.7 ± 12.0)	42.8-83.0 (67.6 ± 13.80)	0.529
Total feeding (kg)	1,223.6-1,456.0 (1,337.6 ± 81.0)	949.6-1,123.6 (1,036.2 ± 60.7)	0.000*
FCR	1.05-2.32 (1.59 ± 0.36)	1.04-2.01 (1.52 ± 0.30)	0.667
ADG (g/day)	0.09-0.16 (0.12 ± 0.02)	0.10-0.15 (0.11 ± 0.01)	0.572
Cost (partial budget; seed and feed cost)			
Total cost (THB/rai)	57,391-67,152 (62,181 ± 3,402)	45,883-53,191 (49,521 ± 2,550)	0.000*
Benefit			
Sale price (THB/kg)	90-163 (127.2 ± 29.8)	100-152 (117.1 ± 20.4)	0.442
Total revenue (THB/rai)	70,335-186,288 (111,976 ± 42,208)	67,150-141,506 (82,934 ± 25,493)	0.107
Net cash return (THB/rai)	1,884-128,897 (50,795 ± 44,508)	8,574-92,993 (33,412 ± 25,841)	0.356

Note: 1 rai = 1,600 m², an asterisk in the column of P-value denotes significantly different ($P < 0.05$), n = 8

เกษตรกรรายย่อยจะอยู่ที่กิโลกรัมละ 90-95 บาท ซึ่งจะเห็นได้ว่า หลังจากจำหน่ายผลผลิตแล้ว เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาวจะได้รับผลตอบแทนที่น้อยมาก คือ ประมาณ กิโลกรัมละ 10-30 บาท (ข้อมูลจากการสำรวจฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวในพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และจังหวัดฉะเชิงเทราในช่วงปี พ.ศ. 2557-2559) นอกจากนี้ ในช่วงเวลาดังกล่าวการเลี้ยงกุ้งขาวในหลายพื้นที่เกิดปัญหาด้านโรคระบาด โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคและอาการผิดปกติที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* ซึ่งทำให้เกิดปัญหาโรคกุ้งตายด่วนหรือโรค EMS (early mortality syndrome) และโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เช่น โรคตัวแดงดวงขาว หรือ white spot syndrome virus (WSSV) เป็นต้น ซึ่งปัญหาด้านโรคเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่ส่งผลถึงผลผลิต จนทำให้เกษตรกรขาดทุน และเลิกเลี้ยงกุ้งขาวไปหลายราย และส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการผลิตกุ้งของประเทศไทย (จิราพร และคณะ, 2558; จุฑามาศ และคณะ, 2558; ญัฐินี, 2556)

การศึกษาคครั้งนี้ โมเดลทั้ง 2 แตกต่างกันในระยะเวลาการเลี้ยงเท่านั้น ทั้งนี้ เพื่อการตอบโจทย์ในเรื่องของการบริหารจัดการระหว่างการผลิต โดยเฉพาะกับเกษตรกรรายย่อยที่มีอยู่ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70 นิยมเลี้ยงกุ้งโดยใช้ประสบการณ์ และระยะเวลาส่วนมากอยู่ 80-90 วัน ซึ่งมีความเสี่ยงสูงด้านผลตอบแทนที่ได้รับ (ข้อมูลจากการสำรวจฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวในพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และจังหวัดฉะเชิงเทราในช่วงปี พ.ศ. 2557-2559) เช่นเดียวกับผลการศึกษาที่ได้จากงานวิจัยนี้ โดยทั่วไปแล้วเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาวส่วนใหญ่จะใช้บ่อดินขนาด 1-5 ไร่ ปล่อกุ้งที่อัตราความหนาแน่น 100,000 ตัว/ไร่ โดยมีผลผลิตเฉลี่ย 533.3 กิโลกรัม/ไร่ (จุฑามาศ และคณะ, 2558; วรธนา, 2554; สุวิมล, 2554; Leepaisomboon et al., 2011) ซึ่งผลผลิตที่ได้ใกล้เคียงกับการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดลที่ได้จากการศึกษาคครั้งนี้ นอกจากนี้ ถึงแม้ว่าปัจจุบันรูปแบบการเลี้ยงกุ้งขาวได้มีการพัฒนาไปหลากหลายรูปแบบ ตัวอย่างเช่น การใส่จุลินทรีย์ระหว่างการผลิตกุ้งขาว (วัฒนา และคณะ, 2554) การเลี้ยงกุ้งขาวร่วมกับสัตว์น้ำชนิดอื่น (แก้วตา และคณะ, 2557) การเลี้ยงกุ้งขาวในระบบน้ำใส (ญัฐิดา และคณะ, 2560) เป็นต้น แต่การจัดการการเลี้ยงกุ้งขาว

ต้องอาศัยการสังเกต ติดตาม และเอาใจใส่ในการดูแลระหว่างการเลี้ยง ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเลี้ยงได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การนำองค์ความรู้ปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียงมาใช้ในการบริหารจัดการฟาร์ม จะสามารถช่วยให้เกษตรกรประสบความสำเร็จในการเลี้ยงกุ้งได้ เช่น เลี้ยงกุ้ง 2-3 รุ่น/บ่อ/ปี ลดความหนาแน่นของกุ้งที่เลี้ยงภายในบ่อก่อนเข้าสู่ฤดูกาลที่สภาพอากาศแปรปรวน หรือช่วงปลายฝนต้นหนาว เป็นต้น (ชลอ และนิติ, 2560)

การวิเคราะห์โครงการลงทุนทางการเงิน

การลงทุนเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดลจะสามารถเลี้ยงกุ้งขาวได้ 3 รุ่น/ปี โดยการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 และ 2 จะมีต้นทุน (ค่าลูกพันธุ์ และค่าอาหาร) เฉลี่ยเท่ากับ 186,543 และ 148,563 บาท/ปี ผลตอบแทนเฉลี่ยเท่ากับ 335,928 และ 248,802 บาท/ปี และกำไรสุทธิเฉลี่ยเท่ากับ 152,385 และ 100,239 บาท/ปี ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ผลตอบแทนทางการเงินของการเลี้ยงกุ้งขาวทั้ง 2 รูปแบบด้วยวิธีการหามูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) และอัตราผลตอบแทนภายในโครงการ (IRR) โดยพิจารณา ณ ระดับอัตราคิดลดร้อยละ 7.50 ต่อปี พบว่า การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 และ 2 มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ เท่ากับ 839,086.2 และ 539,645.6 บาท อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนเท่ากับ 1.6 และ 1.5 และอัตราผลตอบแทนภายในโครงการเท่ากับ ร้อยละ 79.8 และ 67.1 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการลงทุนเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 และ 2 มีความเหมาะสมในการลงทุน (ตารางที่ 3)

สำหรับการวิเคราะห์ความอ่อนไหวทางการเงิน หรือความเสี่ยง (sensitivity analysis) ของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดลในกรณีที่ 1 (ต้นทุนเพิ่มขึ้น 20% และผลประโยชน์คงที่) กรณีที่ 2 (ผลประโยชน์ลดลง 20% และต้นทุนคงที่) และกรณีที่ 3 (ต้นทุนเพิ่มขึ้น 20% และผลประโยชน์ลดลง 20%) พบว่า การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 ยังคงได้รับผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุนเมื่อผลิตในกรณีที่ 1, 2 และ 3 เนื่องจากมีความแปรเปลี่ยนด้านต้นทุน (SVT_C) เท่ากับร้อยละ 30.9,

Table 3. Cost-benefit analysis of white shrimp culture in earthen ponds under Klongwan models

Items	Shrimp culture	
	Klongwan model 1	Klongwan model 2
Average cost per year (THB)	186,543	143,563
Average revenue per year (THB)	335,928	248,802
Average net cash return per year (THB)	149,385	100,239
Net present value (NPV)	839,086.2	539,645.6
Benefit cost ratio (BCR)	1.6	1.5
Internal rate of return (IRR)	79.8%	67.1%
Sensitivity analysis (switching value test, SVT)		
1) 20% increased in cost		
SVT _C	30.9	21.8
SVT _B	23.6	17.9
2) 20% decreased in benefit		
SVT _C	25.7	16.9
SVT _B	20.4	14.5
3) Both 20% increased in cost and 20% decreased in benefit		
SVT _C	4.8	-2.5
SVT _B	4.5	-2.6

Note: Both shrimp production at 3 crops per year

25.7 และ 4.8 และค่าความแปรเปลี่ยนด้านผลประโยชน์ (SVT_B) เท่ากับร้อยละ 23.6, 20.4 และ 4.5 ตามลำดับ ซึ่งหมายความว่า ต้นทุนทางการเงินของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 (ต้นทุนรวม ได้แก่ ค่าพันธุ์กุ้ง ค่าอาหารกุ้ง และค่าใช้จ่ายอื่น ๆ) สามารถเพิ่มขึ้นได้อีกลงทุน (ขนาดกุ้ง และราคาขายกุ้ง) สามารถลดลงได้ถึงร้อยละ 23.6, 20.4 และ 4.5 ของการผลิตในกรณี 1, 2 และ 3 ตามลำดับ ส่วนการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 พบว่า ได้รับผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุนเมื่อผลิตในกรณีที่ 1 และ 2 เท่านั้น โดยมีค่าความแปรเปลี่ยนด้านต้นทุนเท่ากับร้อยละ 21.8 และ 16.9 และค่าความแปรเปลี่ยนด้านผลประโยชน์เท่ากับร้อยละ 17.9 และ 14.5 ตามลำดับ ซึ่งหมายความว่า ต้นทุนทางการเงินของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 สามารถเพิ่มขึ้นได้อีกร้อยละ 21.8 และ 16.9 และผลประโยชน์ของการลงทุนสามารถลดลงได้ถึงร้อยละ 17.9 และ 14.5 ของการผลิตในกรณี 1 และ 2 ตามลำดับ

แต่สำหรับการผลิตในกรณีที่ 3 พบว่า จะมีความเสี่ยงสูง เพราะผลตอบแทนที่ได้รับไม่คุ้มค่ากับการลงทุน เนื่องจากมีค่าความแปรเปลี่ยนด้านต้นทุน และค่าความแปรเปลี่ยนด้านผลประโยชน์ติดลบ คือ -2.5 และ -2.6 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ปัจจุบันแนวคิดการทำเกษตรตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียงได้มีการถูกนำมาประยุกต์ใช้กับการเลี้ยงกุ้งขาวเพื่อให้มีความมั่นคงและยั่งยืนมากขึ้น แนวทางดังกล่าวมีหลายรูปแบบ เช่น การเลี้ยงกุ้งขาว ร่วมกับการเลี้ยงปลานิล การเลี้ยงกุ้งด้วยน้ำความเค็มต่ำ และการเลี้ยงกุ้งร่วมกับสาหร่าย เป็นต้น (ชลอ และนิติ, 2560; สุวิมล, 2554) ซึ่งรูปแบบการเลี้ยงกุ้งขาวตามคลองวาฬโมเดลก็เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ประยุกต์มาจากการทำเกษตรแบบเศรษฐกิจพอเพียง โดยเฉพาะด้านการการใช้พื้นที่ไม่มาก (1 ไร่) และลงทุนไม่มาก (เฉลี่ย 49,521-62,181 บาท/ไร่) โดยผลตอบแทนที่ได้รับอยู่ระดับกลาง คือ เฉลี่ย 33,412-50,795 บาท/ไร่ นอกจากนี้ ผลการ

วิเคราะห์ทางการเงินของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดลแสดงให้เห็นว่า สามารถดำเนินการเลี้ยงได้ทั้ง 2 รูปแบบ แต่การเลี้ยงตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 จะมีความเหมาะสมต่อการลงทุนมากกว่าการเลี้ยงตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 ทั้งนี้เนื่องจากว่า รูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน และอัตราผลตอบแทนภายในโครงการดีกว่ารูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 นอกจากนี้ รูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 มีความอ่อนไหวของโครงการ หรือมีความเสี่ยงน้อยกว่ารูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 ในกรณีที่ต้นทุนเพิ่มขึ้น 20% และผลประโยชน์คงที่ กรณีที่ผลประโยชน์ลดลง 20% และต้นทุนคงที่ และกรณีที่ต้นทุนเพิ่มขึ้น 20% และผลประโยชน์ลดลง 20%

สรุป

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ผลผลิตของการเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล คือ รูปแบบการเลี้ยงที่อิงองค์ความรู้ทางวิชาการ มีโปรแกรมการให้อาหารของแต่ละช่วงเวลาก่อนเลี้ยง ไม่มีการใช้ยาและสารเคมี ใช้ต้นทุนการเลี้ยงไม่สูงมากนัก เป็นรูปแบบที่เหมาะสมต่อเกษตรกรรายย่อย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 ที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ จะมีความเหมาะสมต่อการลงทุนมากกว่ารูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 ถึงแม้ว่ารูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 จะใช้ระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งน้อยกว่ารูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 ก็ตาม ทั้งนี้เพราะว่า รูปแบบคลองวาฬโมเดล 2 ยังคงมีความเสี่ยงในด้านผลตอบแทนอยู่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงด้านต้นทุน และผลประโยชน์ ซึ่งคล้ายคลึงกับรูปแบบการเลี้ยงกุ้งขาวของเกษตรกรรายย่อย ณ ปัจจุบันนี้ ดังนั้น การเลี้ยงกุ้งขาวตามรูปแบบคลองวาฬโมเดล 1 จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดิน โดยเฉพาะกับเกษตรกรรายย่อยที่กำลังประสบกับปัญหาการเลี้ยงกุ้ง ทั้งนี้ เพื่อลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นกับเกษตรกร และเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาวต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณอำนาจ จันทะเขียว ผู้ประกอบการอนุบาลกุ้งขาว (ภาณุมาศฟาร์ม) ตำบลกุยบุรี อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่ช่วยเหลือในการติดต่อประสานงานในการสัมภาษณ์กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาวในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และขอขอบคุณ คุณวรรณณา ธรรมสอน ผู้ประกอบการอนุบาลกุ้งขาว (55 ฟาร์ม) ตำบลบางหัก อำเภอพานทอง จังหวัดชลบุรี ที่ช่วยเหลือในการติดต่อประสานงานในการสัมภาษณ์กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาวในจังหวัดฉะเชิงเทรา

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2559. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2557. เอกสารฉบับที่ 11/2559. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมประมง, กรุงเทพฯ.
- แก้วตา ลีเมียง จันทะจิรา อาภาพันธ์ และ อาภรณ์ อรุณรัตน์. 2557. การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายของการเลี้ยงปลานิลร่วมกับกุ้งขาวแวนนาไมในความหนาแน่นที่ต่างกันในน้ำความเค็มต่ำ. แก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ 1): 804-809.
- จิราพร เกสรจันทร์ สมพิศ แยมเกษม วิศณุ บุญญาวิวัฒน์ และ ธิดาพร จิวักดิ์. 2558. ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของโรคตายด่วน (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease) ในกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) ในจังหวัดระยองและจันทบุรี. วารสารการประมง 68(5): 466-473.
- จุฑามาศ ทะแกลัวพันธุ์ เสนาะ กลิ่นงาม วราห์ เทพาหุดี และ สมสุข เข้มคำ. 2558. การจัดการความรู้ในการผลิตกุ้งขาวแวนนาไม กรณีศึกษา จังหวัดเพชรบุรี. การเกษตรราชภัฏ 14(1): 22-30.
- ชลอ ลีมสุวรรณ และ นิติ ชูเชิด. 2560. แนวทางการเลี้ยงกุ้งโดยใช้หลักปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www2.rdi.>

- ku.ac.th/kasetresearch52/01-celebrate/chalor/celebrate_00.html (11 กรกฎาคม 2560).
- ชลอ ลิ้มสุวรรณ และ พรเลิศ จันทร์ราชกุล. 2547. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย. บริษัทเมจิค แพปบลิคเคชัน จำกัด, กรุงเทพฯ. 206 หน้า.
- ชูชีพ พิพัฒน์ศิริ. 2544. เศรษฐศาสตร์การวิเคราะห์โครงการ. โรงพิมพ์สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ณัฐินี มั่นคงวงศ์ศิริ. 2556. การศึกษาสาเหตุการเกิดโรค Early Mortality Syndrome ในกุ้งขาวแวนนาไม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 89 หน้า.
- ณัฐธิดา บุญเพ็ง นิติ ชูเชิด และ วราห์ เทพาหุดี. 2560. การเปรียบเทียบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ระบบน้ำใสเพื่อให้ได้ผลตอบแทนสูงสุดที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน. หน้า 678-685. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 55 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เล่มที่ 1 สาขาพืช สาขาสัตว สาขาสัตว แพทยศาสตร์ สาขาประมง และสาขาส่งเสริม การ เกษตร และ ค ห ก ร ร ม ศ า ส ต ร . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ประจวบ หล้าอุบล. 2543. อดีต-อนาคตกุ้งไทย. หน้า 1-66. ใน: เสวนาวิชาการเรื่อง “กุ้ง”. ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เมธาวิ รอตมงคลดี วัฒนะ ลีลาภัทร และ นันทพร สุทธิ. 2560 ผลของวัสดุหลบซ่อนต่ออัตราการรอดตายของกุ้งก้ามกราม. วารสารเกษตร 33(2): 257-265.
- วรรณภา กรุยทอง. 2554. การศึกษาประสิทธิภาพของการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม. สารนิพนธ์เศรษฐศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ. 92 หน้า.
- วัฒนา วัฒนกุล อุไรวรรณ วัฒนกุล และ สุชาติ แดงหนองหิน. 2554. เปรียบเทียบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่แตกต่างกัน 2 วิธี. หน้า 703-706. ใน: รายงานการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2554. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- สุทธสินี สนิธิรัตน. 2561. สถานการณ์สินค้ากุ้งทะเลและผลิตภัณฑ์ ปี 2560 และแนวโน้มปี 2561. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <https://www.fisheries.go.th/strategy/index.php?name=news&file=readnews&id=413> (26 มิถุนายน 2561).
- สุวิมล ทองพลี. 2554. การวิเคราะห์เปรียบเทียบต้นทุนและผลตอบแทนของการลงทุนเลี้ยงกุ้งขาวระหว่างวิธีการเลี้ยงแบบเดียวกับวิธีการเลี้ยงแบบผสมผสาน. การค้นคว้าอิสระบริหารธุรกิจมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, ปทุมธานี. 64 หน้า.
- Baloi, M., R. Arantes, R. Schweitzer, C. Magnotti and L. Vinatea. 2013. Performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in biofloc systems with varying levels of light exposure. Aquacultural Engineering 52: 39-44.
- Leepaisomboon, T., R. Mungkung, N. Chuchird and C. Limsuwan. 2011. An analysis of Thai shrimp farms' compliance to the GLOBALG.A.P. standard. Kasetsart University Fisheries Research Bulletin 35(1): 1-13.
- Lin, C.K. 2000. Development of shrimp farming and environmental sustainability in Thailand. Aquaculture Science 48(2): 267-272.
- Yuan, D., Y. Yi. A. Yakupitiyage, K. Fitzsimmons and J.S. Diana. 2010. Effects of addition of red tilapia (*Oreochromis* spp.) at different densities and sizes on production, water quality and nutrient recovery of intensive culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in cement tanks. Aquaculture 298(3/4): 226-238.

Zarain-Herzberg, M., I. Fraga and A. Hernandez-Llamas. 2010. Advances in intensifying the cultivation of the shrimp *Litopenaeus vannamei* in floating cages. *Aquaculture* 300: 87-92.

สมบัติของฟลาวัวร์และสตาร์ชจากเนื้อกล้วยไข่ดิบและการใช้ประโยชน์ ในขนมทองม้วน

Properties of Flour and Starch from Unripe Banana 'Kluai Khai' Flesh and Their Application in Tong Muan

ภาสกริ ฤทธิเลิศ* และ นัฐพัช โคตรแปร

Pasuree Rittilert* and Nattapat Khotpae

สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
จ. ปทุมธานี 13180

Program of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University Under the
Royal Patronage, Pathum Thani 13180, Thailand

*Corresponding author: Email: ps.rittilert@gmail.com

(Received: 20 October 2017; Accepted: 27 April 2018)

Abstract: This study aims at investigating the chemical and physical properties of flour and starch from unripe banana cultivar, *Musa* AA group 'Kluai Khai' (45 days after stabbing banana blossom) and sensory attributes of flour and starch based Tong Muan products. Flour and starch from unripe bananas had a dry basis yield of 51.42% and 19.10% and amylose content of 31.45% and 38.98%, respectively. The chemical compositions of unripe banana flour (UBF) (moisture, protein, lipid, ash and crude fiber contents) were higher than that of unripe banana starch (UBS). The swelling power and the solubility of UBF and UBS increased by increasing temperature. At temperatures above 75°C, the swelling power and the solubility of UBF were 11.38 g/g and 4.70% respectively, which were lower than that of UBS were 13.32 g/g and 5.45% respectively. The peak and final viscosity of UBF (317 and 368 RVU, respectively) was lower than that of UBS (362 and 523 RVU, respectively) and also the setback values of UBS (203 RVU) was higher than that of UBF (102 RVU). To utilise the UBF and UBS, the Tong Muan flour mixtures were prepared by mixing rice flour and cassava starch at a weight ratio of 50:50 (control), and the flour mixtures was substituted with the flour mixtures of UBF and UBS at weight ratios of 50:50, 100:0 and 0:100. The result of sensory evaluation indicated that the Tong Muan products made from the mixture of UBF and UBS at the ration of 0:100 had the highest acceptability with a score of 8.05 (9-point hedonic scale). The results showed that the colour values of Tong Muan products were lightness (L^*) = 56.95, redness (a^*) = 10.41 and yellowness (b^*) = 19.94, respectively. The hardness values of Tong Muan products made from the mixture flour between UBF and UBS had the highest hardness values (316.32 g force). In addition, Tong Muan product of this recipe yielded higher crude fiber content (3.23 % dry basis), but lower protein (0.34 % dry basis) and fat content (2.45 % dry basis) than that of the control ($P < 0.05$). Therefore, it can be concluded that the unripe banana flour and starch can be used as the ingredients in flour mixtures of Tong Muan products.

Keywords: Kluai Khai, unripe banana flour, unripe banana starch, Tong Muan

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของฟลาวอร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ *Musa AA group 'Kluai Khai'* (อายุ 45 วัน หลังแทงปลีกล้วย) และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ทอ้งม้วนจากฟลาวอร์และสตาร์ชกล้วยไข่ดิบ ฟลาวอร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบที่ได้มีปริมาณผลผลิตร้อยละ 51.42 และ 19.10 และมีปริมาณอะมิโลสร้อยละ 31.45 และ 38.98 ตามลำดับ ฟลาวอร์จากกล้วยไข่ดิบมีองค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเยื่อใยมากกว่าสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ ฟลาวอร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีค่ากำลังการพองตัวและค่าการละลายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ที่อุณหภูมิสูงกว่า 75 °C ฟลาวอร์มีค่ากำลังการพองตัวและการละลายเท่ากับ 11.38 กรัม/กรัม และร้อยละ 4.70 ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าสตาร์ชเท่ากับ 13.32 กรัม/กรัม และร้อยละ 5.45 ตามลำดับ ค่าความหนืดสูงสุดและค่าความหนืดสุดท้ายของฟลาวอร์ (317 และ 368 RVU, ตามลำดับ) มีค่าต่ำกว่าสตาร์ช (362 และ 523 RVU, ตามลำดับ) และค่าการคืนตัวของสตาร์ช (203 RVU) มีค่าสูงกว่าฟลาวอร์ (102 RVU) เมื่อนำฟลาวอร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมาทำให้เตรียมขนมทอ้งม้วนโดยการผสมแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังที่อัตราส่วนเท่ากับ 50:50 (สูตรควบคุม) และสูตรที่ทดแทนแป้งผสมด้วยฟลาวอร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบที่อัตราส่วนเท่ากับ 50:50, 100:0 และ 0:100 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่าขนมทอ้งม้วนที่ใช้ฟลาวอร์และสตาร์ชทดแทนแป้งผสมที่อัตราส่วนเท่ากับ 0:100 ได้รับคะแนนความชอบรวมสูงสุดในระดับคะแนนชอบมาก 8.05 คะแนน (9-point hedonic scale) ค่าสีของขนมทอ้งม้วนมีค่าความสว่าง (L^*) เท่ากับ 56.95 ค่าสีแดง (a^*) เท่ากับ 10.41 และค่าสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 19.94 ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบค่าความแข็งแรงบวาลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมทอ้งม้วนที่ทดแทนด้วยแป้งผสมระหว่างฟลาวอร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีค่าความแข็งแรงสูง (316.32 g force) มีปริมาณเยื่อใยสูง (3.23 % dry basis) โปรตีน (0.34 % dry basis) และไขมันต่ำ (2.45 % dry basis) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม ($P < 0.05$) ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ ฟลาวอร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบเป็นส่วนผสมในแป้งผสมของผลิตภัณฑ์ขนมทอ้งม้วนได้

คำสำคัญ: กล้วยไข่ ฟลาวอร์กล้วยไข่ดิบ สตาร์ชกล้วยไข่ดิบ ทอ้งม้วน

คำนำ

กล้วยเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมมาก รองมาจากข้าว ข้าวโพด และข้าวสาลี กล้วยเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยสารอาหารที่จำเป็นรวมทั้งวิตามิน แร่ธาตุ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ และไฟโตสเตอรอลที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Singh *et al.*, 2016) มีการบริโภคผลสุก ส่วนผลดิบนำไปแปรรูปเป็นแป้งกล้วย เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร เช่น พาสต้า (Agama-Acevedo *et al.*, 2009) ขนมปัง (Ho *et al.*, 2013) สปันจ์เค้ก (Segundo *et al.*, 2017) และสปาเกตตี้ (Hernandez-Nava *et al.*, 2009) เป็นต้น กล้วยไข่ *Musa* (AA group) 'Kluai Khai' เป็นผลไม้ส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2555 ประเทศไทยมีการส่งออกกล้วยไข่มากที่สุดจำนวน 947,844 ตัน คิดเป็นมูลค่า 7,781,741 ล้านบาท ประเทศที่รับซื้อกล้วยไข่

มากที่สุด ได้แก่ จีน ฮองกง และเวียดนาม เนื่องจากกล้วยไข่ของไทยมีรสชาติดี (อภิชาติ และจันทรา, 2556) นอกจากนี้ มีข้อมูลงานวิจัยต่าง ๆ รายงานว่าแป้งหรือฟลาวอร์จากกล้วยไข่ดิบมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ร้อยละ 87.90 การต้านอนุมูลอิสระรวม (total antioxidant capacity) เท่ากับ 95.62 μg tocopherol equivalent/g dry basis และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic content) เท่ากับ 20.99 μg gallic acid equivalent/g dry basis (กุลลาบ และขวัญชัย, 2556) มีสมบัติต้านทานการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (resistant starch, RS) (จิรนาถ และคณะ, 2558) ฟลาวอร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีปริมาณ RS เท่ากับ 52.2 และ 70.5 g/100 g dry weight ตามลำดับ (Vatanasuchart *et al.*, 2012) โดย RS มีคุณสมบัติเทียบเท่าใยอาหาร (dietary fiber) เป็นพรีไบโอติกที่

เหมาะต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก (มุสดีและคณะ, 2559) จึงมีประโยชน์ต่อระบบขับถ่าย ช่วยป้องกันหรือลดภาวะโรคอ้วน และมีบทบาทในการลดปริมาณคอเลสเตอรอล ในเส้นเลือด จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าแป้งจากกล้วยไข่ดิบมีความน่าสนใจมากในการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร และยังมีข้อมูลการนำแป้งกล้วยไข่ดิบไปใช้ในการทำขนมไทย ซึ่งขนมไทยใช้แป้งเป็นส่วนประกอบหลัก เช่น แป้งข้าวเจ้า และแป้งมันสำปะหลัง ขนมทองม้วน เป็นขนมไทยประเภทปิ้งหรือย่าง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2546) มีเนื้อสัมผัสกรอบ ร่วน นิยมรับประทานเป็นอาหารว่าง มีส่วนประกอบหลัก ได้แก่ แป้ง น้ำตาล กะทิ และไข่ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับผู้ใช้แป้งให้เข้าใจคุณสมบัติของฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบโดยเปรียบเทียบกับแป้งชนิดอื่นที่นำมาใช้ทดแทน และศึกษาการนำฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบไปทดแทนแป้งผสมในผลิตภัณฑ์ทองม้วน เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการเลือกใช้แป้งในการผลิตขนมทองม้วนเพื่อสุขภาพในเชิงพาณิชย์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพบางประการของฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ

การเตรียมฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ

นำกล้วยไข่ดิบสายพันธุ์กำแพงเพชร (อายุ 45 วัน หลังแทงปลีกล้วย) จากสวนในตำบลโกสัมพี อำเภอกอสัมพีนคร จังหวัดกำแพงเพชร มาล้างทำความสะอาด จากนั้นเตรียมฟลาร์ โดยดัดแปลงวิธีการของ จูทา และคณะ (2554) โดยการลวกผลกล้วยไข่ดิบในน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 90 °C นาน 45 วินาที แล้วแช่น้ำเย็นจัดทันที นาน 5 นาที ปอกเปลือกหั่นเป็นชิ้นหนา 1-3 มิลลิเมตร แช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด (กล้วยน้ำไท, ประเทศไทย) ที่

อุณหภูมิ 65 °C จนมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 12 (โดยน้ำหนักเปียก) แล้วบดให้ละเอียดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 80 เมช บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ปิดสนิท นำฟลาร์ที่เตรียมได้ไปผลิตสตาร์ชโดยดัดแปลงวิธีการของ ปัญญรัตน์ (2553) สกัดสตาร์ชด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.05 N อัตราส่วนฟลาร์ต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1: 10) เขย่าของผสมเป็นเวลา 20 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่น อัตราส่วน 1:2 แล้วปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็นกลางในช่วง pH 6.5-7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.05 M ปั่นเหวี่ยงและล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง นำตะกอนสีขาวที่ได้ไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C จนมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 12 (โดยน้ำหนักเปียก) แล้วบดให้ละเอียดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช บรรจุในถุงอะลูมิเนียมพอยล์ปิดสนิท

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน (N x 6.25) ไขมัน เยื่อใย และเถ้า โดยวิเคราะห์ตามวิธีการของ AOAC (2000) และหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยใช้ผลต่าง การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโนส โดยใช้วิธีเกิดสีกับไอโอดีน ตามวิธีการของ Julianio (1971) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ค่าสี

วิเคราะห์ค่าสี L^* , a^* และ b^* และค่าดัชนีความขาว (whiteness index) ของฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ โดยใช้เครื่องวัดสีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น Ultrascan VIS (ยี่ห้อ Hunter Lab, U.S.A.) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลักษณะรูปร่างของเม็ดแป้ง

นำฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบไปดูลักษณะรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) รุ่น JSM-5410LV (ยี่ห้อ Do SEM, U.S.A.) บันทึกภาพที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

คำกล่าวถึงการพองตัวและการละลาย

วัดค่าการพองตัวและการละลายของแป้ง ได้แก่ ฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ แป้งข้าวเจ้า ตราช้าง สามเศียร และแป้งมันสำปะหลังตราปลามังกร ตามวิธีการของ ปัญญรัตน์ (2553) โดยการชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน 0.1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่ในหลอดทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 9.9 กรัม แช่ใน อ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิ 55, 65, 75, 85 และ 95 °C เช้าทุก ๆ 5 นาที เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ดูดของเหลวส่วนบน ใส่ภาชนะ และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100°C จนแห้ง ซึ่งน้ำหนักเป็นน้ำหนักส่วนที่ละลายน้ำ ส่วนแป้งเปียกในหลอดนำมาซึ่งเป็นน้ำหนักแป้งที่พองตัว ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ แล้วนำมาคำนวณตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{การละลาย (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนที่ละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

$$\begin{aligned} \text{การพองตัว} &= \frac{\text{น้ำหนักแป้งที่พองตัวแล้ว} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง} \times (100 - \text{ร้อยละ} \\ &\quad \text{การละลาย})} \end{aligned}$$

พฤติกรรมด้านความหนืดของแป้ง

วัดการเปลี่ยนแปลงทางด้านความหนืดของแป้ง ได้แก่ ฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ แป้งข้าวเจ้า ตราช้างสามเศียร และแป้งมันสำปะหลังตราปลามังกร โดยเครื่อง rapid visco analyser (RVA) รุ่น 4500 (ยี่ห้อ Perten Instruments, Australia) ตามวิธี Newport Scientific (1997) ใช้ตัวอย่างแป้ง 3 กรัม (ความชื้นร้อยละ 14 โดยน้ำหนักเปียก) น้ำ 25 กรัม บันทึกอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด (pasting temperature) ความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ผลต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดและความหนืดต่ำสุด (breakdown) และผลต่างของความหนืดสุดท้ายกับความหนืดต่ำสุด (setback) ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

การแปรผันปริมาณฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบทดแทนแป้งผสมระหว่างแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขนมทองม้วน

นำฟลาร์และสตาร์ชกล้วยไข่ดิบมาผลิตขนมทองม้วน โดยแปรผันปริมาณฟลาร์ต่อสตาร์ชกล้วยไข่ดิบในอัตราส่วนเท่ากับ 50:50 (สูตรที่ 1), 100:0 (สูตรที่ 2) และ 0:100 (สูตรที่ 3) (โดยน้ำหนักแป้งทั้งหมด) ทดแทนแป้งผสมระหว่างแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังที่อัตราส่วนเท่ากับ 50:50 (สูตรควบคุม) และสูตรที่ทดแทนแป้งผสมด้วยฟลาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ โดยส่วนผสมของทองม้วน ได้แก่ แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง ไข่ไก่สด น้ำตาลทราย เกลือ กะทิ น้ำสะอาด และงาดำ เท่ากับ 75, 75, 12.5, 95, 2.5, 50, 125 และ 1.25 กรัม ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ขนมทองม้วนโดยใช้น้ำหนักส่วนผสมตามสูตร ผสมส่วนผสมให้เข้ากันตั้งพักไว้นาน 20 นาที จากนั้นทาน้ำมันลงบนพิมพ์ของเครื่องสำหรับทำกรวยไอศกรีมและทองม้วน รุ่น SEV-2082 (ยี่ห้อ Severin, Germany) ตักส่วนผสมปริมาณ 1 กรัม หยดลงตรงกลางบนพิมพ์เป็นวงกลม ปิดฝา ใช้เวลาด้านละ 1 นาที แล้วแซะออกจากพิมพ์พับขอบ 2 ด้าน วางแกนไม้ด้านข้าง แล้วม้วนให้แน่น ดึงแกนไม้ ออก พักไว้นาน 30 นาที บรรจุในถุงโพลีเอทิลีนปิดผนึกด้วยความร้อน

การวิเคราะห์ค่าสี

นำขนมทองม้วนมาวัดค่าสี L^* , a^* และ b^* โดยใช้เครื่องวัดสี สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น Ultrascan VIS (ยี่ห้อ Hunter Lab, U.S.A.) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

นำขนมทองม้วนมาวัดเนื้อสัมผัส ด้วยเครื่อง texture analyzer รุ่น TA-XT2 (ยี่ห้อ Stable Micro Systems, England) หัววัด HDP/3PB three point ความเร็วของหัววัด 1 มิลลิเมตร/วินาที ด้วยโหมดแรงกดโดยวัดค่า hardness ตามวิธีการของ เกตริณทร์ และคณะ (2557) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความกรอบ และความชอบโดยรวม โดยใช้สเกลความชอบ 9 ระดับ (9 point hedonic rating scale) ใช้ผู้ทดสอบทั้งหมด 30 คน โดยการวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ($N \times 6.25$) ไขมัน เยื่อใย และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (2000) และหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยใช้ผลต่าง โดยใช้ตัวอย่างที่มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุด ที่ได้จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสและตัวอย่างควบคุม ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลการวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ โดยใช้แผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) และข้อมูลการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS

ผลการทดลองและวิจารณ์

สมบัติทางเคมีกายภาพของฟลาวาร์และสตาร์ชกล้วยไข่ดิบ

จากผลการทดลองพบว่ากล้วยไข่ดิบสามารถนำมาผลิตฟลาวาร์และสตาร์ชได้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 51.42 และ 19.10 ตามลำดับ ฟลาวาร์ของกล้วยไข่ดิบมีสีน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นหอมของกล้วยไข่ ส่วนสตาร์ชของกล้วยไข่ดิบมีความขาวมากกว่าฟลาวาร์ ไม่มีกลิ่นและไม่มีสิ่งเจือปน (ภาพที่ 1) สอดคล้องกับค่าสี พบว่าสตาร์ชมีค่าความสว่าง (L^*) มากกว่า ฟลาวาร์ และมีค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) ต่ำกว่าฟลาวาร์ โดยสตาร์ชมีค่าดัชนีความขาว (whiteness index) มากกว่าฟลาวาร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังตารางที่ 1

องค์ประกอบทางเคมีของฟลาวาร์และสตาร์ชกล้วยไข่ดิบ

สตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีปริมาณโปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้าน้อยกว่าฟลาวาร์ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 1) เนื่องจากองค์ประกอบดังกล่าวถูกกำจัดในขั้นตอนการสกัดสตาร์ช ส่งผลให้สตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่า ฟลาวาร์ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสพบว่าฟลาวาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีปริมาณอะมิโลสสูง คือร้อยละ 31.454 และ 38.977 (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าเมื่อ

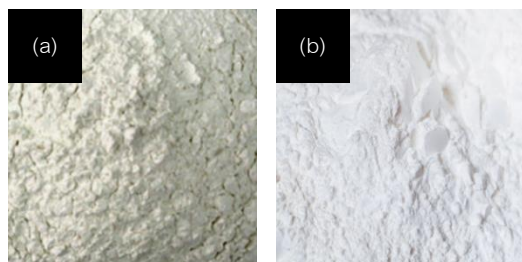


Figure 1. Images of flour (a) and starch (b) from unripe banana 'Kluai Khai'

Table 1. Chemical composition and colour parameters of unripe banana flour (UBF) and unripe banana starch (UBS)

	Unripe banana flour (UBF)	Unripe banana starch (UBS)
Components (% dry basis)		
Moisture ^{ns}	4.70±0.43	4.20±0.33
Ash	2.65 ^a ±0.18	0.30 ^b ±0.23
Protein	0.92 ^a ±0.03	0.61 ^b ±0.05
Lipid	0.05 ^a ±0.01	0.002 ^b ±0.001
Crude fiber	0.97 ^a ±0.03	0.14 ^b ±0.03
Carbohydrate ^{ns}	90.28±0.43	97.84±0.35
Amylose	31.45 ^b ±0.14	38.98 ^a ±0.60
Colour parameters		
L*	83.04 ^b ±0.26	94.50 ^a ±0.09
a*	1.35 ^a ±0.06	0.84 ^b ±0.00
b*	9.39 ^a ±0.06	3.97 ^b ±0.00
Whiteness index	80.56 ^b ±0.27	93.16 ^a ±0.07

Different letters in the same row mean significantly different ($P<0.05$)

^{ns} not significant different ($P>0.05$)

เปรียบเทียบกับแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังที่มีปริมาณอะมิโลสร้อยละ 25.073 และ 21.255 (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ($P<0.05$) ทั้งนี้ปริมาณอะมิโลสที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของแป้ง สายพันธุ์ และอายุการเก็บเกี่ยว เป็นต้น จากงานวิจัยของ ปิติพร และธงชัย (2550) รายงานว่าแป้งข้าวเจ้า (ผลิตจากธัญพืช) แป้งมันสำปะหลัง (ผลิตจากหัวมันสำปะหลัง) มีปริมาณอะมิโลสร้อยละ 19.15 และ 23.07 (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ จิรนาถ และคณะ (2558) รายงานว่าฟลาวร์กล้วยไข่ดิบ (6-8 สัปดาห์หลังแทงปลี) มีปริมาณอะมิโลสร้อยละ 40 (โดยน้ำหนักแห้ง) ส่วนแป้งกล้วยไข่ดิบทั่วไปมีปริมาณอะมิโลสอยู่ระหว่างร้อยละ 24.7-37.5 (โดยน้ำหนักแห้ง) (Vatanasuchart *et al.*, 2009)

ลักษณะรูปร่างของเม็ดแป้ง

จากผลการทดลองใช้ Scanning electron micrographs (SEM) เพื่อส่องดูลักษณะรูปร่างของเม็ดแป้ง พบว่า ฟลาวร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีลักษณะรูปร่างหลากหลาย คือ มีรูปร่างทรงกลม และรูปไข่ที่เรียวยาว ไม่สม่ำเสมอ (ภาพที่ 2) มีลักษณะคล้ายกับ

สตาร์ชของกล้วยหอมทองและกล้วยน้ำว้าดิบ (ไพลาภา และคณะ, 2550) พื้นผิวของเม็ดสตาร์ชมีผิวเรียบ ซึ่งแสดงถึงความบริสุทธิ์จากการสกัด สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่พบว่าสตาร์ชมีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และเยื่อใยน้อยกว่าฟลาวร์

กำลังการพองตัวและการละลายของฟลาวร์และสตาร์ช

จากภาพที่ 3a แสดงค่าการพองตัวเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิของตัวอย่างแป้ง ได้แก่ ฟลาวร์จากกล้วยไข่ดิบ (UBF) สตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ (UBS) แป้งข้าวเจ้า (RF) และแป้งมันสำปะหลัง (CS) พบว่าฟลาวร์จากกล้วยไข่ดิบ แป้งข้าวเจ้า และแป้งมันสำปะหลัง มีค่ากำลังการพองตัวเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของน้ำสามารถเข้าสู่ภายในเม็ดแป้ง เม็ดแป้งขยายตัวและจับกับน้ำได้มากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในขณะที่สตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีค่ากำลัง การพองตัวต่ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า 75 °C อาจเนื่องมาจากสตาร์ชมีปริมาณอะมิโลสสูง อะมิโลสจะรวมตัวกับองค์ประกอบอื่นที่มีอยู่ในเม็ดสตาร์ช

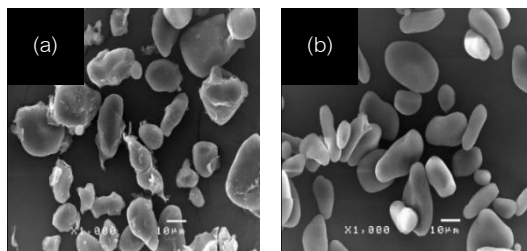


Figure 2. Scanning electron micrographs of flour (a) and starch (b) from unripe banana 'Kluai Khai' (1000x, scale bar = 10 µm)

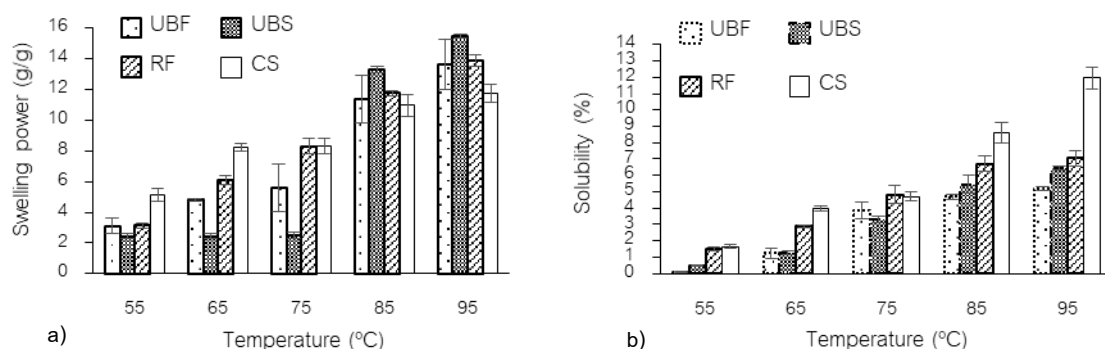


Figure 3. Effect of temperature on swelling power (a) and solubility (b) of unripe banana flour (UBF), unripe banana starch (UBS), rice flour (RF) and cassava starch (CS)

เช่น ไขมัน โปรตีน และเถ้า เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับอะมิโลสไปเสริมความแข็งแรงให้แก่ เม็ดสตาร์ชทำให้พองตัวได้ช้า ในขณะที่สตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีค่ากำลังการพองตัวเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 75 °C ($P>0.05$) เนื่องจากอุณหภูมิความร้อนนี้ไปทำลายพันธะไฮโดรเจนซึ่งเกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลภายในเม็ดสตาร์ชโมเลกุลของน้ำเข้ามาจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่เป็นอิสระทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวสูงขึ้น ในส่วนของค่าการละลาย (ภาพที่ 3b) พบว่าฟลัวร์จากกล้วยไข่ดิบ สตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบ แป้งข้าวเจ้า และแป้งมันสำปะหลัง มีค่าการละลายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อให้ความร้อนทำให้เม็ดแป้งเกิดการพองตัว โครงสร้างที่เป็นระเบียบภายในเม็ดแป้งถูกทำลาย เกิดการหลุดออกของโมเลกุลอะมิโลสและองค์ประกอบอื่น ๆ ละลายสู่ภายนอกเม็ดแป้ง ส่งผลให้ค่าการละลายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยค่าการพองตัวที่เพิ่มขึ้นทำให้ค่าการละลายเพิ่มขึ้น แต่ค่าการพองตัวและการละลายของเม็ดแป้งที่แตกต่างกันนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ คือ ชนิดของแป้ง ความแข็งแรง

และลักษณะของร่างแหภายในเม็ดแป้ง เช่น อัตราส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพกทิน การจัดเรียงตัวและความยาวของสาขาในอะมิโลเพกทิน สิ่งเจือปนภายในเม็ดแป้งที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต และปริมาณน้ำในสารละลายแป้งเป็นต้น (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2546)

การเปลี่ยนแปลงความหนืดของฟลัวร์และสตาร์ช

ผลการวิเคราะห์พฤติกรรมทางด้านความหนืดของแป้งทั้ง 4 ชนิด ด้วยเครื่อง RVA แสดงในภาพที่ 4 และตารางที่ 2 พบว่าอุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด (pasting temperature) หรืออุณหภูมิต่ำสุดที่ต้องใช้ในการทำให้แป้งสุกของแป้งข้าวเจ้ามีอุณหภูมิสูงที่สุดเท่ากับ 93.25 °C เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งชนิดอื่น ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของแป้งในการจับตัวกับน้ำและแรงที่ต้องใช้ในการกวนหรือผสมในอาหาร พบว่าแป้งมันสำปะหลัง ฟลัวร์และสตาร์ชจาก

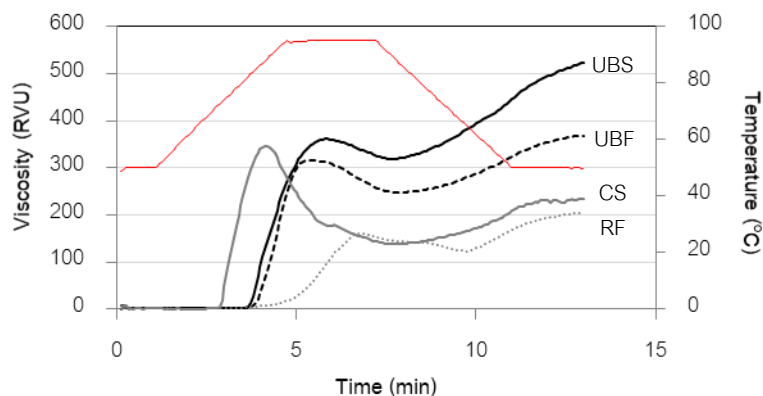


Figure 4. RVA profiles of unripe banana flour (UBF), unripe banana starch (UBS), rice flour (RF) and cassava starch (CS)

กล้วยไข่ดิบมีค่าความหนืดสูงสุด ที่สูงอยู่ในช่วง 317-362 RVU ในขณะที่แป้งข้าวเจ้ามีค่าความหนืดสูงสุดมีค่าน้อยที่สุดเท่ากับ 161 RVU ส่วนค่าความหนืดต่ำสุด (trough) เป็นค่าความหนืดต่ำสุดของแป้งที่เกิดจากการให้ความร้อนและแรงกวนที่ใช้ในการผสม เมื่อพิจารณาถึงค่าความแตกต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดและความหนืดต่ำสุด (breakdown) พบว่าอุณหภูมิและแรงกวนที่เท่ากันส่งผลให้ความหนืดของสตาร์ชและฟลาวร์จากกล้วยไข่ดิบมีค่าความหนืดต่ำสุด สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งข้าวเจ้า และแป้งมันสำปะหลัง ($P < 0.05$) ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการคงทนต่ออุณหภูมิและการกวนสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องผ่านการให้ความร้อนด้วยการสเตอริไลซ์ เช่น ซอส และอาหารสำหรับเด็ก เมื่อพิจารณาค่าความหนืดของแป้ง พบว่าแป้งมันสำปะหลังมีค่าผลต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดและค่าความหนืดต่ำสุด สูงที่สุดเท่ากับ 210 RVU รองลงมาคือฟลาวร์จากกล้วยไข่ดิบเท่ากับ 69 RVU สตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบและแป้งข้าวเจ้า มีค่าความหนืดต่ำสุด ไม่แตกต่างกันคือเท่ากับ 42 RVU นั้นแสดงว่าแป้งมันสำปะหลังมีความสามารถในการคงทนต่ออุณหภูมิและการกวนที่ต่ำที่สุด เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ซึ่งบ่งชี้ลักษณะของแป้งเป็นแป้งเปียกหรือเจลเมื่อเกิดรีโทรเกรดชัน พบว่าแป้งทั้ง 4 ชนิด มีค่าความหนืดสุดท้ายมากกว่าค่าความหนืดต่ำสุด สตาร์ชกล้วยไข่ดิบมีค่าความหนืดต่ำสุดเท่ากับ 319 RVU เมื่อพิจารณาค่าการคืนตัว (setback)

ซึ่งค่าการคืนตัวนี้จะมีความสัมพันธ์กับลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ (ปิติพร และคณะ, 2546) การคืนตัวเกิดขึ้นมาจากอะมิโลส โดยอะมิโลสจะค่อย ๆ เข้าหากันและรวมกลุ่ม เกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโมเลกุลสร้างเป็นขอบเขตรอยต่อเป็นโครงสร้าง มีระเบียบใหม่ ส่วนอะมิโลเพกทินจะเกิดรีโทรเกรดของพวกสายกิ่งรวมเข้าหากันได้ แต่การเกิดจะช้ากว่าของอะมิโลส (วรรณ, 2549) แป้งที่มีปริมาณอะมิโลสสูงจะเกิดการคืนตัวได้มากและเร็วกว่าแป้งที่มีปริมาณอะมิโลเพกทินสูง จากผลการทดลองพบว่าระดับการคืนตัวของแป้งที่มากที่สุดคือสตาร์ช (203 RVU) ฟลาวร์ (120 RVU) จากกล้วยไข่ดิบ สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าสตาร์ชมีปริมาณอะมิโลสสูงกว่าฟลาวร์ และการคืนตัวน้อยที่สุดคือแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีค่าการคืนตัวเท่ากับ 85 RVU, 96 RVU ตามลำดับ

ผลการแปรรูปปริมาณฟลาวร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบทดแทนแป้งผสมระหว่างแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขนมทองม้วน

ลักษณะปรากฏของขนมทองม้วนที่ผลิตได้จากการแปรรูปปริมาณฟลาวร์และสตาร์ชกล้วยไข่ดิบทดแทนแป้งผสมจากแป้งข้าวเจ้าต่อแป้งมันสำปะหลังในอัตราส่วนเท่ากับ 50:50 (สูตรควบคุม) และสูตรที่ทดแทนแป้งผสมด้วยฟลาวร์ต่อสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบที่

อัตราส่วนเท่ากับ 50:50 (สูตรที่ 1), 100:0 (สูตรที่ 2) และ 0:100 (สูตรที่ 3) ดังภาพที่ 5

คำสี่และเนื้อสัมผัส

จากตารางที่ 3 พบว่าขนมทองม้วนสูตรที่ 2 มีค่าความสว่าง (L^*) ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น ๆ ($P<0.05$) เนื่องจากฟลัวร์กล้วยไข่ดิบมีสีคล้ำ ดังนั้นเมื่อไม่ใช้ฟลัวร์ในสูตรที่ 3 ส่งผลให้ขนมทองม้วนมีค่า L^* เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3) ทั้งนี้สีของแป้งแต่ละชนิดจึงอาจมีผลต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์สุดท้าย ในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ พัชร และสุภาณี (2560) ศึกษาการใช้แป้งข้าวกล้องพรีเจลาติไนซ์ทดแทนแป้งสาลีในขนมปังแผ่นอบกรอบ และมีการใช้แป้งผสมระหว่างแป้งข้าวกล้องพรีเจลาติไนซ์ แป้งลูกเดี๋ยและแป้งข้าวเหนียว พบว่าการทดแทนที่มีปริมาณแป้งข้าวกล้องพรีเจลาติไนซ์เพิ่มขึ้นทำให้ขนมปังแผ่นอบกรอบมีค่าความสว่าง (L^*) ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับขนมปังแผ่นอบกรอบที่ทดแทนด้วยแป้งผสมระหว่างแป้งข้าวกล้องพรีเจลาติไนซ์ แป้งลูกเดี๋ยและแป้งข้าวเหนียวที่มีค่าความสว่างมากกว่า เนื่องจากแป้งลูกเดี๋ยและแป้งข้าวเหนียวมีลักษณะสีขาวมากกว่า แป้งข้าวกล้องพรีเจลาติไนซ์และแป้งสาลี ส่วนเนื้อสัมผัสของทองม้วนนั้นพบว่าค่าความแข็ง (hardness) อยู่ในช่วง 254.65-332.27 g force ($P>0.05$) โดยการใช้แป้งข้าวเจ้าต่อแป้งมันสำปะหลัง (สูตรควบคุม) ให้ค่าความแข็ง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น ๆ ซึ่งจากการศึกษาของ ละอองวรรณ (2551) พบว่าการนำแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังมาทดแทน

แป้งสาลีในการพัฒนาสูตรแป้งชุบทอดนั้น การเพิ่มปริมาณแป้งมันสำปะหลังจะมีผลทำให้การพองตัวและความกรอบของแป้งลดลง ส่วนแป้งข้าวเจ้ามีผลต่อความกรอบโดยการใช้แป้งข้าวเจ้าในปริมาณสูงขึ้นจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความแข็งมากขึ้น ทั้งนี้ในสูตรที่มีการใช้ฟลัวร์ (สูตรที่ 2) และสตาร์ช (สูตรที่ 3) เป็นส่วนผสมในอัตราส่วนที่สูง พบว่ามีค่าความแข็งมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม เนื่องจากฟลัวร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีปริมาณอะมิโลสสูงจะเกิดรีโทรเกรเดชันได้สูง วรรณ (2549) กล่าวว่าโมเลกุลที่อยู่ในแป้งต้มสุกมีการรวมกลุ่มกลับไปสู่โครงสร้างมีระเบียบใหม่ ในระยะแรกสายโซ่ตั้งแต่สองสายขึ้นไปอาจจะสร้างเป็นขอบเขตรอยต่อก่อน แล้วพัฒนาเป็นบริเวณที่มีระเบียบมากขึ้น จนในที่สุดภายใต้ภาวะที่เหมาะสมจะเกิดเป็นลักษณะแบบผลึก โมเลกุลที่มีผลโดยตรงต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันคืออะมิโลส ส่วนอะมิโลเพกทินซึ่งมีโมเลกุลที่ใหญ่และค่อนข้างเกาะเกาะเพราะมีสายกิ่งมาก เกิดรีโทรเกรเดชันได้ช้ากว่า ผลที่เกิดขึ้นคือเจลมีความแน่นหรือแข็ง ส่วนปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ของขนมทองม้วนในแต่ละสูตรมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.246-0.317 ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์ที่จุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโตได้

คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของขนมทองม้วนด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความกรอบ รสชาติ และความชอบรวม (ตารางที่ 4) พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น ความกรอบ รสชาติและ

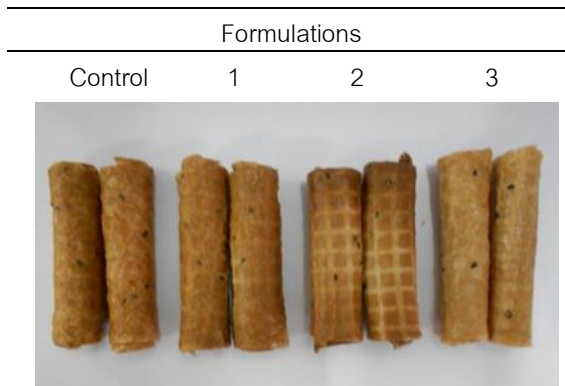


Figure 5. Appearance of Tong Muan made from unripe banana flour (UBF) and unripe banana starch (UBS)

ความชอบรวมในทองม้วนสูตรที่ 3 สูงที่สุดและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม โดยมีคะแนนความชอบรวมเท่ากับ 8.05 อยู่ในระดับชอบมาก

องค์ประกอบทางเคมี

เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของขนมทองม้วนที่ได้รับคะแนนความชอบรวมสูงสุดกับสูตรควบคุม พบว่าขนมทองม้วนที่ผลิตจากการทดแทนแป้ง

ผสมด้วยฟลาวาร์และสตาร์ชในอัตราส่วน 0:100 (สูตรที่ 3) มีปริมาณโปรตีนและไขมันน้อย ในขณะที่มีปริมาณเยื่อใยและเถ้ามากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม ($P<0.05$) (ตารางที่ 5) การบริโภคอาหารที่มีเยื่อใยมีความสำคัญต่อสุขภาพ มีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหารจะทำให้ระบบขับถ่ายทำงานได้ดีขึ้น นอกจากนี้การบริโภคอาหารที่มีปริมาณไขมันต่ำยังช่วยป้องกันหรือลดภาวะโรคอ้วน

Table 3. Colour and texture parameters of Tong Muan made from unripe banana flour (UBF) and unripe banana starch (UBS)

Formulations	Colour value			Hardness ^{ns} (g force)	a_w
	L*	a* ^{ns}	b* ^{ns}		
Control	59.92 ^a ±0.39	8.69±0.79	18.78±0.97	254.65±34.18	0.31 ^a ±0.01
1	55.03 ^{bc} ±2.42	9.25±0.51	16.86±0.94	256.26±73.29	0.27 ^b ±0.01
2	52.32 ^c ±0.54	8.37±0.19	16.65±0.47	332.27±19.02	0.25 ^b ±0.01
3	56.95 ^{ab} ±1.16	10.41±1.14	19.94±1.14	316.32±11.64	0.32 ^a ±0.02

Different letters in the same column mean significantly different ($P<0.05$)

^{ns} not significant different ($P>0.05$)

Table 4. Sensory profile of Tong Muan made from unripe banana flour (UBF) and unripe banana starch (UBS)

Formulations	Appearance	Colour	Odour	Crispiness	Taste	Overall acceptance
Control	7.47 ^{ab} ±1.20	7.43 ^b ±1.09	7.63 ^a ±0.90	7.97 ^a ±0.73	7.78 ^a ±1.18	7.85 ^a ±0.80
1	7.20 ^c ±1.23	6.98 ^c ±1.13	7.03 ^b ±1.44	7.75 ^{ab} ±0.84	7.10 ^b ±1.37	7.33 ^b ±1.04
2	6.90 ^{bc} ±1.35	6.85 ^c ±1.35	6.85 ^c ±1.42	7.52 ^b ±1.11	6.70 ^b ±1.69	6.98 ^b ±1.36
3	7.82 ^a ±0.95	8.02 ^a ±0.75	7.78 ^a ±0.90	8.05 ^a ±0.93	6.98 ^b ±1.36	8.05 ^a ±0.72

Different letters in the same column mean significantly different ($P<0.05$)

Table 5. Chemical composition of Tong Muan products (% dry basis)

Formulations	Moisture ^{ns}	Protein	Lipid	Crude fiber	Ash ^{ns}	Carbohydrate
Control	10.45±1.34	1.14 ^a ±0.05	5.51 ^a ±0.45	2.24 ^b ±0.16	0.44±0.13	80.22
3	7.88±0.24	0.34 ^b ±0.05	2.45 ^b ±0.12	3.23 ^a ±0.03	0.71±0.17	85.38

Different letters in the same column mean significantly different ($P<0.05$)

^{ns} not significant different ($P>0.05$)

สรุป

พลวาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบมีปริมาณอะมิโลสสูงกว่าแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลัง การเพิ่มอุณหภูมิการให้ความร้อนส่งผลให้แป้งแต่ละชนิดมีค่ากำลังการพองตัวและค่าการละลายเพิ่มขึ้น สตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบให้ค่าความหนืดสูงสุด ค่าความหนืดสุดท้ายและค่าการคืนตัวสูงที่สุดกว่าพลวาร์ แป้งมันสำปะหลัง และแป้งข้าวเจ้า ทำให้สตาร์ชมีโอกาสในการเกิดรีโทรเกรเดชันสูงกว่าแป้งชนิดอื่น ทั้งนี้สามารถใช้พลวาร์และสตาร์ชจากกล้วยไข่ดิบทดแทนแป้งผสมจากแป้งข้าวเจ้า และแป้งมันสำปะหลังในการผลิตขนมทองม้วนให้มีความกรอบเพิ่มขึ้นได้ โดยการทดแทนแป้งผสมด้วยอัตราส่วนของพลวาร์ต่อสตาร์ชเท่ากับ 0:100 ได้รับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความกรอบ และความชอบโดยรวมสูง และมีปริมาณไขมันต่ำ และเยื่อใยสูง ซึ่งจะเป็นทางเลือกให้ผู้ผลิตสามารถเลือกใช้แป้งจากกล้วยไข่ดิบในการผลิตขนมทองม้วน และผู้บริโภคสามารถเลือกบริโภคขนมทองม้วนที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพได้

เอกสารอ้างอิง

- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 303 หน้า.
- กุลหลาบ สิทธิสวนจิกร และ ขวัญชัย ศรีรักษา. 2556. การเปรียบเทียบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งกล้วย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 44(2) (พิเศษ): 213-216.
- เกศรินทร์ เพ็ชรรัตน์ สุนิษา วิไลพัฒน์ และ จีราพร อัคริ-สุวรรณ. 2557. การใช้กากมะพร้าวเสริมในขนมทองม้วน. วารสารวิชาการและวิจัย มทร. พระนคร (พิเศษ) 5: 15-17.
- จิรนาถ บุญคง ทิพวรรณ บุญมี และ พัทธวรรณ เรือน-แก้ว. 2558. การใช้แป้งกล้วยหอมดิบที่มีสมบัติต้านทานการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในผลิตภัณฑ์พาสต้า. วารสารเทคโนโลยีการอาหารมหาวิทยาลัยสยาม 10(1): 19-27.
- จุฑา พันธ์พระ ธาณี สุนคนธชาติ อรุมา มุ่งเจียกกลาง ชนิตา ประจักษ์จิตร เจริญรา บ.ป. สูงเนิน และ แสงแข สพันธุ์พงศ์. 2554. การเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากกล้วยเพื่อใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, กรุงเทพฯ.
- ปัญญารัตน์ ไศภิชร์ประภา. 2553. การคัดแปรแป้งและสตาร์ชกล้วยน้ำว้า (*Musa (ABB) sp.*) ด้วยวิธีฟรีเจลาทีไนซ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ.
- ปิติพร ฤทธิ์เรืองเดช และ ธงชัย สุวรรณลิขิต. 2550. การวิเคราะห์องค์ประกอบของพฤติกรรมด้านความหนืดและคุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัสของเจลในแป้งชนิดต่าง ๆ. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ปิติพร ฤทธิ์เรืองเดช ธงชัย สุวรรณลิขิต วิชัย หฤทัยธนา สันติ และ กล้าณรงค์ ศรีรอด. 2546. พฤติกรรมด้านความหนืดและคุณสมบัติทางกลของแป้งเท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* Ktze.). หน้า 53-60. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 41 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ผุสดี ตั้งวัชรินทร์ สุชาติ สุขสถิตย์ และ กานต์ สุขสุแพทย์. 2559. ผลของใยอาหารและรีชีสแทนดัดสตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อมันกล้วยต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *Lactobacillus plantarum*. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 34(1): 36-47.
- พัชรี แดงดวง และ สุภาณี ด้านวิริยะกุล. 2560. การใช้แป้งกล้วยกล้วยฟรีเจลาตีไนซ์ทดแทนแป้งสาลี

- ในขนมปังแผ่นอบกรอบ. วารสารเกษตร 33(2): 291-298.
- ไพลาภา นิมสังข์ มาศอุบล ทองงาม และ อรอนงค์ นัยวิกุล. 2550. องค์ประกอบทางเคมี, สัณฐานวิทยาและสมบัติเชิงคุณสมบัติของแป้ง และ สดาร์ชจากกล้วยดิบ. หน้า 672-680. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45: สาขา ส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์ สาขา อุ ต สา ห กร ร ม เก ช ต ร . ม ห า วิ ท ย า ลั ย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ละอองวรรณ ศรีจันทร์. 2551. การใช้แป้งข้าวเจ้าทดแทน แป้งสาลีในการผลิตแป้งชุบทอด. วารสาร มทร. อีสาน 1(1): 70-80.
- วรรณดา ตูลยธัญญ์. 2549. เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 166 หน้า.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขนมไทย มผช. 1/2546. ส ำ นั ก ง า น ม ำ ต ร ฐ า น ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ. 5 หน้า.
- อภิชาติ ศรีสอาด และ จันทรา อุสุวรรณ. 2556. คู่มือการ เพาะปลูกกล้วยเศรษฐกิจเงินล้าน. นาคามีเดีย, กรุงเทพฯ. 144 หน้า.
- Agama-Acevedo, E., J.J. Islas-Hernandez, P. Osorio-Díaz, R. Rendón-Villalobos, R.G. Utrilla-Coello, O. Angulo and L.A. Bello-Pérez. 2009. Pasta with unripe banana flour: Physical, texture, and preference study. Journal of Food Science 74(6): S263-S267.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland.
- Hernandez-Nava, R.G., J. De. J. Berrios, J. Pan, P. Osorio-Díaz and L. A. Bello-Perez. 2009. Development and characterization of spaghetti with high resistant starch content supplemented with banana starch. Food Science and Technology International 15(1): 73-78.
- Ho, L.H., N.A. Abdul Aziz and B. Azahari. 2013. Physico-chemical characteristics and sensory evaluation of wheat bread partially substituted with banana (*Musa acuminata* X *balbisiana* cv. Awak) pseudo-stem flour. Food Chemistry 139: 532-539.
- Juliano, B.O. 1971. A simplified assay for milled-rice amylose. Cereal Science Today 16: 334-338.
- Newport Scientific. 1997. Operation Manual for the series 4 Rapid Visco Analyser. Newport Scientific Pty., Ltd., Australia. 93p.
- Segundo, C., L. Román, M. Gómez and M.M. Martínez. 2017. Mechanically fractionated flour isolated from green bananas (*M. cavendishii* var. *nanica*) as a tool to increase the dietary fiber and phytochemical bioactivity of layer and sponge cakes. Food Chemistry 219: 240-248.
- Singh, B., J.P. Singh, A. Kaur and N. Singh. 2016. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits - A review. Food Chemistry 206: 1-11.
- Vatanasuchart, N., B. Niyomwit and K. Wongkrajang. 2009. Resistant starch contents and the *in vitro* starch digestibility of Thai starchy foods. Kasetsart Journal (Natural Science) 43: 178-186.
- Vatanasuchart, N., B. Niyomwit and K. Wongkrajang. 2012. Resistant starch content, *in vitro* starch digestibility and physico-chemical properties of flour and starch from Thai bananas. Maejo International Journal of Science and Technology 6(02): 259-271.

ดัชนีบทความในวารสารเกษตร ฉบับที่ 1 และ 2 ปีที่ 34 (2561)

ฉบับที่ 1 มกราคม - เมษายน 2561	หน้า
ผลของระดับไนโตรเจนต่อการเติบโตและปริมาณของธาตุอาหารในกล้วยไม้แวนดาลูกผสม	1
ผลของการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศต่อคุณภาพของผักกาดฮ่องเต้ในทรีย์ที่ปลูกและเก็บเกี่ยวในฤดูแล้ง	11
ผลของสารคล้ายบราสซิโนต่อผลผลิตและคุณภาพของข้าวโพดหวาน	21
ผลของปุ๋ยโพแทสเซียมต่อคุณภาพและผลผลิตข้าวโพดหวานที่ปลูกในพื้นที่อำเภองาว จังหวัดลำปาง	29
การตรึงและการปลดปล่อยแอมโมเนียมในดินที่มีแร่ดินเหนียวประเภท 2:1 เป็นองค์ประกอบ	41
ผลของอัลลีโลพาตีในวัชพืชที่ปลูกร่วมกับมะเขือเทศต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม (<i>Meloidogyne</i> spp.)	55
ชีวภัณฑ์แอคติโนไมซีส์เอนโดไฟต์แบบกระดาศเพื่อควบคุมโรคยอดผักดาบของข้าวไรซ์เบอร์รี่ในระยะกล้า	67
ความหลากหลายของเชื้อ <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> สาเหตุโรคใบจุดบนถั่วเหลืองและการพัฒนาไพรเมอร์จำเพาะที่ใช้ในการตรวจสอบ	77
ความรู้และความสามารถในการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศและคอมพิวเตอร์ของนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร สำนักงานเกษตรจังหวัดเชียงราย	89
ศักยภาพการผลิตกุหลาบเชิงพาณิชย์ของเกษตรกรบ้านบวกเตย อำเภอแรมริม จังหวัดเชียงใหม่	101
การประเมินศักยภาพในการปรับปรุงกระบวนการก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวในการผลิตมะม่วงในรัฐจันตอนใต้ประเทศพม่า	111
แบบแผนการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนโปรแลคตินและเอสตราไดโอลในไก่พื้นเมืองที่แสดงพฤติกรรมการฟักไข่ที่ยืดเยื้อ	123
ผลของแหล่งไขมันต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต คอเลสเตอรอลในเลือด และค่าโลหิตวิทยาในไก่เนื้อ	135
การเหนี่ยวนำพัฒนาการของฟอลลิเคิลและการตกไข่ในแพะพื้นเมืองไทยโดยใช้ฮอร์โมน FSH แบบปลด ร่วมกับ hCG	147
การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาชาใบหม่อนผสมผลหม่อนโดยวิธีสภาวะแห้ง	157
ฉบับที่ 2 พฤษภาคม - สิงหาคม 2561	
ผลของการควั่นกิ่ง ปุ๋ยทางใบ และสารยับยั้งการสังเคราะห์หิเบอเรลลินต่อการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนพืชที่สัมพันธ์กับการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยบนพื้นที่สูง	167
การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคต้นแตงกวางไหลของเมลอน	179
การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียในการควบคุมโรคผลเน่าที่เกิดจากแบคทีเรียของเมลอน	193
การเพิ่มศักยภาพการยับยั้งเพื่อยับยั้งมันสำปะหลังสีชมพูด้วยสารสกัดหยาบไคโตเนสและโปรตีนเอสส์ร่วมกับเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i>	205
ผลของรูปแบบรังไข่ไม่ประกอบต่อการจัดวางตัวอาหารของชันโรง <i>Tetragonula laeviceps</i> Species Complex	215
ประสิทธิภาพสารพาราเบนในการเก็บรักษาเชื้อรา <i>Metarhizium anisopliae</i> MRT-PCH 048 เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	227
ผลของระบบนิเวศวิศวกรรมต่อความหลากหลายของแมลงและแมงมุมในนาข้าว	235
พฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรบ้านโพธิ์ประสาธ ตำบลบ่อทอง อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก	245
การจำแนกครัวเรือนเกษตรกรที่มีระบบการทำฟาร์มแบบปลูกข้าวเป็นพืชหลักในจังหวัดกำแพงเพชร	255
ระดับโปรตีนและพลังงานใช้ประโยชน์ที่เหมาะสมในสูตรอาหารไก่กระดูกดำสายพันธุ์โครงการหลวง ช่วงอายุ 11-16 สัปดาห์	269
คุณภาพซาก องค์ประกอบเคมี และค่าเสถียรภาพออกซิเดชันของเนื้อไก่ลูกผสมพื้นเมืองของไทยกับไก่ไข่ ไก่พื้นเมืองไทย ไก่ไข่ และไก่กระพง	277
ผลของเศษปลาหมักต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสารอาหารของปลานิลแดง (<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>)	287
สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการออกของข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ข้าวอบพอง	297
ผลของสายพันธุ์และสูตรอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิตลิพิดในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสกุล <i>Chlorella</i>	311
การใช้มิวติเลจของเมล็ดแมงลักทดแทนไขมันในน้ำสลัดเพื่อสุขภาพ	319

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ (ต่อ)

รูปแบบในการใช้ภาษาอังกฤษในเนื้อเรื่องภาษาไทย

- ชื่อวิทยาศาสตร์ คำขึ้นต้นให้ใช้อักษรตัวใหญ่ และใช้อักษรตัวเอน
Meloidogyne incognita
- ชื่อเฉพาะ ให้ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่ทุกคำ
Berdmann, Marschner
- ภาษาอังกฤษทั้งในวงเล็บและนอกวงเล็บ ให้ใช้ตัวเล็ก
completely randomized design , (transition period)
- ดัวย่อ ให้ใช้อักษรตัวใหญ่ทั้งหมด และควรมีคำเต็มบอกไว้ในการใช้ครั้งแรก
(randomized complete block design, RCBD)
- หัวข้อเรื่อง ให้ขึ้นด้วยอักษรตัวใหญ่
Abstract, Introduction
- คำแรกทีตามหลัง คำสำคัญ ให้ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่
Keywords : Mango, chlorophyll

การส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์

ให้ส่งบทความ Online เท่านั้น ได้ที่

<http://web.agri.cmu.ac.th/agjournal/submission/>

การตอบรับบทความ

บทความทุกบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร ต้องผ่านการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิ ไม่น้อยกว่า 2 ท่าน

** กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจและแก้ไขบทความที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร

** The Editorial Board claims a right to review and correct all articles submitted for publishing

สำนักงานและการติดต่อ (Office and Inquiries)

กองบรรณาธิการวารสารเกษตร

งานบริหารงานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จังหวัดเชียงใหม่ 50200

โทร. 0 5394 4089-92 ต่อ 12

โทรสาร 0 5394 4089-92 ต่อ 12

Editorial Board, Journal of Agriculture,

Division of Research and International Affairs, Chiang Mai University, Chiang Mai

50200, Thailand

Tel: 0 5394 4089-92

Fax: 0 5394 4666

E-mail: agjournal22@gmail.com

JOURNAL OF AGRICULTURE

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Volume 34, Issue 3 September - December 2018

Analysis on Specific Molecular Marker Some <i>Dendrobium</i> Sw. Species in Thailand Containing Bibenzyl Derivatives Using Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Technique Uthaiwan Sapkaew and Shermarl Wongchaochant.....	331
Annual Flower Bud Development of <i>Vanda Manuvadee</i> Takonwan Sirisawad and Soraya Ruamrungsri.....	341
Effects of Shading During Cultivation on Chlorophyll and 2-Acetyl-1-Pyrroline Contents of <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb. Leaves Pawinee Areesrisom, Narin Toakaenchan, Rungtip Kawaree, Therdsak Thonnalak and Koblap Areesrisom.....	353
Comparison of Nutritional Value and Bioactive Compounds in <i>Gymnema inodorum</i> Decne. Leaves Pratoomporn Yingthongchai, Pornrat Sirikhum, Surin Nilsamranchit and Suriya Tateing.....	363
Antioxidant Capacity of Some Weed Crude Extracts Jutamas Merasanud, Wanida Suebsaiprom, Tosapon Pornprom and Jamnian Chompoo.....	373
Effects of Seed Treatment with Plant Growth Promoting Bacteria on Germination and Growth of Lettuce Jakkrapong Kangsopa Russell K. Hynes and Boonmee Siri.....	385
Organic Carbon in Soil Aggregates Induces Methane and Carbon Dioxide Formation in Paddy Soils Wut Sriwichai, Daungsamorn Tulaphitak, Phruksa Lawongsa and Patcharee Saenjan.....	399
Fertility Capability of Calcareous Soils in Thailand Panuwat Auppathumpanont, Natthapol Chittamart and Timtong Darunsontaya.....	411
Soil Physicochemical Properties in Mining Areas and Plantation Forest for Land Reclamation of Ban Pu Lignite Mine, Li District, Lamphun Province Thananiti Thichan, Soontorn Khamyong, Niwat Anongrak and Panlop Huttagosol.....	425
Potential of Eucalyptus Essential Oil to Repel Maize Weevil <i>Sitophilus zeamais</i> (Motschulsky) Jirawat Iamjaidee, Pabhop Sinchayakul and Wichai Sorapongpaisal.....	437
Efficacy of Neem Seed Kernel Extract on Oviposition Deterrence of <i>Bactrocera dorsalis</i> (Hendel) and <i>Bactrocera correcta</i> (Bezzi) on Guava Plantation Tshetrim, Pabhop Sinchayakul and Lop Phavaphutanon.....	449
Virulences of <i>Beauveria bassiana</i> and <i>Metarhizium anisopliae</i> for Controlling <i>Phenacoccus manihoti</i> Matile-Ferrero and <i>Planococcus lilacinus</i> (Cockerell) Nichanun Kernasa and Wassana Wancheun.....	461
Species of Ants and Their Relationship with Green Scale Insects on Arabica Coffee Trees in Northern Thailand Withuwadee Sangtow, Piyawan Suttiaprapan, Weeyawat Jaitrong and Sawai Buranapanichpan.....	469
Efficiency of Actinomycetes Isolated from Black Dwarf Honey Bee (<i>Apis andreniformis</i>) in Controlling Root - Knot Nematode, <i>Meloidogyne incognita</i> Causes Root Knot Disease of Chili in Greenhouse Jantima Santisuk, Yaowanoot Promnuan, Amonsri Khun-In, Pongrawee Nimnoi and Pornthip Ruanpanun.....	481
Success in Implementation of Agricultural Activities of Young Farmer Project in Sueksa Songkhro Chiang Mai School Sunjana Singjai and Budsara Limnirankul.....	491
Financial Analysis of Pacific White Shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>) Culture in Earthen Pond: Case Study of Klongwan Models Vutthichai Oniam, Wasana Arkronrat and Prapapron Deemark.....	501
Properties of Flour and Starch from Unripe Banana 'Kluai Khai' Flesh and Their Application in Tong Muan Pasuree Rittilert and Nattapat Khotpae.....	513

ISSN 0857-0841

