



วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 34 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม - สิงหาคม 2561

ผลของการควั่นกิ่ง ปุ๋ยทางใบ และสารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินต่อการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนพืชที่สัมพันธ์กับการออกดอกของลินจี่พันธุ์สูงขวยบนพื้นที่สูง	
นุติ เจริญกิจ ภรพวรรณ ศรีงาม พัทยา สรวมศิริ และ ดรุณี นภาพรหม	167
การคัดเลือกโรโซแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคนั้นแตกยางไหลของเมลอน	
จันทร์ภา อุปลี และ อรุณา เรืองวงษ์	179
การคัดเลือกโรโซแบคทีเรียในการควบคุมโรคผลเน่าที่เกิดจากแบคทีเรียของเมลอน	
สุภารัตน์ แก้วน้ำอ่าง อังสนา อัครพิศาล และ อรุณา เรืองวงษ์	193
การเพิ่มศักยภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสำหรับพืชด้วยสารสกัดจากไคตินและโปรตีนร่วมกับเชื้อรา <i>Beauveria bassiana</i>	
สุกานดา วิจิตพันธ์ สุภัทธร ทับศรี และ คณิต วิจิตพันธ์	205
ผลของรูปแบบรังไข่ประกอบต่อการจัดวางตัวอาหารของชันโรง <i>Tetragonula laeviceps</i> Species Complex	
สมฤทัย ใจเย็น จิราพร กุลสาริน ไสว บุรณพานิชพันธ์ และ กนกวรรณ คำยอดใจ	215
ประสิทธิภาพสารพาวางชนิดในการเก็บรักษาเชื้อรา <i>Metarhizium anisopliae</i> MRT-PCH 048 เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	
นวลศิริ สัมบุณย์ วีระเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธ์ ปภพ สันชยกุล และ จิราพร กุลสาริน	227
ผลของระบบนิเวศวิศวกรรมต่อความหลากหลายของแมลงและแมงมุมในนาข้าว	
วงเดือน พักช้า วีระเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธ์ ปภพ สันชยกุล และ วิชัย สรพงษ์ไพศาล	235
พฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรบ้านโพธิ์ประสาท ตำบลบ่อทอง อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก	
ภัญชลี เจริญพันธ์ ภิญญา เปลี่ยนนางช้าง ศักดิ์ชัย วิทยาอารีย์กุล วันวิสาข์ ปันศักดิ์ และ สุพรรณนิภา อินต๊ะนนท์	245
การจำแนกครัวเรือนเกษตรกรที่มีระบบการทำฟาร์มแบบปลูกข้าวเป็นพืชหลักในจังหวัดกำแพงเพชร	
สุนิษฐ์ ทรัพย์สมบูรณ์ เบญจพรรณ เอกะสิงห์ ชาญชัย แสงไชยสวัสดิ์ จิรพรรณ กิจชัยเจริญ และ พนมศักดิ์ พรหมบุญมย์	255
ระดับโปรตีนและพลังงานใช้ประโยชน์ที่เหมาะสมในสูตรอาหารไก่กระดูกดำสายพันธุ์โครงการหลวง ช่วงอายุ 11-16 สัปดาห์	
สุนัน ตั้งทวิวัฒน์ ปฏิภาณ ฝายทอง และ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล	269
คุณภาพซาก องค์ประกอบเคมี และค่าเสถียรภาพออกซิเดชันของเนื้อไก่ลูกผสมพื้นเมืองของไทยกับไก่ไข่ ไก่พื้นเมืองไทย ไก่ไข่ และไก่กระทุง	
ชลธิ แก้วคุด เจษฎา เรืองสุริยะ และ ศัญชัย จตุรสิทธา	277
ผลของเศษปลาหมักต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสารอาหารของปลานิลแดง (<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>)	
อนุรักษ์ เขียวขจรเขต	287
สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการออกของข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ข้าวอบพอง	
ณัฐมา เหล่ากุลดิกล สุวณันท์ คำปิ่น ธัญเรศ พรหมอินทร์ นภาพันท์ ไชค้ออำนวยพร และ นันทินา คำรุ่งวัฒนกุล	297
ผลของสายพันธุ์และสูตรอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิตลิพิดในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสกุล <i>Chlorella</i>	
ปติรุจ จิรกาลวงศ์ วีระพันธ์ ศรีดอกจันทร์ และ อรุณา ตนะคุลย์	311
การใช้มิวติเลจของเมล็ดแมงลักทดแทนไขมันในน้ำสลัดเพื่อสุขภาพ	
ภรรณิการิ อ่อนสำลี	319

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 300-350 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 ให้ใช้ เป็น 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 ให้ใช้ เป็น Johny and Walker (2004) ... หรือ... (Johny and Walker, 2004) หากมีมากกว่า 3 คน ให้ใช้ เป็น 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 มูทิตา และ ณัฐรา ควบประเสริฐ. 2547. เซลล์พันธุศาสตร์และการถ่ายทอดสีดอกของฟิวเซีย. วารสารเกษตร 20(1): 10-18.
Barcanas, 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 สิริทิกุล และ เขียวลักษณ์ จันทราบง. 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) เรื่องย่อในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องกันเขียน และมีบรรณานุกรม
ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องย่อ. หน้า เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าที่สิ้นสุด. ใน: ชื่อบรรณานุกรม (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. แผลงศัตรูปลาน้ำจืดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 126 หน้า.
- 6) สื่ออิเล็กทรอนิกส์
ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: ชื่อ Website (วันเดือนปีที่สืบค้นข้อมูล).
กรมส่งเสริมการเกษตร. 2548. การปลูกผักแบบไม่ใช้ดิน (ไฮโดรโปนิคส์). (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.dcae.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).

คู่มือคำแนะนำรูปแบบในการใช้ภาษาอังกฤษในเนื้อเรื่องภาษาไทย และการส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์ได้ไม่บกพร่อง

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.(เชี่ยวชาญพิเศษ) ดร. สันชัย จตุรสิทธิ์ธา 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. จีรวรรณ 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
กองบรรณาธิการ ฝ่ายการจัดการ	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
	นางสาวอรณิชาณ์ ปารมี	Onnichia Paramee
	นายมานพ เปี้ยพรรณ	Manop Pearpun

บทบรรณาธิการ

สวัสดีครับท่านผู้อ่านทุกท่าน

วารสารเกษตร ฉบับที่ 2 ปีที่ 34 นี้มีเนื้อหาหลากหลายสาขา จำนวน 15 บทความ มีทั้ง พืชสวน โรคพืช กัญญาวิทยา ส่งเสริมการเกษตร เศรษฐศาสตร์เกษตร สัตวศาสตร์ สัตว์น้ำ และอุตสาหกรรมเกษตร ซึ่งบทความเหล่านี้ล้วนแต่มีเนื้อหาสาระที่ดีมีประโยชน์ ซึ่งสามารถนำไปใช้ได้ในการแปลงหรือฟาร์มของตนเอง จากแผนยุทธศาสตร์ของประเทศไทยใน 20 ปีข้างหน้า รัฐบาลยังคงให้ความสำคัญกับภาคเกษตร แต่จะต้องมีการนำเทคโนโลยีชีวภาพหรือเทคโนโลยีดิจิทัล เพราะสามารถลดแรงงานในภาคเกษตรได้เป็นอย่างมาก เนื่องจากประชากรของประเทศไทย เข้าสู่สังคมผู้สูงอายุเร็วขึ้น การใช้เทคโนโลยีก่อให้เกิดการผลิตที่สามารถควบคุมได้มากขึ้น ซึ่งต่างจากการผลิตในอดีตที่ต้องพึ่งดิน พืช อากาศ แต่การผลิตที่ทำให้เกษตรอิสระ (Smart Farm) จะยังช่วยลดต้นทุนการผลิต และเพิ่มมูลค่าของสินค้าได้เป็นอย่างดี ดังนั้นไม่เพียงแต่เกษตรกรที่ต้องปรับตัว นักวิชาการก็ต้องปรับตัวในแนวทางการวิจัยที่มุ่งผลสัมฤทธิ์ จากการใช้เทคโนโลยีให้มาก เพราะถ้าเราไม่คิด ค้นคว้า ก็จะเป็นเพียงผู้พึ่งพิงเทคโนโลยีจากต่างประเทศตลอด เหมือนที่ผ่านมา ดังนั้นรัฐบาลมุ่งเน้นส่งเสริม สนับสนุน ผลงานวิจัย ที่สามารถนำไปใช้ได้จริงมากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณะผู้วิจัยทุกท่านที่แบ่งปันบทความวิจัยคุณภาพดีมาให้อ่าน จึงหวังว่าคงจะได้ความอนุเคราะห์จากท่านต่อไป

พบกันใหม่ในฉบับหน้าครับ

ศ. (เชี่ยวชาญพิเศษ) ดร. สันชัย จตุรสิทธา

บรรณาธิการวารสารเกษตร

ผลของการควั่นกิ่ง ปุ๋ยทางใบ และสารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินต่อการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนพืชที่สัมพันธ์กับการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์ฮวงฮวยบนพื้นที่สูง

Effects of Girdling, Foliar Fertilizer and Gibberellin Biosynthesis Inhibitors on Changes of Plant Hormones Relating to Flowering of Lychee cv. Hong Huay on Highland

นุดี เจริญกิจ^{1,2} กรวรรณ ศรีงาม³ พิทยา สรวมศิริ¹ และ ดรุณี นภาพรม^{1*}

Nudee Charoenkit^{1,2}, Korawan Sringarm³, Pittaya Sruamsiri¹ and Daruni Naphrom^{1*}

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

²ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนานวัตกรรมศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา, กรุงเทพฯ 10900

²Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand

³ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

³Department of Animal and Aquatic Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: dnaphrom@gmail.com

(Received: 9 October 2017; Accepted: 5 January 2018)

Abstract: The study aims to compare the effect of two gibberellin biosynthesis inhibitors; paclobutrazol and mepiquat chloride on flowering of lychee plants grown on highland (1200 masl) in Chiang Mai province and to analyze the hormonal changes during flower bud development. The experiment was conducted during March to July 2013 with completely randomized design (CRD) consisting of 5 treatments and 5 replications, whereas 1 tree per replication was used. The treatments in this study were 1) control (no treatment), 2) girdling plus foliar fertilizer (0-52-34) at 1% and ethephon at 400 mg/l; 3) girdling plus foliar fertilizer (0-52-34) with ethephon, and paclobutrazol at 3000 mg/l, 4) girdling plus foliar fertilizer (0-52-34) with ethephon, and mepiquat chloride at 2500 mg/l, 5) girdling plus foliar fertilizer (0-52-34) with a combination of ethephon, paclobutrazol, and mepiquat chloride. The result showed that treatment 5 (the combination of girdling plus foliar fertilizer (0-52-34), ethephon, paclobutrazol, and mepiquat chloride) gave the highest percentage of flowering even under warm temperature of July. The treatment could inhibit flushing, decrease auxin accumulation, but promote biosynthesis and transportation of cytokinins (iP/iPA and Z/Zr) in leaves and apical buds, which consequently induce flowering.

Keywords: Lychee, flower induction, ELISA, auxin, cytokinins

บทคัดย่อ: ดำเนินการวิจัยทดสอบการใช้สารยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลิน 2 ชนิด คือ พาโคลบิวทราโซล และ เมพิควอทคลอไรด์ เพื่อช่วยให้ต้นลิ้นจี่ออกดอกแม้เมื่อสภาพความหนาวเย็นของอากาศไม่เพียงพอ โดยศึกษากับต้นลิ้นจี่พันธุ์สูง-ฮวย ปลูกบนพื้นที่สูง 1,200 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมีนาคม ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2556 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ โดยให้ 1 ต้น เป็น 1 ซ้ำ ดังนี้ 1) ควบคุม (control) 2) ควั่นกิ่งร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-34 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมเอทธิฟอน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร 3) ควั่นกิ่งร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-34 ผสมเอทธิฟอน และพาโคลบิวทราโซล 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร 4) ควั่นกิ่งร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-34 ผสมเอทธิฟอน และเมพิควอทคลอไรด์ 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 5) ควั่นกิ่งร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-34 ผสมเอทธิฟอน พาโคลบิวทราโซล และเมพิควอทคลอไรด์ พบว่ากรรมวิธีที่ 5 (ควั่นกิ่ง ร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-34 ผสมเอทธิฟอน พาโคลบิวทราโซล และเมพิควอทคลอไรด์) ให้ผลดีที่สุดในการส่งเสริมการออกดอกของลิ้นจี่ได้ในเดือนกรกฎาคมแม้อุณหภูมิอากาศจะไม่หนาวเย็น โดยกรรมวิธีดังกล่าวสามารถชะลอการผลิยอดใหม่ ลดการสังเคราะห์และสะสมออกซิน ในขณะที่ส่งเสริมการสร้างและเคลื่อนย้ายไซโตไคนินรูป iP/PA และรูป Z/Zr ที่ใบและตายอดให้เพิ่มสูงขึ้น น่าจะมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดในการส่งเสริมการเปลี่ยนตายอดจากตาใบไปตายอดและพัฒนาไปเป็นช่อดอกที่สมบูรณ์ได้

คำสำคัญ: ลิ้นจี่ การชักนำการออกดอก ELISA ออกซิน ไซโตไคนิน

คำนำ

สภาวะโลกร้อนกำลังส่งผลกระทบต่อพฤติกรรมของการออกดอกของลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.) ที่โดยปกติจะต้องการอุณหภูมิต่ำกว่า 17 องศาเซลเซียสต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 39 วัน หรือ 4 สัปดาห์เป็นอย่างน้อย จึงจะสามารถออกดอกได้ดี (Chen *et al.*, 2016; Ding *et al.*, 2015) ด้วยเหตุนี้เมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำไม่เพียงพอลิ้นจี่จึงประสบปัญหาการออกดอกไม่สม่ำเสมอหรือไม่ออกดอกเลย จากการศึกษาในระยะที่ผ่านมาเพื่อชักนำการออกดอกของลิ้นจี่แม้ในสภาวะอากาศไม่เหมาะสม การควั่นกิ่ง และการพ่นทางใบด้วยปุ๋ยที่มีธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมสูง เช่น 0-52-34 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับเอทธิฟอน 400-800 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมการออกดอกของลิ้นจี่ที่ปลูกในพื้นที่ภูเขาได้ แต่ยังคงต้องการอากาศเย็นร่วมด้วย (นุติ และพิทยา, 2554; อรทัย และคณะ, 2555) อย่างไรก็ตามภายใต้สภาวะการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศของโลกตามที่เป็นอยู่ในปัจจุบันนี้ สภาวะอุณหภูมิต่ำที่จะช่วยเสริมประสิทธิภาพให้กับการควั่นกิ่งและการพ่นปุ๋ยผสมเอทธิฟอนดังกล่าวข้างต้น ดูเหมือนจะเป็นความไม่แน่นอนของการทำสวนลิ้นจี่ต่อไป จึงควรที่จะได้ศึกษาหาแนวทาง

แก้ไขเพิ่มเติมต่อไปอีก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้สารที่ช่วยยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ที่มีรายงานความสำเร็จในการส่งเสริมการออกดอกในมะม่วง และในไม้ผลหลายชนิดในไทย (ธัญวรรณ์ และดรุณี, 2559; Moreira *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016)

ในเชิงสรีรวิทยาพืช สารเหล่านี้จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนพืชในช่วงการพัฒนาตายอดไปเป็นตาดอก ที่สำคัญ ได้แก่ สารในกลุ่มออกซิน (Indole-3-acetic acid, IAA) กลุ่มจิบเบอเรลลิน (GA_3) และกลุ่มไซโตไคนิน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง zeatin/zeatin riboside (Z/Zr) และ N^6 (Δ^2 -Isopentenyl) adenine N^6 (Δ^2 -Isopentenyl) adenosine (iP/iPA) โดยกลุ่มออกซิน (IAA) และกลุ่มจิบเบอเรลลิน (GA_3) มีผลยับยั้งการพัฒนาตาดอก ในขณะที่การพัฒนาตาดอกจะเกิดได้ดีเมื่อตายอดสะสมสารกลุ่ม Z/Zr และ iP/iPA จำนวนมาก (จิราภรณ์ และคณะ, 2560; Charoenkit *et al.*, 2015; Kang *et al.*, 2017) โดย Sringarm *et al.* (2009) และ Potchanasin *et al.* (2009) สรุปว่าการเพิ่มขึ้นของไซโตไคนินกลุ่ม Z/Zr บริเวณตายอดนั้นเกิดจากการเคลื่อนย้าย iP/iPA ออกจากใบเมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำ โดยเคลื่อนย้ายร่วมกับน้ำตาลจากการสังเคราะห์แสงไปในท่ออาหาร (phloem) จากใบสู่ตายอด ซึ่งต่อมา iP/iPA จะถูกเปลี่ยน

รูปเป็น Z/Zr และสะสมที่ตายอดทำให้ต้นลำไยออกดอกได้
ในกรณีของลินจี่ยังไม่มีการรายงานความสำเร็จ
ในการใช้สารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินในการ
กระตุ้นการออกดอกของลินจี่อย่างเป็นรูปธรรม และยัง
ขาดความเข้าใจอย่างชัดเจนเกี่ยวกับความเชื่อมโยงของ
การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนพืชที่สัมพันธ์กับพฤติกรรมการ
ออกดอก ซึ่งองค์ความรู้ทางสรีรวิทยานี้จะมีประโยชน์
อย่างมากในการใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการเพื่อ
ส่งเสริมการออกดอกอย่างสม่ำเสมอของลินจี่ในแปลง
ปลูกภายใต้สภาวะความเสี่ยงจากความไม่แน่นอนของ
ภูมิอากาศของโลกในระยะยาวต่อไปได้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมพืชทดลอง

คัดเลือกต้นลินจี่พันธุ์สูงฮวยอายุ 16 ปี ที่มีขนาด
ทรงพุ่ม 2.5-3 เมตร สูง 2-2.5 เมตร ปลูกบนพื้นที่สูงที่
ระดับความสูง 1,200 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล ณ แปลง
ทดลองบ้านแม่สาใหม่ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม
จังหวัดเชียงใหม่ แล้วตัดแต่งปลายกิ่งเพื่อกระตุ้นการแตก
ใบอ่อน พร้อมปรับสภาพความเป็นกรดด่างของดินบริเวณ
โคนต้นโดยการหว่านโดโลไมท์ให้ทั่วทรงพุ่มอัตรา 1-1.5
กิโลกรัมต่อต้น จากนั้นประมาณ 15-20 วันหลังจากตัด
แต่งกิ่ง ต้นลินจี่จะเริ่มแตกยอดใหม่ให้บำรุงรักษาต้นพืช
โดยพ่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (อะบาเม็กติน และอาบี-
ทราซ) และให้ปุ๋ยผสม (46-0-0 : 15-15-15 อัตรา 1:1)
ปริมาณ 1 กิโลกรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยคอก (มูลวัวแห้ง)
อัตรา 5 กิโลกรัมต่อต้น

2. วิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนมีนาคม ถึง
เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2556 โดยเปรียบเทียบผลกระทบ
ของสารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินจำนวน 2 ชนิด ได้แก่
พาโคลบิวทราโซล และเมพิควอทคลอไรด์ ร่วมกับการควั่น
กิ่ง และพ่นปุ๋ยใบต่อการออกดอก และการเปลี่ยนแปลง
ฮอร์โมนพืช วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี
5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ โดยให้ต้นลินจี่ 1 ต้น เป็น 1
ซ้ำ ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (control)
กรรมวิธีที่ 2 ควั่นกิ่ง ร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-
34 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมเอทิล-
ฟอน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร (G+F+E)
กรรมวิธีที่ 3 ควั่นกิ่ง ร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-
34 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมเอทิล-
ฟอน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร และพาโคล-
บิวทราโซล 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
(G+F+E+P)
กรรมวิธีที่ 4 ควั่นกิ่ง ร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-
34 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมเอทิล-
ฟอน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมพิ-
ควอทคลอไรด์ 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร
(G+F+E+M)
กรรมวิธีที่ 5 ควั่นกิ่ง ร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-
34 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมเอทิล-
ฟอน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร พาโคลบิว-
ทราโซล 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ
เมพิควอทคลอไรด์ 2,500 มิลลิกรัมต่อ-
ลิตร (G+F+E+P+M)

ควั่นกิ่งพืชทดลองเมื่อใบอ่อนชุดสุดท้ายเข้าสู่
ระยะใบเพสลาด โดยใช้เลื่อยควั่นกิ่งบริเวณที่แตกออกมา
จากกิ่งหลัก และมีส่วนกลมที่สุด ให้พินเลื่อยทะลุเปลือก
ไปถึงเนื้อเยื่อเจริญเท่านั้น (ลึกประมาณ 1-1.5 มิลลิเมตร)
เริ่มทำการพ่นทางใบด้วยสารต่าง ๆ ของแต่ละกรรมวิธี
เมื่อ 17 วัน หลังจากการควั่นกิ่ง และพ่นซ้ำอีกสองครั้ง เว้น
ระยะเวลาแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน

3. การบันทึกผลการทดลอง

3.1) ข้อมูลทางกายภาพ

บันทึกภาพและข้อมูลพฤติกรรมและการเจริญเติบโต
ของใบและตายอดตลอดช่วงการทดลอง สุ่มผูกป้ายที่ยอด
ลินจี่ที่มีขนาด และระยะพัฒนาการของตายอดใกล้เคียง
กัน กรรมวิธีละ 20 ยอดต่อต้น เพื่อติดตามบันทึก
เปอร์เซ็นต์การออกดอก ลักษณะช่อดอก (ช่อดอกล้วน ช่อ
ดอกปนใบ) รวมทั้งศึกษาคุณภาพของช่อดอก (ขนาดช่อ
ดอก จำนวนดอกต่อช่อ และเพศดอก)

3.2) การเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของตายอดลันจ์

สุ่มเก็บตัวอย่างตายอดลันจ์จำนวน 5 ยอดต่อต้นในแต่ละกรรมวิธี ในวันที่ 0, 21, 35, 49, 77 และ 91 นับจากวันที่ควั่นกิ่ง จากนั้นนำตัวอย่างไปตายอดแช่ในน้ำยารักษาสภาพ (formalin-acetic acid alcohol, FAA) ทันทีก่อนนำมาตัด section เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของตายอดโดยวิธี paraffin embedding ซึ่งดัดแปลงวิธีการจาก Johansen (1940) และย้อมสีด้วย 1% w/v safranin O ปิด cover slip บนกระจกสไลด์โดยใช้ permount บันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10x

3.3) การเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนพืช

(1) สุ่มเก็บตัวอย่างพืชบริเวณตายอด และใบ (ใบประกอบคู่ที่ 1 และ 2) ของแต่ละกรรมวิธีในวันที่ 0, 21, 35, 49, 77 และ 91 นับจากวันที่ควั่นกิ่ง จำนวน 20 ยอดต่อต้น จุ่มตัวอย่างพืชในไนโตรเจนเหลวทันทีเพื่อหยุดกระบวนการเมแทบอลิซึมในเนื้อเยื่อพืช จากนั้นทำตัวอย่างให้แห้งภายใต้ความเย็นจัดโดยใช้ freeze dryer และเก็บรักษาตัวอย่างพืชแห้งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

(2) สกัดฮอร์โมนจากเนื้อเยื่อพืช กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ และทำให้สารละลายที่สกัดได้บริสุทธิ์ (purification) โดยวิธีของ Sringarm (2008)

(3) ตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนพืช ได้แก่ ไซโตไคนิน (iP/iPA และ Z/Zr) และออกซิน (IAA) กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ด้วยเทคนิค competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (ปริญญาภรณ์, 2552)

3.4) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ด้วยโปรแกรม Statistix for Windows version 8 (Stat Soft Inc., Tulsa, OK, USA) โดยใช้ least significant difference (LSD) test ที่ระดับความเชื่อมั่น $P \leq 0.05$

ผลการทดลอง

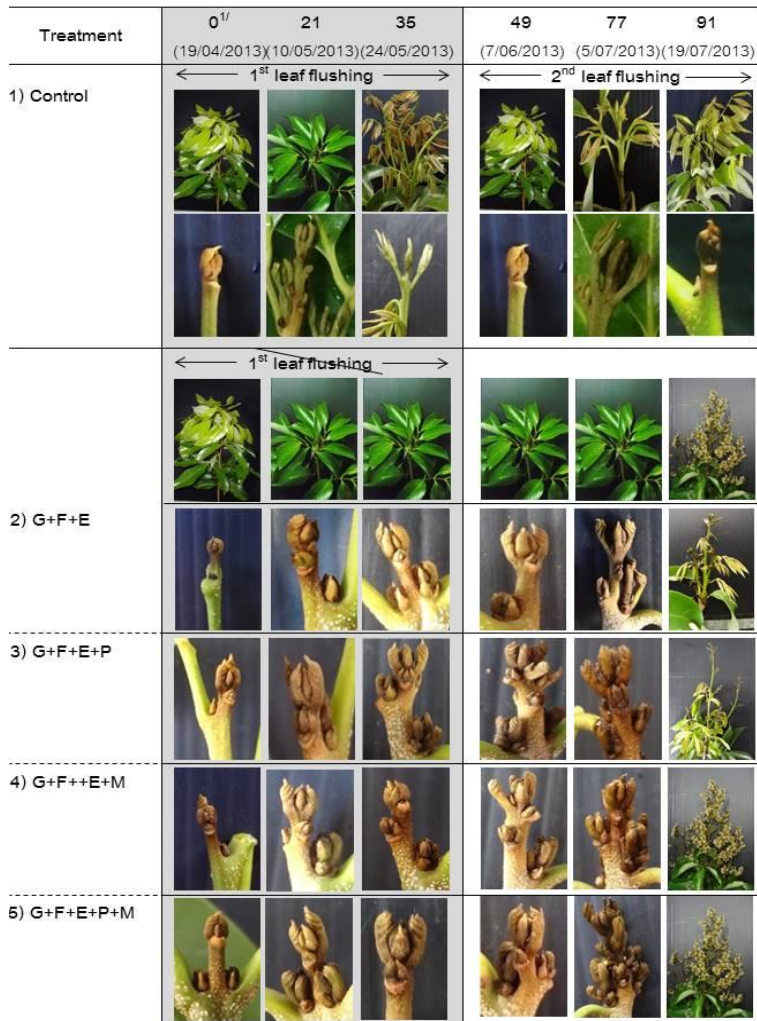
1. ผลกระทบของสารยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลินต่อพฤติกรรมการแตกใบอ่อนและพัฒนาการของตายอด

สำหรับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งเป็นกรรมวิธีเดียวที่ไม่มีการควั่นกิ่ง พบว่า ต้นลันจ์จะเริ่มแตกใบอ่อนชุดแรกหลังจากวันที่ควั่นกิ่งต้นลันจ์ในกรรมวิธีอื่น ๆ ได้ 21 วัน และยอดจะพัฒนาจนเป็นใบสมบูรณ์สีแดงในวันที่ 45 หลังจากนั้นจะมีการแตกใบอ่อนครั้งที่สองเมื่อ 77 วัน ซึ่งเมื่อพิจารณาลักษณะพัฒนาการของตายอด พบว่า ตายอดมีการเจริญเติบโตเป็นตาขนาดเล็กตามปกติและพัฒนาต่อเนื่องตามจังหวะการแตกยอดอ่อน โดยไม่พบว่ามีกาออกรดอก (ภาพที่ 1)

ในขณะที่กรรมวิธีที่ 2 ถึงกรรมวิธีที่ 5 ไม่พบการแตกใบอ่อนหลังการควั่นกิ่ง ใบของทุกยอดจะคงสภาพใบแก่ และหยุดการเจริญเติบโตจนเมื่อ 91 วันหลังควั่น โดยจะมีการแทงช่อดอกให้เห็นชัดเจน ในขณะที่การเจริญเติบโตของตายอดจะเริ่มมีลักษณะบวมใหญ่ขึ้นตั้งแต่เมื่อ 21 วันหลังการควั่นกิ่ง มีสีน้ำตาลเข้มขึ้นเรื่อย ๆ และนับจาก 35 วันหลังควั่นกิ่งจะพบการแตกตาข้างจำนวนมาก จากนั้นเมื่อ 77 วันหลังควั่นกิ่งตายอดจะยืดยาวจนเป็นช่อดอกที่มองเห็นได้ชัดเจนในวันที่ 84-91 หลังควั่นกิ่ง

2. ผลกระทบของสารยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลินต่อพฤติกรรมการออกดอก

ศึกษาผลกระทบของกรรมวิธีที่ศึกษาต่อพฤติกรรมการออกดอกใน 3 ประเด็น ได้แก่ จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก เปอร์เซ็นต์การออกดอก และคุณภาพของช่อดอก (ตารางที่ 1) พบว่า นอกจากกรรมวิธีที่ 1 ที่ต้นลันจ์ไม่ออกดอกแล้ว กรรมวิธีที่ 2-5 ใช้เวลาใกล้เคียงกันในการแทงช่อดอก คือ 84-91 วันหลังการควั่น ในส่วนของเปอร์เซ็นต์การออกดอก พบว่า กรรมวิธีที่ 4 (G+F+E+M) และกรรมวิธีที่ 5 (G+F+E+P+M) สามารถชักนำให้ต้นลันจ์ออกดอกได้มากที่สุดสูงถึง 76.66-80.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีที่ 2 (G+F+E) และกรรมวิธีที่ 3 (G+F+E+P) มีเปอร์เซ็นต์การออกดอกเฉลี่ยน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น



^{1/} Days after girdling

Figure 1. Development of apical buds and young shoots of lychee as affected by girdling plus foliar fertilizer and paclobutrazol and/or mepiquat chloride

ทั้งนี้จำนวนดอกเฉลี่ยในแต่ละข้อของทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีจำนวนดอกเฉลี่ย 391.22-526.91 ดอก

ในส่วนของคุณภาพของช่อดอก (ตารางที่ 1) พบว่า กรรมวิธีที่ 5 (G+F+E+P+M) มีเปอร์เซ็นต์ช่อดอกที่มีลักษณะเป็นดอกกลั่นมากที่สุด สูงถึง 81.81 เปอร์เซ็นต์ มากกว่ากรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารยับยั้งจิบเบอเรลลินเดี่ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีมีขนาดของช่อดอกไม่แตกต่างกัน โดยมีความกว้างเฉลี่ย 11.83-16.15 เซนติเมตร และยาวเฉลี่ย 21.69-25.28 เซนติเมตร

3. ผลกระทบของสารยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลินต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของตายอด

เมื่อพิจารณาผลของกรรมวิธีศึกษาต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของตายอดของลิ้นจี่ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา 91 วันหลังจากการควั่น ดังแสดงเปรียบเทียบในภาพที่ 2 จะเห็นได้ว่าในขณะที่กรรมวิธีที่ 1 ซึ่งไม่ออกดอกจะไม่พบการสร้างจุดกำเนิดตาดอก (floral primordia) บริเวณตาข้าง (axillary bud) ตลอดระยะเวลา 91 วัน โดยบริเวณเนื้อเยื่อเจริญของกรรมวิธีที่ 1 จะมีลักษณะเป็นแหลม และยืดยาวพัฒนาไปเป็นใบอ่อน ในขณะที่ตายอดของต้นลิ้นจี่ในกรรมวิธีที่ 2-5 มี

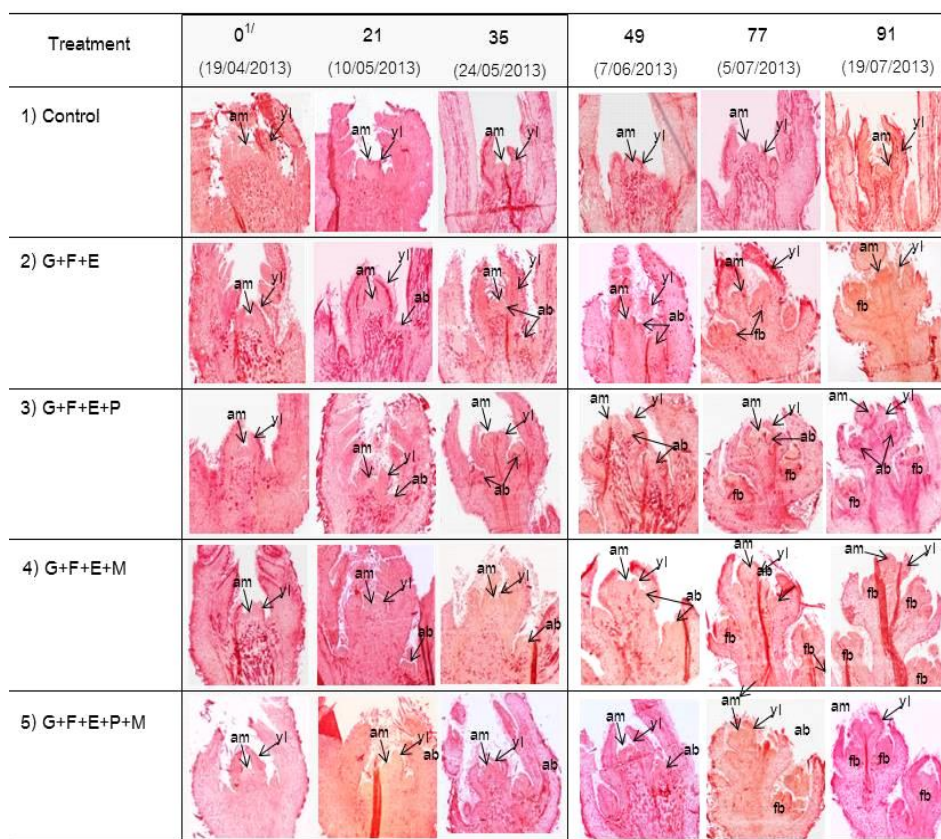
พัฒนาการที่แตกต่างออกไป โดยเริ่มสร้างจุดกำเนิดตา
ดอก ในวันที่ 21 หลังควั่นกิ่ง และเริ่มเห็นจุดกำเนิดตาดอก

ชัดเจนยิ่งขึ้นในวันที่ 35 หลังควั่นกิ่ง จากนั้นจะพัฒนา
อย่างต่อเนื่องจนเป็นช่อดอกในวันที่ 91 หลังควั่นกิ่ง

Table 1. Effect of girdling plus foliar fertilizer and paclobutrazol and mepiquat chloride on flowering behavior and quality of flower panicles of lychee

Treatment	Days to flowering (Days)	Flowering (%)	Flower number per panicle	Panicle types (%)		Flower size (cm)	
				Full flower	Leafy flower	Width	Length
Control	No flowering	0 c ¹	0 b	0 d	0 d	0 b	0 b
G+F+E	91	21.33 b	523.11 a	25.83 bc	74.17 ab	14.56 a	21.84 a
G+F+E+P	84	30.00 b	391.22 a	36.54 b	63.35 b	11.83 a	21.69 a
G+F+E+M	84	76.66 a	526.91 a	17.50 c	82.49 a	14.59 a	24.27 a
G+F+E+P+M	84	80.00 a	448.31 a	81.81 a	27.27 c	16.15 a	25.28 a
Significant	-	*	*	*	*	*	*

¹Means with the same letter within column are not significantly different at $P \leq 0.05$ by LSD test



^{1/} Days after girdling

Figure 2. Change of buds development as affected by girdling plus foliar fertilizer and paclobutrazol and/or mepiquat chloride (ab = axillary bud, am = apical meristem, fb = inflorescence bud, yl = young leaf)

4. ผลกระทบของสารยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลินต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนพืช

การศึกษาลักษณะของกรรมวิธีศึกษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนพืช ได้แก่ ออกซิน (IAA) และไซโตไคนิน (iP/iPA และ Z/Zr) ในเนื้อเยื่อใบและตายอดของลิ้นจี่ ดำเนินการอย่างต่อเนื่อง โดยเน้นเฉพาะตั้งแต่เริ่มการทดลอง (วันที่ 0 หลังควั่นกิ่ง) ไปจนถึงระยะเมื่อเริ่มพบการเปลี่ยนแปลงตายอดไปเป็นตาดอก คือ วันที่ 21, 35 และ 49 หลังควั่นกิ่ง ซึ่งจากการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณฮอร์โมนพืชในแต่ละช่วงเวลาที่มีการเปลี่ยนแปลงของตาดังกล่าวสำหรับฮอร์โมนออกซิน และไซโตไคนินจะแตกต่างกัน ดังนี้

4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิน (IAA)

ในวันที่ทำการควั่นกิ่ง (วันที่ 0) ใบพืชของทุกกรรมวิธีอยู่ในระยะใบเพสลาด ปริมาณ IAA ในใบของทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน จากนั้นปริมาณ IAA ในใบของกรรมวิธีควบคุม (control) จะเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 21 ซึ่งอยู่ในระยะแตกใบอ่อนครั้งที่ 1 และจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจนถึงวันที่ 49 ในขณะที่กรรมวิธีที่ 2-5 พบว่าส่วนยอดจะพักตัว ไม่มีการแตกใบอ่อน แต่จะออกดอก ปริมาณ IAA ในใบจะลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่แตกใบอ่อน ส่วนผลกระทบของกรรมวิธีศึกษา

ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ IAA ในตายอด พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกันกับเนื้อเยื่อใบดังกล่าวข้างต้น (ภาพที่ 3)

4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนิน (iP/iPA และ Z/Zr)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณไซโตไคนินทั้ง iP/iPA และ Z/Zr (ภาพที่ 4) เป็นไปในทิศทางเดียวกัน และสอดคล้องกับพัฒนาการของตายอดของต้นลิ้นจี่ โดยในกรณีของ iP/iPA พบว่า ในวันที่ 0 ทั้งใบและตายอดมีระดับ iP/iPA ของทุกกรรมวิธีอยู่ในระดับต่ำมากและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากนั้นในช่วงเวลาระหว่างวันที่ 21-49 หลังการควั่นกิ่ง ปริมาณ iP/iPA ในใบและตายอดของกรรมวิธีที่ 1 (กรรมวิธีควบคุม) เพิ่มขึ้นบ้างเล็กน้อย และมีแนวโน้มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดการทดลอง ในขณะที่ปริมาณ iP/iPA ของกรรมวิธีที่ 2-5 จะเพิ่มสูงขึ้นมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เริ่มตั้งแต่วันที่ 21 หลังควั่นกิ่ง และจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 49 หลังควั่นกิ่ง ส่วน Z/Zr ในกรรมวิธีที่ 2-5 ไซโตไคนินจะเริ่มเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 21 หลังควั่นกิ่ง ทั้งในใบและตายอด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรรมวิธีที่ 5 จะมีปริมาณ Z/Zr เพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่นที่มีการออกดอกเช่นเดียวกัน

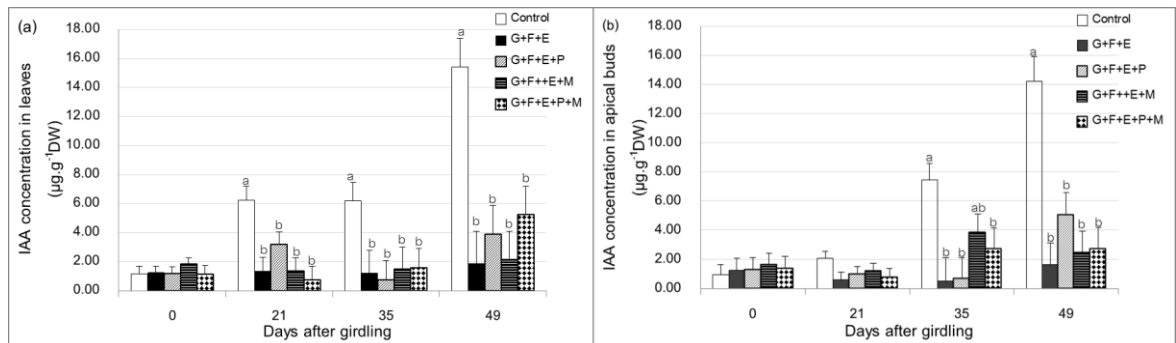


Figure 3. IAA concentration in leaves (a) and apical buds (b) as affected by girdling plus foliar fertilizer and paclobutrazol and/or mepiquat chloride

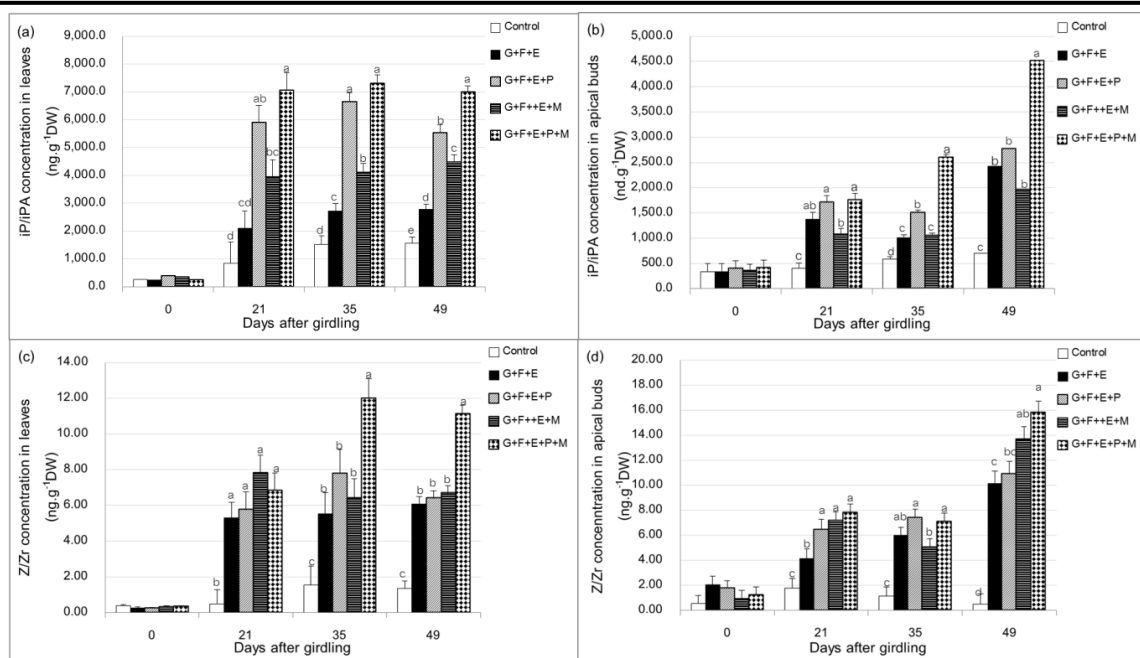


Figure 4. Changes of iP/iPA (a-b) and Z/Zr (c-d) concentration in leaves and apical buds as affected by girdling plus foliar fertilizer and paclobutrazol and/or mepiquat chloride

วิจารณ์

1. แนวทางการใช้สารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินเพื่อส่งเสริมการออกดอกของลิ้นจี่

ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาสามสิบปีที่ผ่านมา การผลิตลิ้นจี่ในประเทศไทยนิยมการควั่นกิ่งในระยะก่อนการออกดอกเพื่อกระตุ้นให้ต้นพืชออกดอกติดผลได้ดีขึ้น ซึ่งก็เป็นคำแนะนำจากการวิจัยที่พบว่า การควั่นกิ่งจะช่วยให้ต้นลิ้นจี่สะสมอาหารไว้เหนือรอยควั่น ทำให้ตายอดสมบูรณ์พร้อมที่จะตอบสนองต่ออากาศหนาวเย็นและออกดอกได้ดี (Chen *et al.*, 2016; Ding *et al.*, 2015) ต่อมาการใช้ปุ๋ยที่มีธาตุฟอสฟอรัสสูงมาส่งเสริมให้ไม้ผลออกดอกมากขึ้น เนื่องจากจะไปยับยั้งการแตกใบอ่อน ตายอดมีการพักตัว และมีการสะสมอาหารได้มากขึ้น ส่งผลให้ออกดอกได้ดี มีการประยุกต์ใช้อย่างประสบความสำเร็จในแปลงปลูกไม้ผลประเภทมะม่วง พุริณ มังคุด และไม้ผลเมืองหนาวบนพื้นที่ภูเขาอีกด้วย ซึ่งในกรณีของลิ้นจี่ นุติ และพิทยา (2554) และ อรทัย และคณะ (2555) พบว่า การควั่นกิ่ง และการพ่นทางใบด้วยปุ๋ยที่มีธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมสูง เช่น 0-52-34 เข้มข้น

1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกันเอทีฟอน 400-800 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมการออกดอกของลิ้นจี่ที่ปลูกในพื้นที่ภูเขาได้ดีกว่ากรรมวิธีควั่นกิ่งและพ่นปุ๋ย 0-52-34 ทางใบ ในกรณีนี้สารเอทีฟอนสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการควั่นกิ่งและปุ๋ยฟอสฟอรัสในการกระตุ้นตาออก โดยยังต้องมีสภาพอากาศหนาวเย็นร่วมด้วย

ดังได้กล่าวข้างต้น ปัจจุบันสภาพภูมิอากาศบนพื้นที่ภูเขาภาคเหนือของไทยมีความแปรปรวนมาก จึงทำให้ต้องมีการศึกษาแนวทางใหม่ ๆ ที่สามารถส่งเสริมการออกดอกของไม้ผลแม้ในสภาวะภูมิอากาศไม่เอื้ออำนวยอย่างที่กำลังเป็นอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งแนวทางหนึ่งที่ได้รับการยืนยันจากการทดลองนี้ คือ การใช้สารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ประเภทพาโคลบิวทราโซล และเมพิควอทคลอไรด์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของมะลิ-วรรณ และคณะ (2557) ที่พบว่า สารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน และคลอไมควอทคลอไรด์สามารถชะลอการแตกใบและส่งเสริมการออกดอกได้ในมะม่วง Zhang *et al.* (2016) รายงานสารเหล่านี้นอกจากจะชะลอการสร้างจิบเบอเรลลินแล้วยังส่งผลลดการสะสมออกซินในเนื้อเยื่อพืชด้วย สารเหล่านี้จะลดการสร้างจิบเบอเรลลินด้วย

เช่นกัน แต่มีกระบวนการการทำงานแตกต่างกัน โดยพาโคลบิวทราโซลเป็นสารในกลุ่ม triazoles ที่มีผลยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันของ ent-kaurene เป็น ent-kaureic acid ที่กระตุ้นโดย P450 monooxygenases ในกระบวนการสังเคราะห์ GA₃ ในระยะที่ 2 ทำให้ไม่มีการสร้าง GA₁₂-aldehyde ในขณะที่เมพิควาตคลอไรด์เป็นกลุ่มสารประกอบพวกรอนิอัม มีผลยับยั้งกระบวนการสร้าง GA₃ ในขั้นตอนการเปลี่ยน geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) ไปเป็น ent-kaurene โดยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ copalyl diphosphate synthase และ ent-kaurene synthase (Rademacher, 2000)

สำหรับผลของสารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินต่อพฤติกรรมการออกดอกของลิ้นจี่ พบว่า กรรมวิธีที่ 3 จะมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกไม่แตกต่างกันกับกรรมวิธีที่ 2 โดยกรรมวิธีที่สามารถส่งเสริมการออกดอกได้ดี คือ กรรมวิธี 4 และ 5 ที่สามารถส่งเสริมการออกดอกได้สูงที่สุดถึง 80.00 เปอร์เซ็นต์ และมีช่อดอกล้วนสูงที่สุดถึง 81.81 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพของพาโคลบิวทราโซลไม่เด่นชัดในการทดลองนี้ น่าจะมาจากวิธีการใช้สารที่เป็นกรดไขมันให้ทางใบ ปกติสารพาโคลบิวทราโซลจะถูกดูดซับได้ดีด้วยระบบราก และเคลื่อนที่เข้าสู่ส่วนต่าง ๆ ของต้นพืชผ่านทางท่อลำเลียงน้ำ (xylem) ได้ดีกว่าการดูดซึมทางใบ จึงทำการให้การรดทางดินมีประสิทธิภาพการยับยั้งการแตกใบอ่อนได้ดีกว่าการพ่นทางใบ (จริญญา และครุณี, 2553)

2. ผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนพืชที่สัมพันธ์กับพัฒนาการของตายอดและการออกดอก

โดยสรุปอาจกล่าวได้ว่า กรรมวิธีที่ 5 (G+F+E+M+P) ให้ผลดีที่สุดในการส่งเสริมการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์สงขลานครินทร์ที่ปลูกบนพื้นที่ภูเขาในจังหวัดเชียงใหม่ ด้วยกรรมวิธีดังกล่าวต้นลิ้นจี่สามารถออกดอกได้ดีมากแม้อุณหภูมิอากาศจะไม่หนาวเย็น (โดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 23.8 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 39.0 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 17.6 องศาเซลเซียส) ทั้งนี้โดยกรรมวิธีที่จัดการต้นพืชดังกล่าวข้างต้นจะไม่มีผลต่อทั้งพัฒนาการของตายอดและการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนในเนื้อเยื่อพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย

ในภาพที่ 5 เป็นการนำรูปแบบการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมน IAA และไซโตไคนินของใบและตายอดของกรรมวิธีที่ไม่ออกดอก (กรรมวิธีควบคุม) มาเปรียบเทียบกับที่ออกดอกดีที่สุด (กรรมวิธีที่ 5 G+F+E+M+P) จะเห็นได้ว่าในกรณีของกรรมวิธีควบคุม ที่มีการผลิทยอดใหม่ในวันที่ 21 หลังเริ่มการทดลอง และตายอดจะยืดยาวเป็นใบอ่อนชัดเจนในวันที่ 35 โดยปริมาณ IAA ทั้งในใบและในตายอดเพิ่มสูงขึ้นต่อเนื่องจนถึงวันที่ 49 และมีปริมาณสูงกว่าในเนื้อเยื่อจากต้นที่มีการออกดอกดีที่สุด (กรรมวิธีที่ 5) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นที่น่าสังเกตว่าในวันที่ 21 หลังการควั่นกิ่งที่ตรงกับกระบวนการแตกใบอ่อนชุดที่ 1 ปริมาณ IAA จะเริ่มเพิ่มมากขึ้นในใบก่อน ต่อมาในวันที่ 35-49 จึงเพิ่มมากขึ้นในตายอด ผลการทดลองนี้ยืนยันรายงานของ

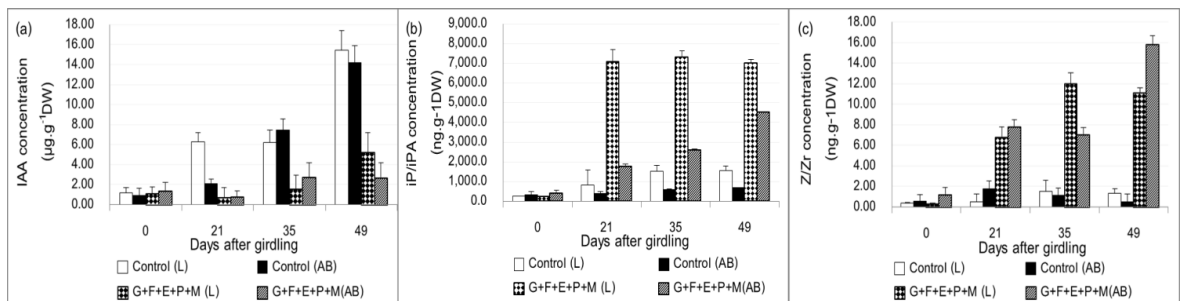


Figure 5. Changes of auxin (a) and cytokinin (iP/iPA; b and Z/Zr; c) in leaf (L) and apical bud (AB) of flushing treatment (control) and flowering treatment as affected by girdling plus foliar fertilizer and paclobutrazol and mepiquat chloride (G+F+E+P+M)

Charoenkit *et al.* (2015) ที่กล่าวว่า IAA จะเริ่มสังเคราะห์ที่ใบอ่อนแล้วส่งออกไปยังตายอด ในส่วนของผลกระทบของกรรมวิธีศึกษาต่อการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนไซโตไคนินพบว่า ในกรรมวิธีควบคุม ต้นลั่นจี่สังเคราะห์และสะสมไซโตไคนินในใบและตายอดน้อยมาก ทั้งในรูป iP/iPA และรูป Z/Zr และไม่แตกต่างกันในวันที่ 0 ในทางกลับกันในการกรรมวิธีที่ออกดอก ตั้งแต่เมื่อ 21 วันหลังควั่น (ตายอดพักตัว) ไปจนถึงวันที่ 35-49 (ตายอดเริ่มมีการบวมเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม และมีการแตกตาข้างจำนวนมาก) พบว่า มีการเพิ่มขึ้นของไซโตไคนินทั้ง 2 รูปแบบต่อเนื่อง โดยมีแนวโน้มค่อนข้างชัดเจนว่ารูป iP/iPA จะเพิ่มขึ้นในใบมากกว่าในตาดอก และในปริมาณค่อนข้างมากตั้งแต่วันที่ 21 หลังควั่นถึง ส่วนรูป Z/Zr จะเพิ่มช้ากว่า และจะเพิ่มมากที่ตายอดมากกว่าที่ใบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวันที่ 49 ที่พบการพัฒนาของตายอดไปเป็นตาดอกเรียบร้อยแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Potchanasin *et al.* (2009) และ Sringarm *et al.* (2009) ที่พบว่า การเพิ่มขึ้นของ Z/Zr มักจะขึ้นอยู่กับปริมาณของ iP/iPA ที่สะสมอยู่ในใบแก่ และเคลื่อนที่ไปยังตายอดผ่านท่ออาหารเพื่อเปลี่ยนรูปจาก iP/iPA ไปเป็น Z/Zr โดย iP/iPA จะถูกไฮโดรไลซ์บริเวณ isoprenoid side chain ด้วยเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenase และเอนไซม์ชนิดนี้ต้องการ NADPH เป็น co-factor อีกทั้งการเพิ่มขึ้นของปริมาณ Z/Zr ที่ปลายยอดและใบอาจเกิดจากการไฮโดรไลซ์ไซโตไคนินที่จับกับสารโมเลกุลอื่นในรูป conjugated form (inactive cytokinin) ให้อยู่ในรูป active cytokinin ซึ่งน่าจะมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดต่อกระบวนการส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงตายอดให้พัฒนาไปเป็นตาดอกได้

3. แนวทางการนำไปใช้ประโยชน์ในการส่งเสริมการออกดอกของลั่นจี่พันธุ์อื่น และไม้ผลชนิดอื่น ๆ

ในกรณีของลั่นจี่ในการทดลองนี้ ได้แสดงให้เห็นถึงชุดการจัดการเพื่อส่งเสริมการออกดอกที่ประสบผลสำเร็จ ประกอบด้วย การควั่นกิ่ง ร่วมกับพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-34 ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมเอทธิฟอน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร พาโคลบิวทราโซล 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมพิควอทคลอไรด์ 2,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ส่งผลชัดเจนในการยับยั้งการเจริญเติบโตทางกิ่งใบ

ส่งเสริมให้ตายอดมีระยะเวลาในการพักตัว เพื่อเตรียมพร้อมต่อการออกดอก โดยพาโคลบิวทราโซล และเมพิควอทคลอไรด์ มีผลต่อการลดการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินที่ส่งผลเป็นลูกโซ่ต่อเนื่องไปทำให้ปริมาณออกซิน (IAA) ลดลง ซึ่งชุดของการจัดการดังกล่าวนี้น่าจะใช้ได้ดีกับลั่นจี่พันธุ์อื่น ๆ ด้วย แต่ในกรณีที่ต้องการนำไปใช้กับไม้ผลชนิดอื่น อาจมีประเด็นที่จะต้องพิจารณาความเหมาะสมใน 2 ส่วน ได้แก่ ความสามารถของไม้ผลชนิดนั้นในการฟื้นฟูตนเองจากการควั่นกิ่ง เช่น การสมานแผลการควั่นเป็นต้น อีกประเด็นหนึ่ง คือ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอทธิฟอน พาโคลบิวทราโซล และเมพิควอทคลอไรด์ ซึ่งน่าจะแตกต่างกันไปในระหว่างไม้ผลแต่ละชนิด

สรุป

การใช้สารยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ได้แก่ พาโคลบิวทราโซล และเมพิควอทคลอไรด์ ส่งผลให้ต้นลั่นจี่ออกดอกได้ดียิ่งขึ้นในช่วงเดือนกรกฎาคม แต่ต้องใช้ร่วมกับการควั่นกิ่ง และฉีดพ่นทางใบด้วยปุ๋ย 0-52-34 ผสมกับเอทธิฟอน โดยกรรมวิธีดังกล่าวสามารถชะลอการผลิยอดใหม่ ลดการสังเคราะห์และสะสมออกซิน ในขณะที่ยังส่งเสริมการสร้างและสะสมไซโตไคนินรูป iP/iPA และรูป Z/Zr ที่ใบและที่ตายอดให้เพิ่มสูงขึ้น จนสามารถเปลี่ยนตายอดจากตาใบไปสร้างเป็นจุดกำเนิดตาดอกและพัฒนาไปเป็นช่อดอกที่สมบูรณ์ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษากระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE)

เอกสารอ้างอิง

จริญญา ปัญญาแก้ว และ ดรุณี นาพรหม. 2553. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการออก

- ดอกนอกฤดู และคุณภาพของส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง. วารสารเกษตร 26(ฉบับพิเศษ): 117-125.
- จิราภรณ์ อินทสาร, ฉัตรวิทย์ เดชจิรตันศิริ และ ประวิทย์ บุญมี. 2560. ผลของแบคทีเรียที่ผลิตสาร indole-3-acetic acid (IAA) ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณธาตุอาหารของพริกชี้หนู. วารสารเกษตร 33(3): 333-344.
- ธันว์รัตน์ วงเวียน และ ดร.ณิ นภาพร. 2559. ผลของพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตทางกิ่งใบของมะนาว. วารสารเกษตร 32(3): 321-329.
- นุติ เจริญกิจ และ พัทธยา สรวมศิริ. 2554. ผลของการควั่นกิ่ง โมนิโพแทสเซียมฟอสเฟต และเอทิลฟอนต่อการออกดอกนอกฤดูของลิ้นจี่พันธุ์สงขลบนพื้นที่สูง. วารสารเกษตร 27(1): 19-25.
- ปริญญาภรณ์ วิโรจน์สกุล. 2552. การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อต้านซีเอตินโรโบไซด์เพื่อใช้ในการตรวจวัดซีเอตินโรโบไซด์ในพืชโดยวิธีเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 79 หน้า.
- มะลิวรรณ นาสี, นุติ เจริญกิจ, พัทธยา สรวมศิริ และ ดร.ณิ นภาพร. 2557. ผลของเมพิควอทคลอไรด์ คลอร์มีควอทคลอไรด์ และพาโคลบิวทราโซลต่อการออกดอกของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ทอง. วารสารเกษตร 30(3): 271-279.
- อรทัย ธัญชัย, นุติ เจริญกิจ และ พัทธยา สรวมศิริ. 2555. ผลของการควั่นกิ่ง และการพ่นปุ๋ยทางใบด้วยโมนิโพแทสเซียมฟอสเฟตและเอทิลฟอนต่อการออกดอกของลิ้นจี่พันธุ์สงขล และพันธุ์จักรพรรดิ. วารสารเกษตร 28(2): 145-153.
- Charoenkit, N., D. Naphrom, P. Srumsiri, K. Sringsarm and S. Fukuda. 2015. Modeling the relationship between hormone dynamics and off-season flowering of litchi by using random forests. Agriculture and Agricultural Science Procedia 5: 9-16.
- Chen, P-A, S-F. Roan, C-L Lee and I-Z Chen. 2016. Temperature model of litchi flowering - from induction to anthesis. Scientia Horticulturae 205: 106-111.
- Ding, F., S. Zhang, H. Chen, Z. Su, R. Zhang, Q. Xiao and H. Li. 2015. Promoter difference of LcFT1 is a leading cause of natural variation of flowering timing in different litchi cultivars (*Litchi chinensis* Sonn.). Plant Science 241: 128-137.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York. 523 p.
- Kang, J., Y. Lee, H. Sakakibara and E. Martinoia. 2017. Opinion cytokinin transporters: go and stop in signaling. Trends in Plant Science 22(6): 455-461.
- Moreira, R.D., D.R. Fernandes, M. do C.M. da Cruz, J.E. Lima and A.F. de Oliveira. 2016. Water restriction, girdling and paclobutrazol on flowering and production of olive cultivars. Scientia Horticulturae 200: 197-204.
- Potchanasin, P., K. Sringsarm, P. Srumsiri and K.F. Bangerth. 2009. Floral induction (FI) in longan (*Dimocarpus longan* Lour.) trees: Part I. Low temperature and potassium chlorate effects on FI and hormonal changes exerted in terminal buds and sub-apical tissue. Scientia Horticulturae 122: 288-294.
- Rademacher, W. 2000. Growth retardants: effects of gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 51: 501-531.
- Sringsarm, K. 2008. Participation of correlative hormonal signals in the floral induction of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) trees induced by the application of potassium

- chlorate. Ph.D. Thesis, University of Hohemheim, Stuttgart. 110 p.
- Sringarm, K., P. Potchanasin, P. Srumsiri and K.F. Bangerth. 2009. Floral induction (FI) in longan (*Dimocarpus longan* Lour.) tress - the possible participation of endogenous hormones II. Low temperature and potassium chlorate effects on hormone concentrations in and their export out of leaves. Scientia Horticulturae 122: 295-300.
- Zhang, S., D. Zhang, S. Fan, L. Du, Y. Shen, L. Xing, Y. Li, J. Ma and M. Han. 2016. Effect of exogenous GA₃ and its inhibitor paclobutrazol on floral formation, endogenous hormones, and flowering-associated genes in 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.). Plant Physiology and Biochemistry 107: 178-186.
-

การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุ โรคต้นแตกกยางไหลของเมลอน

Selection of Rhizobacteria Against of Gummy Stem Blight Pathogen of Melon

จันทรา อูปาลี และ อรุมา เรืองวงศ์
Jantar Aupalee and On-Uma Ruangwong*

ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

*Corresponding author: Email: On-uma.r@cmu.ac.th

(Received: 1 August 2017; Accepted: 27 October 2017)

Abstract: Selection of rhizobacteria from soil cultivated with melon crops from Pa Sang district, Lamphun province and Mae Hia Agricultural Research, Demonstrative and Training Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University for controlling *Didymella bryoniae* causal agent of melon gummy stem blight disease was conducted. Total of 149 rhizobacteria isolates were obtained and used for evaluation of antagonistic activity against *D. bryoniae* by dual culture method. Nine isolates of rhizobacteria showed the growth inhibition of *D. bryoniae*. Among them, isolate S93 and S138 showed the highest antagonistic activity to inhibit mycelial growth with 81.20 and 82.40%, respectively. Moreover, cell-free culture filtrated of isolates S93 caused malformation and swelling germtube of fungal pathogen and isolate S138 could delay fungal spore germination. Two antagonistic rhizobacteria were identified based on morphological characteristic and 16S rDNA gene. The result showed that isolate S93 was gram positive bacterium with rod shape cell and the 16S rDNA sequence of S93 showed 99% homology with *Bacillus subtilis*. Meanwhile, isolate S138 was gram negative bacterium with rod shape cell and its partial sequence was 99% homology with *Enterobacter asburiae*.

Keywords: Gummy stem blight, melon, *Didymella bryoniae*, antagonistic bacteria, biological control

บทคัดย่อ: การคัดเลือกแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบ ๆ ราก ของเมลอนที่ไม่เป็นโรค จากพื้นที่ปลูกเมลอน ในอำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน และศูนย์วิจัยสายิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อนำมาควบคุมเชื้อรา *Didymella bryoniae* สาเหตุโรคต้นแตกยางไหลของเมลอน สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียรอบรากได้ทั้งหมด 149 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *D. bryoniae* ด้วยวิธี dual culture พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียรอบรากที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ จำนวน 9 ไอโซเลท โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งสูง จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท S93 และ S138 ซึ่งมีร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 81.20 และ 82.40 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำกรองของไอโซเลท S93 ทำให้การงอกของเชื้อราสาเหตุโรคมีความผิดปกติ โดยจะทำให้ germ tube มีลักษณะบวมพอง และไอโซเลท S138 ทำให้มีการชะลอการงอกของสปอร์ได้ เมื่อนำเชื้อ แบคทีเรียรอบรากทั้ง 2 ไอโซเลท มาจัดจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA พบว่า ไอโซเลท S93 เป็นแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่ง และมีลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA เหมือนกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ถึง 99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไอโซเลท S138 เป็นแกรมลบ เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งเล็ก ๆ และมีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับเชื้อแบคทีเรีย *Enterobacter asburiae* ถึง 99 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: โรคต้นแตกยางไหล เมลอน *Didymella bryoniae* เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ การควบคุมโดยชีววิธี

คำนำ

แตงเทศ หรือเมลอน (melon) และแคนตาลูป เป็นพืชวงศ์แตง (Cucurbitaceae) (อภิชาติ และสุธิพงศ์, 2558) ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกกันมากทั้งในประเทศและต่างประเทศ พืชวงศ์แตงที่นิยมปลูกในประเทศไทย มีทั้งเพื่อรับประทานผลสด และเพื่อผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ส่งต่างประเทศ จึงอาจส่งผลให้เกิดปัญหาโรคของพืชวงศ์แตงเพิ่มมากขึ้น อาจเนื่องมาจากเมล็ดพันธุ์ไม่สะอาด มีการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรคติดมากับเมล็ดพันธุ์ เมื่อนำเมล็ดที่มีเชื้อสาเหตุโรคมาปลูกจะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคในแปลงปลูกด้วย (จุมพล และอรพรรณ, 2532)

โรคต้นแตกยางไหล (gummy stem blight) เกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* (Auersw) Rehm. (ระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศคือ *Stagonosporopsis cucurbitacearum* ชื่อเดิม *Phoma cucurbitacearum*) (Keinath, 2012) เป็นโรคสำคัญที่พบมีการระบาด และเข้าทำลายในพืชวงศ์แตง ประเทศไทยพบมีการระบาดในพืชวงศ์แตงในพื้นที่ปลูกทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อาการของโรคเริ่มแรกจะพบแผลฉ่ำน้ำที่บริเวณ ลำต้น กิ่ง ก้าน และใบ โดยเฉพาะบริเวณข้อต่อของลำต้นกับกิ่ง ลักษณะสำคัญของโรค คือ บริเวณ

แผลจะมียางเหนียวสีแดง (gummy ooze) ไหลเยิ้มออกมาจากแผล และจะแห้งอยู่บริเวณแผล โรคนี้หากมีการระบาดในระยะที่ติดผล จะทำให้ต้นแตงมีการเจริญเติบโตช้า ผลโตไม่เต็มที่ และในต้นที่อาการรุนแรงมาก จะเหี่ยวแห้งและยืนต้นตาย ทำให้ผลผลิตที่ได้ลดลง (ทัศนพร และพีระวรรณ, 2552) นอกจากนี้เชื้อสาเหตุดังกล่าวยังสามารถถ่ายทอดไปทางเมล็ดพันธุ์ได้ Sudisha *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *D. bryoniae* ผ่านทางเมล็ด โดยทำการเพาะเมล็ดเมลอนที่มีการปนเปื้อนของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) พบว่า เชื้อจะเริ่มเข้าทำลายที่ลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyls) และใบเลี้ยง (cotyledons) ต่อมาต้นกล้าจะแสดงอาการแคระแกรน นอกจากนี้ยังพบโครงสร้าง pycnidia ของเชื้อราบนเมล็ดที่ไม่งอก ดังนั้นในการผลิตเมล็ดพันธุ์หรือผลสดจากเมลอน ต้องมีการป้องกันกำจัดโรคนี้เป็นอย่างดี

การป้องกันกำจัดโรคของพืชวงศ์แตงมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การเกษตรกรรม การใช้พันธุ์ต้านทาน และการใช้สารเคมี สำหรับการให้พันธุ์ต้านทานนั้นมีค่าใช้จ่ายสูง และการใช้สารเคมีทำให้ต้นทุนการผลิตสูง และเกิดการตกค้างของสารเคมีในพืช สภาพแวดล้อม รวมไปถึงเกษตรกรเอง ปัจจุบันยังได้มีการศึกษาการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) อย่างกว้างขวาง เช่น การใช้เชื้อแบคทีเรียบนผิวใบเสารวมควบคุมโรคแอนแทรคโนส

ของเส้นราที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. (สุดาพร และคณะ, 2550) การใช้แอคติโนมัยซีทจากดินบริเวณรอบรากมะเขือเทศที่ไม่เป็นโรคในแปลงปลูกมายับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉาของมะเขือเทศ (อรอุมา และเบญจวรรณ, 2560) หรือ การใช้แอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชวงศ์ลำไยมาควบคุมเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. สาเหตุโรคผลเน่าของลำไย (เกวลิน และชัยพร, 2555) นอกจากนี้ Abd-El-Moity *et al.* (2003) รายงานว่า การนำเชื้อที่แยกจากดิน ซึ่งได้แก่ แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* ผสมร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma hazianum* สามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อราในพืชวงศ์แตงได้ Beneduzi *et al.* (2012) รายงานว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas* และ *Bacillus* บางชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณดินรอบ ๆ รากพืช (แบคทีเรียรอบราก) สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคในกลุ่มเชื้อรา แบคทีเรีย โปโตซัว และไส้เดือนฝอย ที่อาศัยอยู่ในดิน และชักนำให้พืชเกิดการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้ ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียรอบรากพืช ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคต้นแตงยางไหลของเมลอน ในสภาพห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ควบคุมโรคในแปลงปลูกต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ และการแยกเชื้อราสาเหตุของโรคต้นแตงยางไหลของเมลอน

สำรวจโรคต้นแตงยางไหล ในพื้นที่ปลูกเมลอน ตำบลหาดง อำเภอสว่าง และตำบลยุหว่า อำเภอสนป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ และตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน และสุ่มเก็บต้นเมลอนและส่วนที่แสดงอาการของโรค มาตรวจสอบอาการและตรวจหาเชื้อราสาเหตุโรค ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และนำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรค ด้วยวิธี tissue transplanting บนอาหาร PDA (potato dextrose agar; potato 200 กรัม, dextrose 20

กรัม, agar 17 กรัม, distilled water 1 ลิตร) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อที่ออกมาจากชั้นพีช จากนั้นแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บเชื้อที่แยกได้เป็น stock culture เพื่อนำไปทำการศึกษาทดลองต่อไป

2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคต้นแตงยางไหลของเมลอน

นำเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้ มาเพาะเลี้ยงเพื่อให้สร้างสปอร์ (spore) ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Tsutsumi and da Silva (2004) ดังนี้ นำเชื้อราสาเหตุโรคมาเพาะเลี้ยงลงบนเมล็ดถั่วแดงญี่ปุ่น (azuki bean) ที่ผ่านการแช่น้ำสะอาดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดถั่วใส่ในขวดรูปชมพู่ และนำมาล้างเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นำเมล็ดถั่วที่ปลูกเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ในที่มืด 12 ชั่วโมง สลับกับมีแสง 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้เชื้อราสร้างสปอร์ นำน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่ทำการเพาะเชื้อรา ใช้ห่วงถ่ายเชื้อ (loop) ชูดเบา ๆ บริเวณผิวเมล็ดถั่ว แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง ซึ่งสปอร์ของเชื้อราที่ได้จะเป็น ระยะ ะยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ คือ *S. cucurbitacearum* (Keinath, 2012) จากนั้นนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อมาปลูกลงบนต้นกล้าเมลอนพันธุ์อัลฟา (Alpha) ที่มีอายุประมาณ 10 วัน ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Nga *et al.* (2010) นำสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นลงบนใบจริงคู่แรกของต้นกล้าเมลอน จากนั้นบ่มไว้ในถุงพลาสติก ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 100 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อมาจึงนำต้นกล้าออกจากถุงพลาสติกเพื่อให้ได้รับแสงตามปกติ ส่วนชุดควบคุม ใช้น้ำที่ฆ่าแล้วพ่นลงบนใบเลี้ยงของต้นกล้าเมลอน สังเกตอาการที่เกิดขึ้นบนใบในวันที่ 1 และ 3 วันหลังการปลูกเชื้อ

3. การแยกแบคทีเรียรอบรากของเมลอน

การแยกแบคทีเรียรอบราก (rhizobacteria) ของต้นเมลอนที่ไม่เป็นโรค โดยแยกจากดินรอบรากของเมลอนที่สุ่มเก็บจากแปลงเมลอนใน ตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน และศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรม

การเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ จากนั้นนำดินมาแยกแบคทีเรีย ด้วยวิธีเจือจางสารละลายดิน (soil dilution method) โดย นำดิน 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง เขย่าสาร 5 นาที ทั้งให้ตกตะกอน แล้วใช้ micro pipette ดูดสารละลายดิน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำ กลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้สารแขวนลอยดิน เข้ากันแล้วเจือจางต่อไป นำสารแขวนลอยดินที่ความ เข้มข้น 10^{-4} - 10^{-6} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจาน อาหารเลี้ยงเชื้อ NA (nutrient agar; peptone 5 กรัม, beef extract 3 กรัม, agar 20 กรัม, distilled water 1 ลิตร) จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลเกลี่ย (spread) สารละลายดิน ให้กระจายทั่วผิวน้ำอาหาร ปิดฝาจาน อาหาร นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 2 วัน จากนั้น นำโคโลนีเดี่ยว (single colony) ของแบคทีเรียที่เจริญบน ผิวน้ำอาหาร มา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และเก็บเป็น stock culture เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

4. การคัดเลือกแบคทีเรียรอบรากของเมลอนในการ ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคต้นแตงกวางไหลของเมลอนใน ห้องปฏิบัติการ

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย รอบรากที่แยกได้

นำเชื้อแบคทีเรียรอบรากทุกไอโซเลทที่แยกได้มา ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา สาเหตุโรค ด้วยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

โดยใช้ห่วงถ่ายเชื้อ (loop) และเชื้อแบคทีเรียรอบรากแต่ ละไอโซเลท แล้วขีดลงบนอาหาร PDA ความยาว 7 เซนติเมตร ให้ห่างจากขอบจานอาหารด้านละ 1 เซนติเมตร จากนั้นนำเชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มา เจาะด้วย cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร แล้วนำชิ้นวุ้น ที่มีเชื้อรา (culture disc) ดังกล่าว มาวางบนจานอาหารที่ ได้ทำการขีดเชื้อ แบคทีเรียรอบราก ไว้ตามแบบการ ทดลองที่กำหนด โดยวางให้ห่างจากเชื้อแบคทีเรียรอบราก 4 เซนติเมตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-8 วัน วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ การวัดผลโดยวัดความยาวรัศมีของเส้นใยของเชื้อรา จากนั้นนำมาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ ร (percent inhibition of radial growth; PIRG) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามสูตรการคำนวณของ Skidmore and Dickinson (1976) ดังภาพที่ 1

4.2 การทดสอบเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของ เชื้อแบคทีเรียรอบราก

นำเชื้อแบคทีเรียรอบรากที่มีประสิทธิภาพมาก ที่สุดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคมาทำการทดสอบอีก ครั้ง โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียรอบรากเป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน บนอาหาร NA จากนั้นจึงวางเชื้อ ราสาเหตุโรคเหมือนการทดลองที่ 4.1 แล้วนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-8 วัน วางแผนการ ทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ และวัดการเจริญของเชื้อ รา โดยวัดความยาวรัศมีของเส้นใย จากนั้นนำมา คำนวณหาร้อยละของการยับยั้งการเจริญของเชื้อตามวิธี

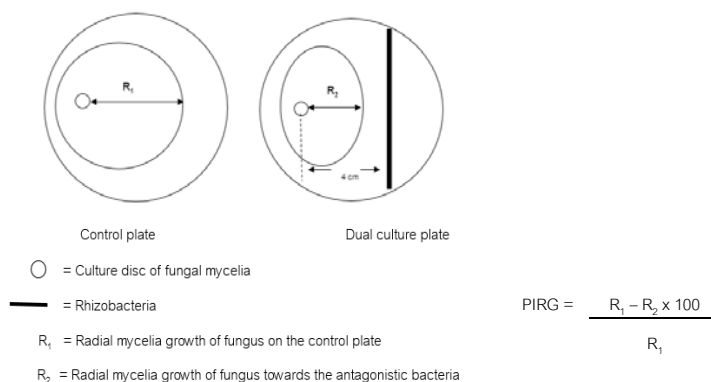


Figure 1. Dual culture method illustrating measurement of radial growth of fungal mycelia

ที่กล่าวข้างต้น และประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อราสาเหตุโรค จากร้อยละการยับยั้งที่คำนวณได้ โดยใช้เกณฑ์ของ Kumar *et al.* (2007) ดังนี้ >90 % คือ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก, 76-90% คือ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง, 61-75% คือ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง และ <60% คือ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียรอบรากในการยับยั้งการออกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค

นำเชื้อ แบคทีเรียรอบราก ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค มาเลี้ยงในอาหารเหลว PSB (potato sucrose broth; potato 200 กรัม, sucrose 20 กรัม, distilled water 1 ลิตร) แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (shaker) ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำมารองด้วยที่กรองเซลล์แบคทีเรีย (membrane filter) ขนาด 0.22 มิลลิเมตร แล้วนำน้ำกรอง (culture filtrate) ที่ได้ใส่ในหลอด ขนาด 1.5 มิลลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *D. bryoniae* (ระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ) และ *S. cucurbitacearum* (ระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ) ที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิตร เติมน้ำลงในหลอด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ส่วนชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นมาเชื้อ เติมน้ำลงในหลอด เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร 5 นาที บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที แล้วนำส่วนผสมที่เตรียมได้ ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ไปหยดลงบนชิ้นวุ้น WA (water agar; agar 17 กรัม, distilled water 1 ลิตร) ที่เตรียมเป็น slide culture ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 ชั่วโมง แล้วนับสปอร์ที่งอกภายใต้ compound microscope เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทำการนับสปอร์ที่งอก 100 สปอร์ต่อ 1 ซ้ำ โดยสปอร์ที่งอก หมายถึง สปอร์ที่งอก germ tube โดยมีความยาวเท่ากับความกว้างของสปอร์ (Lucas *et al.*, 1975) จากนั้นนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความงอกของสปอร์

6. การจัดจำแนกชนิด (identification) ของเชื้อแบคทีเรียรอบราก

6.1 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

นำเชื้อแบคทีเรียรอบรากที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร NA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สังเกต และบันทึกรูปร่างลักษณะ และสีของ colony ที่พบ และตรวจสอบ ด้วย 3% potassium hydroxide test (KOH) ตามวิธีของ Suslow *et al.* (1982) เพื่อเป็นการทดสอบแกรมเบื้องต้น จากนั้นทำการตรวจสอบด้วยการย้อมสีแกรม (gram's stain) ตามวิธีของ Nga *et al.* (2010) เพื่อทดสอบแกรม และดูลักษณะรูปร่างของเซลล์แบคทีเรีย

6.2 การจัดจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางพันธุกรรม (genetic material)

จัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียรอบรากโดยอาศัยลักษณะทางพันธุกรรม โดยตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ด้วย primer 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') และ 1492R (5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3') การทำ PCR โดยมีขั้นตอน ดังนี้ initial denaturation 95 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที เพิ่มจำนวน 35 รอบ โดย denaturation 95 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที annealing 55 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที extension 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ final extension 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำ PCR products ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วย multiscreen filter plate (Millipore Corp., Bedford, MA, USA) แล้วตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยนำไปวิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง ABI Prism 3730XL DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) จากนั้นนำลำดับดีเอ็นเอที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีรายงานไว้ใน GenBank จาก The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Pane and Zaccardelli, 2015) เพื่อใช้จัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียต่อไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ และการแยกเชื้อราสาเหตุของโรคต้นแตงยางไหลของเมลอน

จากการสำรวจโรคต้นแตงยางไหล ในพื้นที่ปลูกเมลอนจากพื้นที่ปลูกทั้ง 2 แหล่ง โดยอาการต้นแตงยางไหลของ เมลอนที่สำรวจพบในแปลงปลูก ส่วนใหญ่จะพบแผลบริเวณลำต้น (ภาพที่ 2A) ก้านใบของเมลอน (ภาพที่ 2B) และอาการที่ใบ (ภาพที่ 2C) แผลที่เป็นโรคจะมีลักษณะเป็นสีเทา ช้ำน้ำ แต่มีรูปร่างไม่แน่นอน และบริเวณแผลจะพบจุดสีดำขนาดเล็ก กระจายอยู่ทั่วแผล บางแผลอาจมองเห็นยางสีดำแห้งติดบริเวณแผลด้วย (ภาพที่ 2D)

เมื่อตรวจสอบแผลบริเวณลำต้นที่เป็นโรค ภายใต้ stereo microscope พบโครงสร้าง perithecia สีดำ ที่มองเห็น ostiole ได้ชัดเจน (ภาพที่ 3A) ลักษณะสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมื่อตรวจภายใต้กล้อง compound microscope พบ ascospores อยู่ภายในถุงที่เรียกว่า ascus (ภาพที่ 3B) โดยสปอร์นี้มี 2 เซลล์ สีใส มีขนาด $3-4 \times 7-15$ ไมโครเมตร (ภาพที่ 3C) เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบเชื้อราที่มีเส้นใยสีขาวอมเทาถึงสีดำ (ภาพที่ 4D) ซึ่งลักษณะดังกล่าวตรงกับเชื้อรา

D. bryoniae ที่มีการรายงานโดย Newark *et al.* (2014) และสามารถแยกได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลต คือ ไอโซเลต I1-I4

2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคต้นแตงยางไหลของเมลอน

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราที่แยกได้ทั้ง 4 ไอโซเลต พบว่าการปลูกเชื้อด้วยการพ่นสปอร์แขวนลอยบนต้นกล้าเมลอนอายุประมาณ 10 วัน สามารถทำให้ต้นกล้าเมลอนเกิดโรคได้ทุกไอโซเลต หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 1 วัน พบจุดช้ำน้ำบริเวณขอบใบ (ภาพที่ 4B-E) จากนั้นในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อ อาการจุดช้ำน้ำจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแห้ง ขนาดใหญ่ขึ้น ใบเริ่มแสดงอาการเหี่ยว และอาการลูกกลมลงมายังบริเวณลำต้น (ภาพที่ 4G-J) หากทิ้งไว้นานขึ้นต้นกล้าก็จะเกิดการแห้งพุ่มตัวลง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมต้นกล้าเมลอนยังคงเป็นสีเขียวปกติ และไม่พบอาการของโรค (ภาพที่ 4A, F) เมื่อนำต้นที่แสดงอาการของโรคมาตรวจสอบภายใต้ stereo microscope พบ perithecia ของเชื้อราเจริญตรงบริเวณลำต้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะของเชื้อรา *D. bryoniae* ตามการรายงานของ Newark *et al.* (2014)

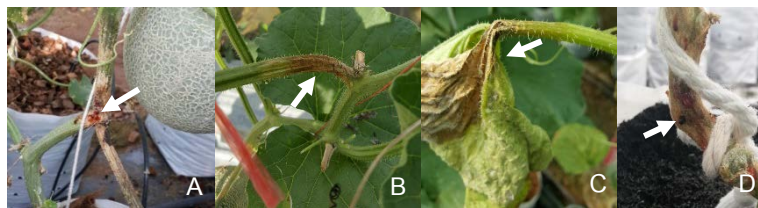


Figure 2. Symptoms of gummy stem blight caused by *Didymella bryoniae* on melon, lesion on stem (A), lesion on petiole (B) lesion on leaf (C) and gummy ooze on stem (D)

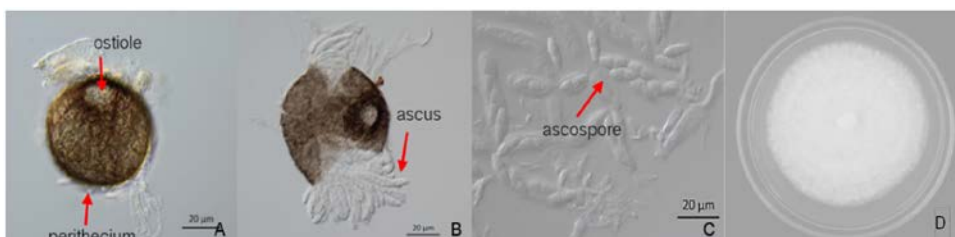


Figure 3. Morphological characteristic of *Didymella bryoniae* causal agent of gummy stem blight disease on melon in growing area at Chiang Mai province, perithecium (A), ascus (B), ascospores (C) and colony of *Didymella bryoniae* on PDA for 6 days (D)

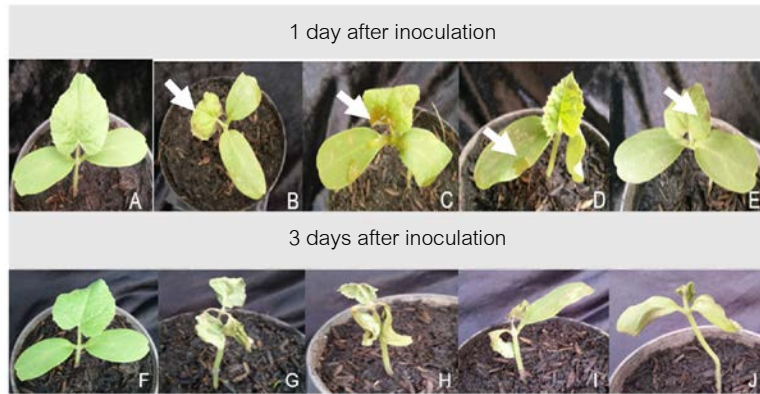


Figure 4. The pathogenicity test of fungal pathogen by spore suspension at concentration of 10^5 spores/ml, control (A, F), isolate I1 (B, G), isolate I2 (C, H), isolate I3 (D, I) and isolate I4 (E, J)

3. การแยกแบคทีเรียรอบรากของเมลอน

จากการแยกแบคทีเรียรอบรากด้วยวิธีเจือจาง สารละลายดิน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA สามารถแยก แบคทีเรีย ได้ทั้งหมด จำนวน 149 ไอโซเลท โดยแยกจาก ดินของแปลงปลูกเมลอนใน ตำบลบ้านเรือน อำเภอ ปาซาง จังหวัดลำพูน ได้ 141 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท S1 - S141 และจากศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตร แม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ได้ 8 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท S142 - S149

4. การคัดเลือกแบคทีเรียรอบรากของเมลอนในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคต้นแตกยางไหลของเมลอนใน ห้องปฏิบัติการ

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย รอบรากที่แยกได้

นำเชื้อแบคทีเรียรอบรากจำนวน 149 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *D. bryoniae* สาเหตุโรคต้นแตกยางไหลของเมลอนด้วยวิธี dual culture โดยการวางเชื้อแบคทีเรียรอบรากและเชื้อรา สาเหตุโรคร่วมกัน พบว่า มีเชื้อแบคทีเรียรอบรากจำนวน 9 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ โดยมีร้อยละการยับยั้งอยู่ในช่วง 14.8-40 (ตารางที่ 1) ได้แก่ ไอโซเลท 93, 138, 94, 119, 89, 121, 103, 122 และ 30 โดยมีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 40.0, 33.6, 20.0, 19.6, 18.8, 16.0, 15.2, 14.8 และ 14.8 ตามลำดับ แต่อีก

140 ไอโซเลท ไม่พบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ จากผล การทดสอบเห็นได้ว่าร้อยละของการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค ยังคงมีประสิทธิภาพต่ำ (<60%) อย่างไรก็ตามมีรายงาน การวิจัยที่มีการนำเชื้อปฏิปักษ์ไปใช้ก่อนการเกิดโรคหรือ ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค และพบว่ามีประสิทธิภาพการ ควบคุมโรคได้ดี เช่น Zhang and Xue (2010) ทดสอบการ ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* SB24 ที่แยกมาจากรากของ ถั่วเหลือง ในการควบคุมเชื้อรา *Sclerotinia sclerotium* สาเหตุโรคลำต้นเน่าของถั่วเหลือง ผลการทดสอบพบว่า การนำเชื้อแบคทีเรีย SB42 พ่นลงบนต้นพืชเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค มีประสิทธิภาพในการ ควบคุมโรคได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาโดย Filippi *et al.* (2011) ที่ได้แยกเชื้อแบคทีเรียรอบรากของ ต้นข้าว เพื่อนำมาทดสอบการควบคุมโรคไหม้ของข้าวที่ เกิดจากเชื้อรา *Magnaporthe oryzae* โดยพบว่า การราด ดินด้วยเชื้อ Rhizo-55 ก่อนเป็นเวลา 15 วัน และเชื้อ Rhizo-46 เป็นเวลา 2 วัน ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค สามารถลดการเกิดโรคไหม้ได้ถึงร้อยละ 90.7 และ 95.03 ตามลำดับ จากรายงานการศึกษาดังกล่าว จึงเกิดแนวคิด ในการนำเชื้อแบคทีเรียรอบรากปฏิปักษ์ที่มีร้อยละการ ยับยั้งมากที่สุดในสองลำดับแรกไปทดสอบเพื่อยืนยัน ประสิทธิภาพอีกครั้ง โดยเปรียบเทียบระยะเวลาการนำ เชื้อปฏิปักษ์ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารก่อนการนำเชื้อสาเหตุ โรคมาทดสอบ แล้วจึงวัดประสิทธิภาพ

Table 1. The efficacy of 9 antagonistic rhizobacteria isolates against *Didymella bryoniae* by dual culture method

Isolates	PIRG ² (%)
93	40.0 ^{a1}
138	33.6 ^b
94	20.0 ^c
119	19.6 ^c
89	18.8 ^c
121	16.0 ^c
103	15.2 ^c
122	14.8 ^c
30	14.8 ^c
Control	0.0 ^d
CV (%)	21.42

¹ Means within a column followed by the same letter are not significantly different at $P=0.05$

² PIRG = Percent inhibition of radial growth

4.2 การทดสอบเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียรอบราก

นำเชื้อแบคทีเรียรอบรากจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท S93 และ S138 ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคมาทดสอบประสิทธิภาพอีกครั้ง ด้วยวิธี dual culture โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อไอโซเลท S93 และ S138 บนอาหาร NA เป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน แล้วจึงนำเชื้อราสาเหตุโรคมาทดสอบ พบว่า ไอโซเลท S138 มีร้อยละการยับยั้งมากกว่าไอโซเลท S93 โดยไอโซเลท S138 มีการยับยั้งมากที่สุดในวันที่ 6 สามารถยับยั้งได้ร้อยละ 87.20 (ภาพที่ 5) และประสิทธิภาพจะลดลงในวันที่ 7 โดยสามารถยับยั้งได้ร้อยละ 82.40 ในขณะที่ไอโซเลท S93 มีร้อยละการยับยั้งเพิ่มขึ้น และมีการยับยั้งมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลา 7 วัน โดยมีร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 81.20 (ตารางที่ 2) เมื่อประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งของแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา พบว่า ไอโซเลท S93 และ S138 มีประสิทธิภาพการยับยั้งสูง (ร้อยละ 75-90) เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA เป็นเวลา 6 วัน ก่อนการเพาะเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรค จากผลการทดลองครั้งนี้ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการทดสอบข้อ 4.1

ซึ่งจะเห็นว่าเชื้อ แบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคได้เพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาของการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขึ้น กลไกการยับยั้งโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชมีหลายแบบ เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ เป็นต้น ได้มีการศึกษาถึงช่วงเวลาในการสร้างสารปฏิชีวนะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยกลุ่มจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น Hammami *et al.* (2009) ได้ศึกษาการเจริญและการสร้างสารปฏิชีวนะ bacteriocin ของเชื้อ *B. subtilis* strain 14B ที่ใช้ควบคุมเชื้อ *Agrobacterium* spp. สาเหตุโรคปุ่มปม (crown gall) ในพืชหลายชนิด โดยพบว่าการผลิตสาร bacteriocin มีมากที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว Luria bertani (LB) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 วัน นอกจากนี้ Georgakopoulos *et al.* (2002) ได้นำเอาเชื้อ *Pseudomonas* มาทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Pythium ultimum* สาเหตุโรคเน่าคอดินของแตงกวาและผักกาดฝรั่ง (sugar beet) ด้วยวิธี dual culture โดยเลี้ยงเชื้อ *Pseudomonas* บนอาหารแข็งชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 2 วัน และ 4 วัน ก่อนการทดสอบกับเชื้อราสาเหตุโรคเช่นเดียวกัน



Figure 5. The efficacy of isolate S93 and S138 for growth inhibition of *Didymella bryoniae* on PDA; 6 days of incubation period of rhizobacteria on PDA before placing the fungal pathogen

Table 2. The efficacy of the most effective rhizobacteria 2 isolates on growth inhibition of *Didymella bryoniae*

Isolates of rhizobacteria	PIRG ³						
	1 day ¹	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days	7 days
Control	0.00 ^{c2}	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^c	2.40 ^c	0.00 ^c	0.00 ^b
S93	58.40 ^b	56.40 ^b	60.80 ^b	66.00 ^b	55.20 ^b	78.40 ^b	81.20 ^a
S138	60.40 ^a	64.00 ^a	68.80 ^a	75.20 ^a	70.40 ^a	87.20 ^a	82.40 ^a
CV (%)	7.66	5.15	7.61	10.6	9.55	2.09	10.73

¹ Incubation period of antagonistic bacteria on PDA before placing the fungal pathogen

² Means within a column followed by the same letter are not significantly different at $P=0.05$

³ PIRG = Percent inhibition of radial growth

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียรอบรากในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค

การทดสอบน้ำกรองที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียรอบรากไฮโซเลท S93 และ S138 มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ระยะการสืบพันธุ์ เมื่อตรวจนับการงอกของสปอร์ 15 ชั่วโมงหลังการบ่มเชื้อ พบว่าในชุดควบคุมมีการงอกของสปอร์เชื้อรา *D. bryoniae* และสปอร์ของเชื้อราในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เชื้อรา *S. cucurbitacearum* เท่ากับร้อยละ 100 ในขณะที่สปอร์ในชุดทดสอบกับไฮโซเลท S93 และ S138 มีการงอกของเชื้อราทั้ง 2 ระยะเท่ากับร้อยละ 100 เช่นกัน เห็นได้ว่าน้ำกรองที่ได้จากไฮโซเลท S93 และ S138 ไม่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ทั้ง 2 ระยะได้ อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบรูปร่างของสปอร์ พบว่ามีความผิดปกติ เมื่อทดสอบกับน้ำกรองของไฮโซเลท S93 สปอร์ของเชื้อราที่มีการงอก

ซึ่งลักษณะของ germ tube มีรูปร่างผิดปกติ โดยมีการบวมพองของส่วน germ tube ซึ่งพบได้กับสปอร์ทั้ง 2 ระยะ (ภาพที่ 6B, E) ในขณะที่น้ำกรองของไฮโซเลท S138 ทำให้เกิดการงอกของสปอร์ลดช้าลง แต่ไม่พบความผิดปกติของสปอร์เชื้อราทั้ง 2 ระยะ (ภาพที่ 6C, F) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม พบว่าเชื้อราที่มีการงอกปกติ (ภาพที่ 6A, D) มีรายงานผลการศึกษาก่อนหน้านี้ว่าน้ำกรองที่ได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มาทดสอบการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคและให้ผลการทดสอบสอดคล้องกับผลการรายงานนี้ เช่น Phuakjaiphaeo *et al.* (2016) ได้นำน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* sp. CEN26 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project-z (ISP-2) ทดสอบต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของคะน้า พบว่าน้ำกรองนั้นสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้และทำให้สปอร์เชื้อราที่มีรูปร่างผิดปกติ เช่น เกิดการบวมพองของ germ tube

หรือมีอัตราการงอกของสปอร์ช้าลง นอกจากนี้ Li *et al.* (2015) ได้รายงานผลการใช้น้ำกรองของเชื้อ *B. megaterium* strain L2 ในอาหาร nutrient broth (NB) โดยพบว่าน้ำกรองดังกล่าวมีผลทำให้สปอร์ของเชื้อรา *A. alternata* มีความผิดปกติและยับยั้งการงอกของสปอร์ได้เช่นกัน จากผลการทดลองเป็นไปได้อย่างสำคัญ บางอย่างที่มีผลต่อเชื้อราสาเหตุโรคยังคงมีอยู่ในอาหาร เหลวถึงแม้ว่าจะมีการกรองเอาเซลล์แบคทีเรียออกและ ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้

6. การจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียรอบราก

6.1 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

การตรวจสอบสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อแบคทีเรียรอบรากไอโซเลท S93 และ S138 ดังนี้ โคโลนีของไอโซเลท S93 บนอาหาร NA จะมีสีครีม (cream)

ทึบแสง (opaque) มีขอบหยัก (undulate) รูปร่างไม่แน่นอน (irregular) มีการยกตัวสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย (raised) และผิวหน้าย่น (rugose) (ภาพที่ 7A) เมื่อนำมาทดสอบแกรมเบื้องต้นด้วย 3% KOH พบว่าไม่มีลักษณะเป็นสายเหนียวติดกับห่วงถ่ายเชื้อ แสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก จากนั้นนำมายืนยันผลอีกครั้งด้วยการย้อมแกรมพบว่า เซลล์ติดสีม่วงแสดงว่าเป็นแกรมบวก มีรูปร่างเป็นแท่ง (rod) (ภาพที่ 7B) และส่วนไอโซเลท S138 จะมีโคโลนีสีขาวอมเหลือง โปร่งแสง (translucent) ขอบเรียบ (entire) รูปร่างกลม (circular) มีการยกตัวโค้งนูนจากผิวหน้าอาหาร (convex) และผิวหน้าเรียบ (smooth) (ภาพที่ 7C) เมื่อนำมาทดสอบแกรมเบื้องต้นด้วย 3% KOH พบว่า มีลักษณะเป็นสายเหนียวติดกับห่วงถ่ายเชื้อ แสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จากนั้นนำมา ย้อมแกรมพบว่า เซลล์ติดสีแดงแสดงว่าเป็นแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่งเล็ก ๆ (ภาพที่ 7D)

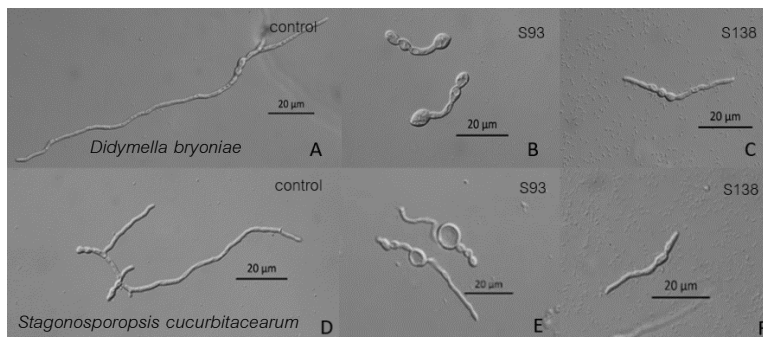


Figure 6. The efficacy of isolates S93 and S138 to inhibit spore germination of *Didymella bryoniae* and *Stagonosporopsis cucurbitacearum* on WA, 15 hours after incubation, control (A, D), isolate S93 (B, E) and isolate S138 (C, F)

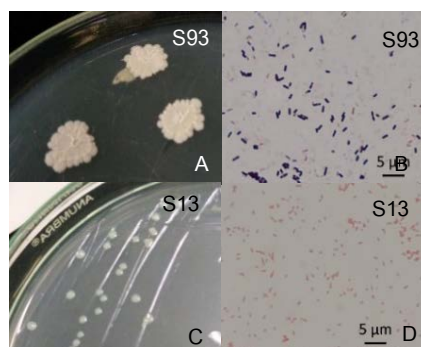


Figure 7. Morphological characteristics of rhizobacteria isolate S93 and S138; colony of isolate S93 on NA for 7 days (A), gram positive of isolate S93 (B), colony of isolate S138 on NA for 3 days (C) and gram negative of isolate S138 (D)

6.2 การจัดจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางพันธุกรรม (genetic material)

การตรวจสอบดีเอ็นเอของแบคทีเรีย ไอโซเลท S93 และ S138 ในบริเวณ 16S rDNA gene พบว่า ไอโซเลท S93 มีบริเวณ 16S rDNA gene ขนาด 707 bp และไอโซเลท S138 มีขนาด 1,506 bp เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับความเหมือน (sequence alignment) ในฐานข้อมูลของ NCBI ด้วยโปรแกรม BLAST พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของไอโซเลท S93 มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA gene ของเชื้อ *Bacillus subtilis* strain BAB-2742 และ *B. subtilis* strain YS15 โดยมีความเหมือนกันถึง 99% ซึ่งจากผลการวิจัยครั้งนี้มีความสอดคล้องกับรายงานของ Ahmed Idris et al. (2007) ที่พบว่าเชื้อ *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. circulans*, *B. licheniformis* และ *B. stearothermophilus* ที่แยกจากดินบริเวณ rhizosphere ของข้าวฟ่างสามารถลดการเกิดโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ได้ นอกจากนี้ Yu et al. (2011) รายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* ที่แยกได้จากดินบริเวณ rhizosphere ของต้นพริกไทยสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* ได้เช่นเดียวกัน

ไอโซเลท S138 มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA gene ของเชื้อ *Enterobacter asburiae* strain ATCC 35953 และ uncultured bacterium clone S42_071 โดยพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์มีความเหมือนกันถึง 99% ซึ่งจากผลการวิจัยครั้งนี้มีความคล้ายคลึงกับรายงานของ Jetiyanon and Plianbangchang (2013) ที่แยกเชื้อ *E. asburiae* จากดินบริเวณ rhizosphere ของผักกาดหอมสามารถป้องกันโรคเน่าและที่เกิดจากเชื้อ *Pectobacterium catovorum* subsp. *catovorum* ได้ อย่างไรก็ตามมีผลการวิจัยพบว่าเชื้อ *E. asburiae* เป็นสาเหตุที่ก่อโรคในมนุษย์ (Zhu et al., 2017) ซึ่งทำให้เกิดโรคปอดอักเสบ (community-acquired pneumonia) การติดเชื้อของเนื้อเยื่อ (soft tissue infections) การติดเชื้อของบาดแผล (wound infection) และการติดเชื้ออื่น ๆ (Mardaneh and Soltan-Dallal, 2014) ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงการนำเชื้อไอโซเลท

S138 มาใช้ในการทดลองหรือควรมีการตรวจสอบคุณสมบัติในการก่อโรคในมนุษย์

สรุป

การแยกเชื้อ rhizobacteria จากดินรอบ ๆ รากของต้นเมลอนที่ไม่เป็นโรค เพื่อใช้ทดสอบการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุของโรคต้นแตงยางไหลของเมลอนในห้องปฏิบัติการสามารถแยกเชื้อ แบคทีเรียรอบราก ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท S93 และ S138 และจากการจำแนกชนิดโดยอาศัยลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณ 16S rDNA gene พบว่าไอโซเลท S93 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณ 16S rDNA gene ที่เหมือนกับเชื้อ *B. subtilis* strain BAB-2742 และ *B. subtilis* strain YS15 และ ไอโซเลท S138 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณ 16S rDNA gene ที่เหมือนกับเชื้อ *E. asburiae* strain ATCC 35953 และ uncultured bacterium clone S42_071 ซึ่งเชื้อ *E. asburiae* มีความเสี่ยงที่จะเป็นเชื้อสาเหตุของโรคในมนุษย์ จึงหลีกเลี่ยงนำไปศึกษาต่อ อย่างไรก็ตามควรนำเชื้อไอโซเลท S93 ไปศึกษาต่อในการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ แล้วนำไปทดสอบในสภาพเรือนทดลอง หรือแปลงปลูกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ในการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เกวลิน คุณาศักดากุล และ ชัยพร ชัดสงคราม. 2555. การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของลำไย. วารสารเกษตร 28(3): 285-294.

- จุมพล สารนาค และ อรพรรณ วิเศษสังข์. 2532. โรคของผักที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์. วารสารเคหการเกษตร 13: 141-144.
- ทัศนพร ทศคร และ พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2552. โรคยางไหลในแคนตาลูป. จดหมายข่าวผลไม้ 12(3): 2-3.
- สุดาพร ปุกแก้ว อังสนา อัครพิศาล อรอุมา เรืองวงษ์ เกวลิณ คุณาศักดากุล และ จิราพร ตยติวุตติกุล. 2550. การคัดเลือกแบคทีเรียบนผิวใบเพื่อควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของเสาวรส. วารสารเกษตร 23(2): 147-153.
- อภิชาติ ศรีสอาด และ สุธิพงศ์ ถิ่นเขาน้อย. 2558. เมล่อน & แคนตาลูป เงินล้าน. นาคา อินเทอร์เน็ตเดีย, กรุงเทพฯ. 136 หน้า.
- อรอุมา เรืองวงษ์ และ เบญจวรรณ ใจจันทร์. 2560. การใช้แอคติโนมัยซีทจากดินเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉาของมะเขือเทศ. วารสารเกษตร 33(1): 49-59.
- Abd-El-Moity, T.H., M.L. Abed El-Moneim, M.M.M. Tia, A.Z. Aly and M.R.A. Tohamy. 2003. Biological control of some cucumber diseases under organic agriculture. Acta Horticulturae 608: 227-236.
- Ahmed Idris, H., N. Labuschagne and L. Korsten. 2007. Screening rhizobacteria for biological control of Fusarium root and crown rot of sorghum in Ethiopia. Biological Control 40(1): 97-106.
- Beneduzi, A., A. Ambrosini and L.M.P. Passaglia. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. Genetics and Molecular Biology 35(4): 1044-1051.
- Filippi, M.C.C., G.B. da Silva, V.L. Silva-Lobo, M.V.C.B. Cortes, A.J.G. Moraes and A.S. Prabhu. 2011. Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. Biological Control 58(2): 160-166.
- Georgakopoulos, D.G., P. Fiddaman, C. Leifert and N.E. Malathrakis. 2002. Biological control of cucumber and sugar beet damping-off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal antagonists. Journal of Applied Microbiology 92(6): 1078-1086.
- Hammami, I., A. Rhouma, B. Jaouadi, A. Rebai and X. Nesme. 2009. Optimization and biochemical characterization of a bacteriocin from a newly isolated *Bacillus subtilis* strain 14B for biocontrol of *Agrobacterium* spp. Strains. Letters in Applied Microbiology 48(2): 253-260.
- Jetiyanon, K. and P. Plianbangchang. 2013. Lipopolysaccharide of *Enterobacter asburiae* strain RS83: A bacterial determinant for induction of early defensive enzymes in *Lactuca sativa* against soft rot disease. Biological Control 67(3): 301-307.
- Keinath, A.P. 2012. Differential sensitivity to boscalid in conidia and ascospores of *Didymella bryoniae* and frequency of boscalid-insensitive isolates in South Carolina. Plant Disease 96(2): 228-234.
- Kumar, A.S., N.P.E. Reddy, K.H. Reddy and M.C. Devi. 2007. Evaluation of fungicidal resistance among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing mango anthracnose in Agri Export Zone of Andhra Pradesh, India. Plant Pathology Bulletin 16: 157-160.
- Li, Z., B. Guob, K. Wanb, M. Conga, H. Huanga and Y. Ge. 2015. Effects of bacteria-free filtrate from *Bacillus megaterium* strain L2 on the mycelium growth and spore germination of *Alternaria alternata*. Biotechnology &

- Biotechnological Equipment 29(6): 1062-1068.
- Lucas, J.A., R.E. Kendrick and C.V. Given. 1975. Photocontrol of fungal spore germination. Plant Physiology 56(6): 847-849.
- Mardaneh, J. and M.M. Soltan-Dallal. 2014. Isolation and identification *Enterobacter asburiae* from consumed powdered infant formula milk (PIF) in the neonatal intensive care unit (NICU). Acta Medica Iranica 54(1): 39-43.
- Newark, M., M.L. Paret, N.S. Dufault and J.H. Freeman. 2014. Management of gummy stem blight (black rot) on cucurbits in Florida. UF/IFAS Extension, University of Florida, Gainesville. 8 p.
- Nga, N.T.T., N.T. Giau, N.T. Long, M. Lubeck, N.P. Shetty, E.de Neergaard, T.T.T. Thuy, P.V. Kim and H.J.L. Jorgensen. 2010. Rhizobacterially induced protection of watermelon against *Didymella bryoniae*. Journal of Applied Microbiology 109(2): 567-582.
- Phuakjaiphaeo, C., C.I. Chang, O. Ruangwong and K. Kunasakdakul. 2016. Isolation and identification of an antifungal compound from endophytic *Streptomyces* sp. CEN26 active against *Alternaria brassicicola*. Letters in Applied Microbiology 63(1): 38-44.
- Pane, C. and M. Zaccardelli. 2015. Evaluation of *Bacillus* strains isolated from solanaceous phylloplane for biocontrol of *Alternaria* early blight of tomato. Biological Control 84: 11-18.
- Skidmore, A.M. and C.H. Dickinson. 1976. Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. Transactions of the British Mycological Society 66(1): 57-64.
- Sudisha, J., S.R. Niranjana, S. Umesha, H.S. Prakash and H. S. Shetty. 2006. Transmission of seed-borne infection of muskmelon by *Didymella bryoniae* and effect of seed treatments on disease incidence and fruit yield. Biological Control 37(2): 196-205.
- Suslow, T.V., M.N. Schroth and M. Isaka. 1982. Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology 72(2): 917-918.
- Tsutsumi, C. Y. and N. da Silva. 2004. Screening of melon populations for resistance to *Didymella bryoniae* in greenhouse and plastic tunnel conditions. Brazilian Archives of Biology and Technology 47(2): 171-177.
- Yu, X., C. Ai, L. Xin and G. Zhou. 2011. The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on Fusarium wilt and promotes the growth of pepper. European Journal of Soil Biology 47: 138-145.
- Zhang, J.X. and A.G. Xue. 2010. Biocontrol of sclerotinia stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of soybean using novel *Bacillus subtilis* strain SB24 under control conditions. Plant Pathology 59(2): 382-391.
- Zhu, B., S. Wang, O. Li, A. Hussain, A. Hussain, J. Shen and M. Ibrahim. 2017. High-quality genome sequence of human pathogen *Enterobacter asburiae* type strain 1497-78^T. Journal of Global Antimicrobial Resistance 8: 104-105.

การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียในการควบคุมโรคผลเน่าที่เกิดจากแบคทีเรียของเมลอน

Selection of Rhizobacteria to Control Bacterial Fruit Blotch of Melon

สุดารัตน์ แก้วน้ำอ่าง อังสนา อัครพิศาล และ อรุมา เรืองวงษ์*

Sudarat Kaewnamarng, Angsana Akarapisan and On-Uma Ruangwong*

ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

*Corresponding author: Email: On-uma.r@cmu.ac.th

(Received: 1 August 2017; Accepted: 27 October 2017)

Abstract: Selection of antagonistic bacteria from melon rhizosphere for controlling *Acidovorax citrulli* causing bacterial fruit blotch disease of melon was carried out. Total of 149 rhizobacteria isolates were isolated by soil dilution plate method, 141 isolates from Ban Ruean subdistrict, Pa Sang district, Lamphun province and 8 isolates from Mae Hia Agricultural Research, Demonstrative and Training Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. Paper disc diffusion method was used to evaluate the antagonistic activity of isolated rhizobacteria against *A. citrulli*. Four isolates of rhizobacteria demonstrated an inhibitory activity including isolates S93, S97, S125 and S126 with inhibition zone of 1.44, 1.36, 1.74 and 0.86 cm, respectively. The results of screening test for controlling bacterial fruit blotch disease in greenhouse exhibited that isolates S125 and S93 could inhibit disease development with 70.00% and 63.33%, respectively. Identification of both effective antagonistic rhizobacteria, isolates S125 and S93, was conducted based on morphological characteristic and 16S rDNA sequencing. The result showed that partial gene sequencing of isolate S125 was 100% homology with *Pseudomonas monteilii* and isolate S93 was 99% homology with *Bacillus subtilis*.

Keywords: Bacterial fruit blotch, rhizobacteria, *Acidovorax citrulli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas monteilii*

บทคัดย่อ: การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินบริเวณรอบรากของเมลอน เพื่อใช้ในการควบคุมการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของเมลอน สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 149 ไอโซเลท ด้วยวิธี soil dilution plate ซึ่ง 141 ไอโซเลท แยกจากแปลงเกษตรกรรมในตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน และ 8 ไอโซเลท จากศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่า มี 4 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ ได้แก่ ไอโซเลท S93, S97, S125 และ S126 โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 1.44, 1.36, 1.74 และ 0.86 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อนำไรโซแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในสองลำดับแรกไปทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือนทดสอบ พบว่า ไอโซเลท S125 สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ร้อยละ 70.00 และไอโซเลท S93 สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ร้อยละ 63.33 เมื่อจัดจำแนกไรโซแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rDNA พบว่า ไอโซเลท S125 มีความเหมือนกับเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas monteilii* ถึงร้อยละ 100 และ ไอโซเลท S93 มีความเหมือนกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ถึงร้อยละ 99

คำสำคัญ: โรคผลเน่าแบคทีเรีย ไรโซแบคทีเรีย *Acidovorax citrulli* *Bacillus subtilis* *Pseudomonas monteilii*

คำนำ

เมลอน (melon) หรือแตงเทศ อยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์แตงเช่นเดียวกับแตงกวา แตงโม และมะระ เป็นต้น มีถิ่นกำเนิดในแถบทวีปแอฟริกา เมลอนเจริญได้ดีในสภาพอากาศร้อนแห้ง และแสงแดดจัด ปัจจุบันมีการปลูกเมลอนในทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยมีทั้งการผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก และการผลิตเพื่อบริโภคผลสด (อภิชาติ และ สุทธิพงศ์, 2558) แต่การปลูกเมลอนประสบปัญหาเรื่องการระบาดของโรคสำคัญหลายโรคเข้าทำลาย เช่น โรคผลเน่า (bacterial fruit blotch) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* โดยเชื้อสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ (Frankle et al., 1993) การศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคผลเน่าของพืชวงศ์แตง เริ่มในปี ค.ศ. 1969 โดย Crall and Schenck แต่ไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ ต่อมา Schaad et al. (1978) ศึกษาลักษณะอาการของโรคที่เกิดบนต้นกล้าแตงโม และรายงานว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* ในเวลาต่อมา Willems et al. (1992) ได้จัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากชื่อเดิมให้เป็น *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* เนื่องจากข้อมูลทางพันธุกรรมมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Acidovorax*

อย่างไรก็ตาม Schaad et al. (2008) จัดหมวดหมู่ของเชื้อใหม่ จึงเปลี่ยนมาใช้ชื่อ *Acidovorax citrulli* เป็นต้นมา จากการศึกษาของ O'Brien and Martin (1999) พบว่าสาเหตุที่ทำให้การระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *A. citrulli* เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในหลายพื้นที่ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสามารถถ่ายทอดผ่านไปยังเมล็ดพันธุ์ได้ ทำให้การควบคุมการระบาดของโรคเป็นไปได้ยาก ในประเทศไทยมีการรายงานพบโรคผลเน่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยในจังหวัด นครราชสีมา ร้อยเอ็ด และขอนแก่น (Pinyapong, 1994)

ไรโซแบคทีเรีย (rhizobacteria) คือกลุ่มของเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณดินรอบรากพืช (rhizosphere) (Kloepper et al., 1991) ซึ่งบางชนิดสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายแก่พืชได้ โดยการแข่งขันหรือสร้างสารปฏิชีวนะ กลุ่มของไรโซแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อพืช เช่น *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. เป็นต้น (Vessey, 2003) การศึกษาวิจัยที่มีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาควบคุมเชื้อสาเหตุโรค เช่น อรอุมา และเบญจวรรณ (2560) ได้นำแอคติโนมัยซีท์ที่แยกจากดินบริเวณรอบรากของมะเขือเทศที่เจริญเติบโตสมบูรณ์ไม่เป็นโรคมายับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉาของมะเขือเทศ นอกจากนี้ เกวลิน และชัยพร (2555) ได้ใช้แอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ที่แยกได้

จากลำไยมาควบคุมเชื้อรา *Pestalotiopsis* sp. และ *Lasiodiplodia* sp. สาเหตุโรคผลเน่าของลำไย เป็นต้น ในการลดการใช้สารเคมี เพื่อการควบคุมโรคพืช และเพื่อความปลอดภัยต่อผู้บริโภค รวมถึงสิ่งแวดล้อม การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรค แทนการใช้สารเคมี จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ในกลุ่มไรโซแบคทีเรียเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *A. citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของเมลอน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ เก็บตัวอย่าง การตรวจและการแยกเชื้อสาเหตุโรคผลเน่า

1.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรค

สำรวจโรคผลเน่าในแปลงปลูกเมลอนและแคนตาลูปของเกษตรกรในตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน และตำบลหางดง อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ เก็บตัวอย่างผลเมลอนและแคนตาลูปที่แสดงอาการเน่าเป็นจุดน้ำขนาดเล็ก และเน่าขนาดใหญ่ที่เป็นปื้นขนาดใหญ่สีเขียวมะกอกหรือสีดำ ที่เกิดขึ้นบริเวณของเปลือกเมลอนและแคนตาลูป

1.2 การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของเมลอน

การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของเมลอนและแคนตาลูป ด้วยการใช้ชุดตรวจ Aac detection kit *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สำหรับโรคผลเน่าในพืชวงศ์แตง (บริษัท พาร์เวล อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด, ประเทศไทย) นำผิวเปลือกผลเมลอนหรือแคนตาลูปที่แสดงอาการเน่า 5 กรัม บดในบัฟเฟอร์ 2-3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำส่วนใสด้านบนหยดลงในตลับ test kit ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที แล้วจึงอ่านผล หากเกิดแถบสีทั้ง test line (T) และ control line (C) หมายถึงให้ผลเป็นบวกแสดงว่ามีเชื้อ *A. citrulli* หากเกิดแถบสีที่ control line เพียงอย่างเดียว หมายถึงให้ผลเป็นลบแสดงว่าไม่มีเชื้อ *A. citrulli*

1.3 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่า

นำผิวเปลือกผลเมลอนหรือแคนตาลูปที่ตรวจพบเชื้อ *A. citrulli* จากการตรวจด้วย Aac detection kit (ข้อ 1.2) มาล้างด้วยน้ำสะอาด ตัดบริเวณผิวของเปลือกโดยใช้ใบมีดที่ฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 หั่นให้ละเอียดและหยดน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ทิ้งไว้ประมาณ 1-2 นาที จากนั้นใช้ห่วงถ่ายเชื้อ (loop) ที่ฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงใน suspension ดังกล่าว และ streak ลงบนอาหารที่ดัดแปลงมาจากสูตร modified Tween medium (peptone 5.0 กรัม, CaCl_2 0.25 กรัม, agar 15 กรัม, methyl violet B จาก stock 1% 1.0 มิลลิลิตร หลังจากหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เติม Tween 80 10.0 มิลลิลิตร และ amoxicillin trihydrate 500 มิลลิกรัม) (Popovic and Ivanovic, 2015) จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียมาบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แล้วคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีรูปร่างกลม (round) จนถึง รูปไข่ (oval) สีเทา (grayish) มา streak บนอาหารชนิดเดิมอีกครั้ง เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วจึงนำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่ได้ มาตรวจเพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *A. citrulli* ด้วย Aac detection kit โดยนำเชื้อแบคทีเรียจำนวน 1 โคโลนี ละลายในบัฟเฟอร์ 0.5 มิลลิลิตร แล้วหยดตัวอย่างลงในตลับ kit test ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส แล้วจึงอ่านผล

การตั้งชื่อไอโซเลทของเชื้อ อักษรลำดับแรก คือ ชนิดพืช ลำดับที่สอง และสาม คือ ระยะการเจริญของผล ลำดับที่สี่ คือ ชื่อแหล่งที่เก็บตัวอย่างโรค และลำดับที่ 5 คือ ลำดับในการแยกเชื้อ เช่น MRFP2 โดยที่ M คือ แยกเชื้อมาจากผลเมลอน RF คือ ผลแก่ P คือ อำเภอ ป่าซาง จังหวัดลำพูน และ 2 คือ เชื้อแยกได้เป็นลำดับที่ 2

2. การทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (pathogenicity test) ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่า

นำเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่า มาเพิ่มปริมาณโดยการ streak ลงบนอาหาร NA (nutrient agar; peptone 5.0 กรัม, beef extract 3 กรัม, agar 15 กรัม, distilled water 1 ลิตร) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาเตรียม bacterial suspension โดยการชุดโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร นำไปใส่ลงในปิпетต์ที่มีน้ำกลั่นหนึ่งฆ่า

เชื้อปริมาณ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (O.D. = 0.1) ด้วย spectrophotometer ซึ่งได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml) แล้วจึงนำ bacterial suspension ไปปลูกเชื้อลงบนต้นกล้าเมลอน ที่มีอายุ 7 วัน ด้วยวิธีการพ่นทางใบ (foliar spraying) ในปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อต้น จากนั้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ในโรงเรือนที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบอาการและบันทึกผลหลังจากการปลูกเชื้อทุกวัน โดยแบ่งระดับความรุนแรงของโรคออกเป็น 5 ระดับ ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Wang *et al.* (2009) ดังนี้

- 0 = ไม่แสดงอาการ
- 1 = มีอาการจุดดำน้ำขนาดเล็กบนใบเลี้ยง และเนื้อเยื่อตายเฉพาะแห่งบนใบจริง หรือสร้างความเสียหายบนใบ คิดเป็นร้อยละ 1-15
- 2 = มีอาการจุดดำน้ำขนาดใหญ่บนใบเลี้ยง และเนื้อเยื่อตายเฉพาะแห่งบนใบจริง หรือสร้างความเสียหายบนใบ คิดเป็นร้อยละ 16-50
- 3 = ใบเลี้ยงหรือใบจริงตาย หรือสร้างความเสียหายบนใบคิดเป็นร้อยละ 51-80
- 4 = เกิดการตายของพืชทั้งต้น หรือสร้างความเสียหายบนใบร้อยละ >80

3. การแยกไรโซแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากเมลอน

แยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบราก (ไรโซแบคทีเรีย) ต้นเมลอนที่มีลักษณะต้นแข็งแรงสมบูรณ์ไม่เป็นโรค โดยเก็บดินจากแปลงปลูกเมลอนในตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน และศูนย์วิจัยสาริตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ นำดินมาแยกเชื้อด้วยวิธีเจือจางสารละลายดิน (soil dilution plate method) โดยชั่งดินตัวอย่างละ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ (flask shaped) ที่บรรจุน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งให้ตกตะกอน คูดสารแขวนลอยดินโดยใช้ micropipette ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้สารแขวนลอยดินเข้ากันแล้วเจือจางต่อไปแบบเดิม นำสาร

แขวนลอยดินที่มีความเข้มข้น 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไปแยกเชื้อด้วยวิธี spread plate บนอาหาร NA นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ประมาณ 2-3 วัน แยกไรโซแบคทีเรียที่เจริญขึ้นบนผิวหน้าอาหาร โดยนำมา streak ลงบนอาหาร NA อีกครั้งเพื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ และเก็บเป็น stock culture (กำหนดรหัสของไรโซแบคทีเรียเป็น S และตามด้วยตัวเลขที่แสดงถึงลำดับในการแยกเชื้อ) เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

4. การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏในห่องปฏิบัติการ

คัดเลือกไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค ด้วยวิธี paper disc diffusion โดยเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค บนอาหาร NA และบ่มเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยให้มีความเข้มข้น 10^9 cfu/ml แล้วจึงหยดเซลล์แขวนลอยลงบนอาหาร King's B (KB; proteose peptone 20 กรัม, K_2HPO_4 1.5 กรัม, agar 15 กรัม, glycerol 10 ml, $MgSO_4$ 1.5 กรัม, distilled water 1 ลิตร) ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ใช้สำลีพันก้าน (cotton bud) เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ส่วนไรโซแบคทีเรียนำมาเพิ่มปริมาณบนอาหาร NA บ่มเป็นเวลา 1 วัน ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส แล้วนำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^8 cfu/ml จากนั้นคูดเซลล์แขวนลอยของไรโซแบคทีเรียปริมาตร 20 ไมโครลิตร หยดลงบน paper disc (ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 มิลลิเมตร ทิ้งไว้สักครู่แล้วจึงย้ายมาวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เกลี่ยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคไว้ แล้วจึงบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ ตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค โดยการวัดบริเวณใส (clear zone) หรือบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Drew *et al.* (1972)

5. การทดสอบประสิทธิภาพของไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ในโรงเรือน

5.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคและไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์

นำไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในสองลำดับแรก (ชนิดที่ 1 และ 2) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าในห้องปฏิบัติการ (จากผลการทดสอบในข้อ 4) มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าบนต้นกล้าเมลอนโดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคและไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ บนอาหาร NA แล้วนำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยให้ได้ความเข้มข้น 10^8 และ 10^{10} cfu/ml ตามลำดับ ตามวิธีการเตรียมในข้อ 4

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคผลเน่า บนต้นกล้าเมลอนในโรงเรือนทดลอง

นำต้นกล้าเมลอนพันธุ์อัลฟ่า (Alpha) อายุ 7 วัน ที่ปลูกในวัสดุปลูกพีทมอส มาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคของไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ ด้วยวิธีการพ่นทางใบ โดยใช้ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อต้น ประกอบด้วย 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ชนิดที่ 1 ป่นไว้ 2 วัน แล้วจึงพ่นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 2 พ่นไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ชนิดที่ 2 ป่นไว้ 2 วัน แล้วจึงพ่นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 3 พ่นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค เพียงอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 4 พ่นไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ชนิดที่ 1 เพียงอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 5 พ่นไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ชนิดที่ 2 เพียงอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 6 ขูดควบคุม (น้ำกลั่น)

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยใน 1 กรรมวิธีมีทั้งหมด 15 ซ้ำ

หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคและไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ คลุมต้นพืชด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 2 วัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ภายใต้โรงเรือนทดสอบ ตรวจสอบอาการและบันทึกผลตามระดับความรุนแรงของโรค (วิธีการในข้อ 2) หลังจากการปลูกเชื้อเป็น

เวลา 2, 4, 6 และ 8 วัน จากนั้นนำมาคำนวณร้อยละการเกิดโรค ร้อยละความรุนแรงของโรค และประสิทธิภาพในการควบคุม ตามวิธีการของ Wang *et al.* (2009) ได้ดังนี้

$$\% \text{ การเกิดโรค } (\% \text{ disease incidence}) = \left[\frac{\text{จำนวนต้นที่เป็นโรคทั้งหมด}}{\text{จำนวนต้นที่ไม่เป็นโรคในชุดควบคุม}} \right] \times 100$$

$$\% \text{ ความรุนแรงของโรค } (\% \text{ disease severity}) = \left[\frac{\sum (\text{ระดับความรุนแรงของโรค} \times \text{จำนวนต้นที่เป็นโรคในระดับนั้น})}{\text{ระดับความรุนแรงของโรคสูงที่สุด} \times \text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}} \right] \times 100$$

$$\% \text{ ประสิทธิภาพในการควบคุม } (\% \text{ control efficacy}) = \left[\frac{\text{ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคในชุดควบคุม} - \text{ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคในชุดทดสอบ}}{\text{ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคในชุดควบคุม}} \right] \times 100$$

6. การจัดจำแนกของไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์

6.1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

นำไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด (จากผลการทดสอบในข้อ 5) มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น ได้แก่ การเจริญ ลักษณะโคโลนี สี และรูปร่างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ตรวจสอบด้วย 3% potassium hydroxide (3% KOH) เพื่อตรวจสอบแกรมของแบคทีเรียเบื้องต้น ตามวิธีของ Suslow *et al.* (1981) และการย้อมสีแกรม (Gram's stain) (Beveridge, 2001) เพื่อตรวจสอบแกรม และดูลักษณะรูปร่างของเซลล์แบคทีเรีย

6.2 การจัดจำแนกโดยลักษณะทางพันธุกรรม (genetic material)

จัดจำแนกชนิดของไรโซแบคทีเรียปฏิบัฏษ์ (จากผลการทดสอบในข้อ 5) โดยอาศัยลักษณะทางพันธุกรรม (genetic material) โดยตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ primer 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') และ 1492R (5'

TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3') จากนั้นนำ PCR products ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วย multiscreen filter plate (Millipore Corp., Bedford, MA, USA) ตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยนำไปวิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง ABI Prism 3730XL DNA analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) แล้วจึงนำลำดับดีเอ็นเอที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีรายงานไว้ใน GenBank จาก The National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อใช้จัดจำแนกชนิดของเชื้อ

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ เก็บตัวอย่าง การตรวจและการแยกเชื้อสาเหตุโรคผลเน่า

1.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรค

การสำรวจโรคผลเน่าของเมลอนและแคนตาลูปในแปลงปลูกของเกษตรกร สามารถเก็บตัวอย่างที่แสดงอาการของโรค ได้ทั้งหมด 22 ตัวอย่าง โดยในตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน มีจำนวน 16 ตัวอย่าง แบ่งเป็นเมลอน 11 ตัวอย่าง และแคนตาลูป 5 ตัวอย่าง และตำบลหางดง อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ มีจำนวน 6 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นเมลอนทั้งหมด อาการที่พบมีลักษณะเป็นแผลฉ่ำน้ำกระจายอยู่ทั่วผล แผลฉ่ำน้ำดังกล่าวมีทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ มีลักษณะเป็นแผลยุบตัว ผลที่แสดงอาการรุนแรงแผลจะมีสีดำและเน่าทั้งผล (ภาพที่ 1)

1.2 การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของเมลอน

การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของเมลอน ทั้งหมด 22 ตัวอย่าง แบ่งเป็น เมลอน 17 ตัวอย่าง

และแคนตาลูป 5 ตัวอย่าง ด้วยชุดตรวจ Aac detection kit พบว่า ผลที่อยู่ระยะใกล้เก็บเกี่ยวเป็นโรคผลเน่าจำนวน 4 ตัวอย่าง แบ่งเป็นเมลอนจำนวน 3 ตัวอย่าง (ภาพที่ 1A-C) และแคนตาลูป จำนวน 1 ตัวอย่าง (ภาพที่ 1D) โดยทุกตัวอย่างเก็บมาจากแปลงเมลอนในตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน ซึ่งจากผลการสำรวจ และตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคผลเน่า มีความคล้ายคลึงกับการรายงานของ ปิยรัตน์ และคณะ (2553) ซึ่งได้สำรวจโรคผลเน่าในพื้นที่ปลูกเมลอน อำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว พบการเกิดโรคผลเน่าระบาดในระยะผลแก่ของเมลอนที่ใกล้เก็บเกี่ยว โดยพบตัวอย่างที่เป็นโรคผลเน่าคิดเป็นร้อยละ 10 จากตัวอย่างที่เก็บทั้งหมด อาการโรคผลเน่าที่พบมีแผลเป็นจุดฉ่ำน้ำสีเขียวคล้ำ และมีอาการลุกลามทั่วทั้งผล

1.3 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่า

นำตัวอย่างผลที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุในข้อ 1.2 มาแยกเชื้อบนอาหารดัดแปลง modified Tween medium บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท MRFP4 (MRFP คือ แยกเชื้อจากเมลอนในระยะผลแก่จากอำเภอป่าซาง และตามด้วยตัวเลขที่แสดงถึงลำดับในการแยกเชื้อ), CRFP4 (CRFP คือ แยกเชื้อจากแคนตาลูปในระยะผลแก่จากอำเภอป่าซาง และตามด้วยตัวเลขที่แสดงถึงลำดับในการแยกเชื้อ), MRFP1 และ MRFP2 ซึ่งทั้ง 4 ไอโซเลท เก็บตัวอย่างมาจากตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน โดยเชื้อที่พบบนอาหารมีลักษณะโคโลนีรูปร่างกลม (round) จนถึง รูปไข่ (oval) สีเทา (grayish) ผิวหน้าเรียบ (flat) และรอบโคโลนีมีบริเวณที่เกิดผลึก (crystallized zone) รอบโคโลนี (ภาพที่ 2) ซึ่งตรงกับลักษณะของเชื้อ *A. citrulli* ที่มีการรายงานโดย



Figure 1. Symptoms of bacterial fruit blotch on melon and cantaloupe under field condition, various blotch lesions on melon fruits (A-C) and on cantaloupe fruit (D)

Popovic and Ivanovic (2015) นอกจากนี้เมื่อนำโคไลนของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ดังกล่าวมาเพื่อยืนยัน โดยใช้ชุดตรวจ Aac detection kit พบว่า ทั้ง 4 ไอโซเลท เป็นเชื้อแบคทีเรีย *A. citrulli*

2. การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่า

การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าทั้ง 4 ไอโซเลท บนต้นกล้าเมลอนอายุ 7 วัน พบว่า ใบเลี้ยงเมลอนมีจุดดำน้ำขนาดเล็ก จากนั้นแผลจะลุกลามขยายวงกว้างเกิดเป็นจุดดำน้ำขนาดใหญ่ และทำให้ต้นกล้าตาย ภายใน 12 วัน หลังการปลูกเชื้อ ซึ่งผลการทดสอบสอดคล้องกับงานวิจัยของ Burdman and Walcott (2012) ที่พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *A. citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าสามารถทำให้เกิดอาการฉ่ำน้ำบนใบเลี้ยงของต้นกล้าเมลอน และทำให้ต้นกล้าตายภายใน 10 วัน หลังการปลูกเชื้อ ซึ่งจากการทดสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคทั้ง 4 ไอโซเลท พบว่าไอโซเลท MRFP2 ทำให้เกิดโรคได้มากที่สุดในระดับ 4 (เกิดการตายของพืชทั้งต้น) รองลงมาคือ MRFP4 เกิดโรคในระดับ 3 (ใบเลี้ยงหรือใบจริงตาย), CRFP4 เกิดโรคในระดับ 2 (มีอาการจุดดำน้ำขนาดใหญ่บนใบเลี้ยง) และ MRFP1 เกิดโรคในระดับ 1 (อาการเป็นจุดดำน้ำขอบแผลมีสีเหลืองบนใบเลี้ยง) ภายใน 8 วัน หลังการปลูก

เชื้อ (ภาพที่ 3) จากผลการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคดังกล่าวนี้ เห็นได้ว่าไอโซเลท MRFP2 ทำให้เกิดโรคในระดับที่รุนแรงมากที่สุด จึงนำไอโซเลท MRFP2 ไปใช้ในการทดสอบต่อไป

3. การแยกไรโซแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากเมลอน

การแยกไรโซแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากของต้นเมลอน สามารถแยกได้ทั้งหมด 149 ไอโซเลท โดย 141 ไอโซเลท แยกได้จากตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน ได้แก่ ไอโซเลท S1-S141 และ 8 ไอโซเลทจากศูนย์วิจัย สาคิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้แก่ ไอโซเลท S142-S149

4. การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียปฏิบัติในห้วงปฏิบัติการ

การคัดเลือกไรโซแบคทีเรียปฏิบัติด้วยวิธี paper disc diffusion พบไรโซแบคทีเรียปฏิบัติจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท S93, S97, S125 และ S126 ซึ่งแยกมาจากดินในตำบลบ้านเรือน อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน ทั้ง 4 ไอโซเลท (ภาพที่ 4) โดย ไอโซเลท S125 แสดงผลการยับยั้งมากที่สุด ซึ่งมี inhibition zone เท่ากับ 1.74 เซนติเมตร รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท S93, S97

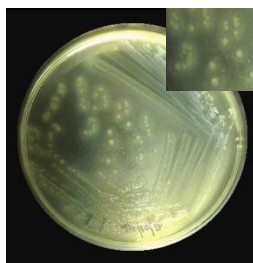


Figure 2. Colonies of pathogenic bacteria, *Acidovorax citrulli*, on modified Tween medium at 25-28 °C for 12 days

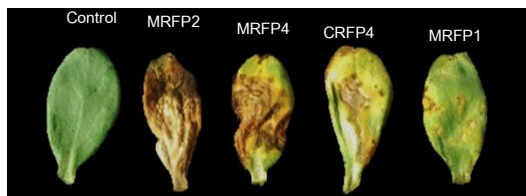


Figure 3. Pathogenicity test of *Acidovorax citrulli* 4 isolates on melon seedlings. Symptom on leaves 8 days after inoculation

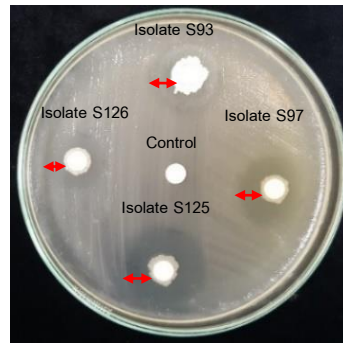


Figure 4. The efficacy of 4 isolates of rhizobacteria against *Acidovorax citrulli* on KB medium at 25-28 C° for 3 days ($\longleftrightarrow$: inhibition zone)

และ S126 สามารถยับยั้งได้ 1.44, 1.36 และ 0.86 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่ง inhibition zone ที่พบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่พบบริเวณยับยั้งเกิดขึ้น (ตารางที่ 1) การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้จากดินด้วยวิธี paper disc diffusion ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช Trivedi *et al.* (2008) ได้ใช้วิธี paper disc diffusion เช่นเดียวกันในการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas corrugate* ที่แยกจากดิน และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternata* และ *Fusarium oxysporum* โดยทำให้เกิดลักษณะ inhibition zone บนอาหารทดสอบ

5. การทดสอบประสิทธิภาพของไรโซแบคทีเรียปฏิบั้ในโรงเรือน

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของไรโซแบคทีเรียปฏิบั้ไอโซเลท MRFP2 ในโรงเรือนทดสอบ โดยการพ่นลงบนต้นกล้าเมลอนอายุ 7 วัน พบว่า ในกรรมวิธีที่ 1 พบอาการจุดน้ำสีน้ำตาล ขอบแผลมีสีเหลือง และเนื้อเยื่อตายบนใบเลี้ยงของต้นกล้าเมลอนในวันที่ 8 (ภาพที่ 5A) พบอาการดังกล่าวในทุกต้นที่ทดสอบ คิดเป็นร้อยละการเกิดโรคเท่ากับ 100 แต่มีความรุนแรงของโรคเป็นร้อยละ 36.66 และคิดเป็นร้อยละของการยับยั้งการเกิดโรคเท่ากับ 63.33 (ตารางที่ 2) กรรมวิธีที่ 2 พบอาการจุดน้ำสีขอบแผลมีสีเหลืองบนใบเลี้ยงในวันที่ 8 (ภาพที่ 5B) โดยคิดเป็นร้อยละการเกิดโรคเท่ากับ 86.67 แต่มีความรุนแรงของโรคร้อยละ 30.00 และคิดเป็นร้อยละของการยับยั้งการเกิดโรคเท่ากับ 70.00 (ตารางที่ 2) กรรมวิธีที่ 3 พบอาการ

บนใบเลี้ยงและใบจริงมีลักษณะฉ่ำน้ำ ต่อมาเกิดเนื้อเยื่อตาย ลำต้นมีสีน้ำตาล และหักพับลง และต้นกล้าตายในที่สุด ในวันที่ 8 (ภาพที่ 5C) โดยคิดเป็นร้อยละการเกิดโรคเท่ากับ 100 ความรุนแรงของโรคเท่ากับร้อยละ 100 ส่วนกรรมวิธีที่ 4 และ 5 พบว่าต้นเมลอนไม่แสดงความผิดปกติ (ภาพที่ 5D และ 5E) เช่นเดียวกับกรรมวิธีที่ 6 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น) ไม่พบความผิดปกติบนต้นกล้าเมลอน (ภาพที่ 5F) จากการทดลองพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิบั้ทั้ง 2 ไอโซเลท เป็นเวลา 2 วัน ก่อนการปลูกเชื้อ สามารถควบคุมโรคได้ดีกว่าการใช้เชื้อปฏิบั้หลังจากการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งการใช้แบคทีเรียปฏิบั้ควบคุมโรคก่อนมีเชื้อสาเหตุเข้าทำลาย กุศล และพิศาล (2556) ได้ทดลองพ่นชีวภัณฑ์ *B. subtilis* B076 ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าในแคนตาลูป พบว่า ลดการเกิดโรคได้มีประสิทธิภาพมากกว่าการพ่นหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคผลเน่า

6. การจัดจำแนกของไรโซแบคทีเรียปฏิบั้

6.1 การศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาเบื้องต้น

การศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาเบื้องต้นของไรโซแบคทีเรียปฏิบั้ไอโซเลท S125 และ S93 การเจริญของไอโซเลท S125 บนอาหาร NA พบว่า โคโลนีมีรูปร่างกลม (circular) สีครีม (cream) ขอบเรียบ (entire) ผิวหน้าเรียบ (smooth) และมันเงา (shiny) มีการยกตัวโค้งนูนจากผิวหน้าอาหาร (convex) (ภาพที่ 6A) ยืนยันผลอีกครั้งด้วยการนำมาตรวจสอบแกรมเบื้องต้นด้วย 3% KOH พบว่ามีลักษณะเป็นสายเหนียวติดกับห่วงถ่ายเชื้อ แสดงว่า

Table 1. *In vitro* antagonistic activity of four rhizobacteria against *Acidovorax citrulli*

Rhizobacteria isolates	Inhibition zone (cm)
S93	1.44 ^{b1}
S97	1.36 ^b
S125	1.74 ^a
S126	0.86 ^c
Control	0.00 ^d
CV (%)	14.46

¹ Means within a column followed by the same letter are not significantly different at $P=0.05$

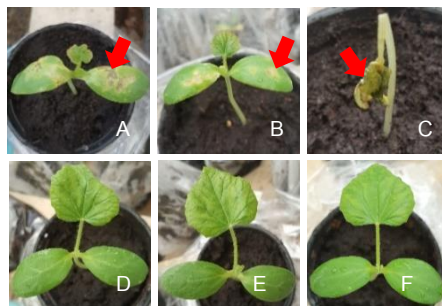


Figure 5. Effect of 2 antagonistic rhizobacteria to control *Acidovorax citrulli* on melon seedling by foliar spray method. T1: spray with isolate S93 for two days then followed by *A. citrulli* (A), T2: spray with isolate S125 for two days then followed by *A. citrulli* (B), T3: spray with *A. citrulli* (C), T4: spray with isolate S93 (D), T5: spray with isolate S125 (E) and T6: spray with distilled water (F) under greenhouse at 28-30 °C, 8 days after *A. citrulli* inoculation

Table 2. Efficacy of 2 antagonistic rhizobacteria to control *Acidovorax citrulli* under greenhouse condition

Treatments	Disease incidence (%)	Disease severity (%)	Control efficacy (%)
T1: spray isolate S93 two days before <i>A. citrulli</i> inoculation	100.00 ^{a1}	36.66 ^b	63.33 ^a
T2: spray isolate S125 two days before <i>A. citrulli</i> inoculation	86.67 ^b	30.00 ^b	70.00 ^a
T3: spray with <i>A. citrulli</i> only	100.00 ^a	100.00 ^a	0.00 ^b
T4: spray with isolate S93 only	0.00 ^c	0.00 ^c	-
T5: spray with isolate S125 only	0.00 ^c	0.00 ^c	-
T6: spray with distilled water (control)	0.00 ^c	0.00 ^c	-
CV (%)	30.07	36.92	32.63

¹ Means within a column followed by the same letter are not significantly different at $P=0.05$

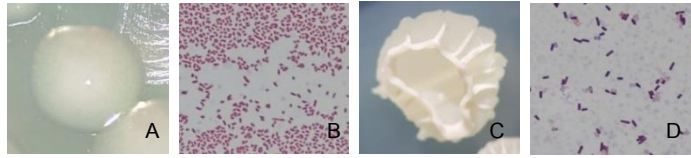


Figure 6. Morphological characteristics of 2 rhizobacteria. Colony of isolate S125 on NA at 5 days (A), gram negative of isolate S125 (B), colony of isolate S93 on NA at 5 days (C) and gram positive of isolate S93 (D)

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ และเมื่อนำมาย้อมแกรมเพื่อ ยืนยันผล พบว่าเซลล์ติดสีแดง (แบคทีเรียแกรมลบ) และมี รูปร่างเป็นแท่ง (rod) (ภาพที่ 6B) และลักษณะของ ไอโซเลท S93 บนอาหาร NA พบว่า โคโลนีมีรูปร่างไม่ แน่นนอน (irregular) สีครีม (cream) ทึบแสง (opaque) ขอบหยัก (undulate) ผิวหน้าย่น (wrinkled) มีการยกตัว สูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย (raised) (ภาพที่ 6C) เมื่อนำมาทดสอบแกรมเบื้องต้นด้วย 3% KOH พบว่าไม่มี ลักษณะเป็นสายเหนียวติดกับห่วงถ่ายเชื้อ แสดงว่าเป็น แบคทีเรียแกรมบวก และยืนยันผลอีกครั้งด้วยการนำมา ย้อมแกรม พบว่าเซลล์ติดสีม่วง (แบคทีเรียแกรมบวก) และมีรูปร่างเป็นแท่ง (rod) (ภาพที่ 6D) ซึ่งวิธีจัดจำแนกไรโซแบคทีเรียปฏิบัติ โดยตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยา เบื้องต้นดังกล่าวนี้ Pandey *et al.* (2006) ได้นำมาใช้จัด จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิบัติ *Pseudomonas putida* (B0) ที่แยกมาจากดินเช่นเดียวกัน

6.2 การจัดจำแนกโดยลักษณะทาง พันธุกรรม (genetic material)

การตรวจสอบดีเอ็นเอของไรโซแบคทีเรีย ปฏิบัติไอโซเลท S125 และ S93 ในบริเวณ 16S rDNA gene เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับ ความเหมือน (sequence alignment) ในฐานข้อมูลของ NCBI ด้วยโปรแกรม BLAST พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ไอโซเลท S125 มีขนาด 910 bp ซึ่งมีความเหมือนกับเชื้อ แบคทีเรีย *Pseudomonas montellii* มากถึงร้อยละ 100 ส่วนไอโซเลท S93 มีขนาด 707 bp และมีความเหมือนกับ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มากถึงร้อยละ 99 มีรายงานการศึกษาที่พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชได้ เช่น Kejela *et al.* (2017) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *P. montellii* ที่แยกได้ จากดินบริเวณรอบรากของต้นกาแฟ เพื่อใช้ในการควบคุม

การเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium oxysporum* ที่เข้าทำลายกาแฟได้ และ Rakh *et al.* (2011) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *P. montellii* ที่ แยกได้จากดินบริเวณรอบรากของพืชวงศ์ถั่ว และพบว่ามี ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุของโรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง นอกจากนี้ กุศล และพิศาล (2556) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการเป็น ปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* B076 ที่แยกจาก รากของต้นถั่วเขียว และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. citrulli* ที่เป็นสาเหตุของโรคผลเน่าของแคนตาลูปได้ และ Medeiros *et al.* (2009) ทดสอบการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *A. citrulli* พบว่า สามารถลดการเกิดโรคที่ติดมากับเมล็ดแตงโม ทำให้ระยะ พักตัวของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคน้อยลง จึงทำให้อาการ ของโรคเกิดได้ช้าลง

สรุป

การสำรวจโรคผลเน่าในแปลงเมลอนและแคนตา ลูปสามารถเก็บตัวอย่างได้ทั้งหมด 22 ตัวอย่าง พบว่ามี เพียง ตัวอย่างเมลอน 4 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *A. citrulli* สาเหตุโรค เมื่อทดสอบความสามารถในการเกิด โรคบนต้นกล้าเมลอน พบว่าเชื้อสาเหตุทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถทำให้เกิดโรคได้ โดยไอโซเลท MRFP2 มีความสามารถทำให้เกิดโรคได้รุนแรงมากที่สุด การแยก เชื้อไรโซแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากของต้นเมลอนที่ แข็งแรงสมบูรณ์ไม่เป็นโรค สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 149 ไอโซเลท และพบว่า มีจำนวน 2 ไอโซเลท ที่สามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้สูงที่สุดได้แก่ ไอโซเลท S125 และไอโซเลท S93 เมื่อนำทั้งสองไอโซเลท มา ทดสอบการควบคุมโรคภายในโรงเรือนทดลอง พบว่า

ไอโซเลท S125 สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ร้อยละ 70.00 และไอโซเลท S93 สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ร้อยละ 63.33 เมื่อจัดจำแนกชนิดของไรโซแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยอาศัยลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA gene พบว่า ไอโซเลท S125 มีความเหมือนกับเชื้อแบคทีเรีย *P. monteilii* และไอโซเลท S93 มีความเหมือนกับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ในการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนในการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กุศล ถมมา และ พิศาล ศิริธร. 2556. ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* B076 เพื่อการเคลือบเมล็ดและพ่นทางใบ เพื่อควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. แก่นเกษตร 41(ฉบับพิเศษ 1): 339-345.

เกวลิน คุณาศักดากุล และ ชัยพร ชัดสงคราม. 2555. การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของลำไย. วารสารเกษตร 28(3): 285-294.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ศรีสุข พูนผลกุล ญัฐริมา ไม้จิตเจริญกุล และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2553. การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงบางชนิดเพื่อการส่งออก. หน้า 1377-1389. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่มที่ 1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

อภิชาติ ศรีสะอาด และ สุพิงศ์ ถิ่นเขาน้อย. 2558. เมล่อน & แคนตาลูป เงินล้าน. นาคา อินเตอร์มีเดีย, กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

อรอุมา เรืองวงษ์ และ เบญจวรรณ ใจจันทร์. 2560. การใช้แอคติโนมัยซีทจากดินเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉาของมะเขือเทศ. วารสารเกษตร 33(1): 49-59.

Burdman, S. and R. Walcott. 2012. *Acidovorax citrulli*: generating basic and applied knowledge to tackle a global threat to the cucurbit industry. Molecular Plant Pathology 13(8): 805-815.

Beveridge, T. J. 2001. Use of the gram stain in microbiology. Biotechnic and Histochemistry 76(3): 111-118.

Crall, J.M. and N.C. Schenck. 1969. Bacterial fruit rot of watermelon in Florida. Plant Disease Reporter 53: 74-75.

Drew, W.L., A.L. Barry, R. O'Toole and J.C. Sherris. 1972. Reliability of the Kirby-Bauer disc diffusion method for detecting methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. Applied Microbiology 24(2): 240-247.

Frankle, W.G., D.L. Hopkins and R.E. Stall. 1993. Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. Plant Disease 77(11): 1090-1092.

Kejela, T., V.R. Thakkar and R.R. Patel. 2017. A novel strain of *Pseudomonas* inhibits *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* infections and promotes germination of coffee. Rhizosphere 4: 9-15.

Kloepper, J.W., R.M. Zablotowick, E.M. Tipping and R. Lifshitz. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. pp. 315-326. In: D.L. Keister and P.B. Cregan (eds.). The Rhizosphere and Plant Growth. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

- Medeiros, F.H.V., I.S.F. Moraes, E.B.S. Neto, E.B. Silveira and R. L. R. Maria. 2009. Management of melon bacterial blotch by plant beneficial bacteria. *Phytoparasitica* 37(5): 453-460.
- O'Brien, R.G. and H.L. Martin. 1999. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 39(4): 479-485.
- Pandey, A., P. Trivedi, B. Kumar and L.M.S. Palni. 2006. Characterization of a phosphate solubilizing and antagonistic strain of *Pseudomonas putida* (B0) isolated from a sub-alpine location in the Indian Central Himalaya. *Current Microbiology* 53(2): 102-107.
- Pinyapong, P.S. 1994. Etiology and factors affecting the development of fruit blotch of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) in Northeastern Thailand. M. S. Thesis. University of the Philippines, Los Baños. 99 p.
- Popovic, T. and Ž. Ivanovic. 2015. Occurrence of *Acidovorax citrulli* causing bacterial fruit blotch of watermelon in Serbia. *Plant Disease* 99(6): 886.
- Rakh, R.R., L.S. Raut, S.M. Dalvi and A.V. Manwar. 2011. Biological control of *Sclerotium rolfsii*, causing stem rot of groundnut by *Pseudomonas cf. monteilii* 9. *Recent Research in Science and Technology* 3(3): 26-34.
- Schaad, N.W., G. Sowell Jr., R.W. Goth, R.R. Colwell and R. E. Webb. 1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 28(1): 117-125.
- Schaad, N.W., E. Postnikova, A. Sechler, L.E. Clafin, A.K. Vidaver, J.B. Jones, I. Agarkova, A. Ignatov, E. Dickstein and B.A. Ramundo. 2008. Reclassification of subspecies of *Acidovorax avenae* as *A. avenae* (Manns 1905) emend., *A. cattleyae* (Pavarino, 1911) comb. nov., *A. citrulli* Schaad *et al.*, 1978) comb. nov., and proposal of *A. oryzae* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology* 31(6-8): 434-446.
- Suslow, T.V., M.N. Schroth and M. Isaka. 1981. Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology* 72(7): 917-918.
- Trivedi, P., A. Pandey and L.M.S. Palni. 2008. *In vitro* evaluation of antagonistic properties of *Pseudomonas corrugate*. *Microbiological Research* 163(3): 329-336.
- Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255(2): 571-586.
- Wang, X., G. Li, D. Jiang and H.C. Huang. 2009. Screening of plant epiphytic yeasts for biocontrol of bacterial fruit blotch (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) of hami melon. *Biological Control* 50(2): 164-171.
- Willems, A., M. Goor, S. Thielemans, M. Gillis, K. Kersters and J. De Ley. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 42(1): 107-119.

การเพิ่มศักยภาพการยับยั้งเชื้อแบงก์มันสำปะหลังสีชมพู ด้วยสารสกัดหยาบไคตินเนสและโปรติเอสร่วมกับเชื้อรา *Beauveria bassiana*

Increasing Exhibitor Potential Against Pink Cassava Mealybug Using Crude Extract of Chitinase and Protease with *Beauveria bassiana*

สุกานดา วิจิตพันธ์ุ์ สุภัทรรสร ทับศรี และ คณิต วิจิตพันธ์ุ์*

Sukanda Vichitphan, Supattarasorn Tabsri and Kanit Vichitphan*

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพและศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร คณะเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

Department of Biotechnology and Fermentation Research for Value Added Agricultural Products, Faculty of Technology,
Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

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

(Received: 15 June 2017; Accepted: 4 January 2018)

Abstract: Chitinase and protease produced from two effective entomopathogenic fungi (*Aspergillus flavus* isolate L21A and *Beauveria bassiana* isolate LARTC2, respectively), exhibited potential properties against pink cassava mealybug (*Phenacoccus manihoti*). In this study, *B. bassiana* isolate LARTC2 was selected to test the virulence of the entomopathogenic fungus supplemented with crude enzyme chitinase and crude protease against 3rd instar nymph of pink cassava mealybug in the laboratory. Virulence was evaluated by percent mortality and median lethal time (LT₅₀). The highest effective treatment was found from the condition by using crude enzyme of both chitinase and protease with spores of *B. bassiana* isolate LARTC2 for a 1 x 10⁷ spores/ml. The percent mortality at day 3 and LT₅₀ were 65.56 ± 4.55% and 2.52 days, respectively. The physical evaluation of dead pink cassava mealybug exposed with spores of *B. bassiana* isolate LARTC2 supplemented with crude chitinase and crude protease at day 3 showed the deterioration of insect and mycelium of fungus covering on the insect. The increasing mycelium with white spores of *B. bassiana* isolate LARTC2 on dead pink cassava mealybug was observed when this insect was incubated at 30 °C for 3 days. These results showed the potential of chitinase and protease in increasing the virulence of entomopathogenic fungi against pink cassava mealybug.

Keywords: Pink cassava mealybug, entomopathogenic fungi, chitinase, protease, *Beauveria bassiana*

บทคัดย่อ: การศึกษาคุณลักษณะเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสที่ผลิตจากราที่มีศักยภาพในการทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (pink cassava mealybug หรือ *Phenacoccus manihoti*) ก่อนหน้านี้นพบว่าเอนไซม์ไคติเนสที่ผลิตจาก *Aspergillus flavus* ไอโซเลท L21A และ โปรติเอสที่ผลิตจาก *Beauveria bassiana* ไอโซเลท LARTC2 มีศักยภาพนำไปใช้ในการทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้เป็นปัจจัยสำคัญในการทำลายเพลี้ยแป้งโดยเอนไซม์จะเข้าย่อยทำลายผนังลำตัวของเพลี้ยแป้งในขั้นตอนแรก จากนั้นราจะเจริญโดยใช้ของเหลวในตัวแมลงเป็นอาหารและทำลายเพลี้ยแป้งในที่สุด การศึกษาครั้งนี้ได้ทดลองนำสารละลายเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสที่ผลิตจากราทั้งสองชนิดมาใช้ร่วมกับสารแขวนลอยสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ที่ความเข้มข้น 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิตร เพื่อเพิ่มพูนแรงในการทำลายตัวอ่อนวัยที่ 3 ของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ในระดับห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่าการใช้สารละลายเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอส ร่วมกับสารแขวนลอยสปอร์รา มีเปอร์เซ็นต์การตาย (percent mortality) ในวันที่ 3 เท่ากับ $65.56 \pm 4.55\%$ และมีค่า LT_{50} เท่ากับ 2.52 วัน ซึ่งเปอร์เซ็นต์การตายนี้มีค่าสูงกว่าการใช้เฉพาะสารละลายเอนไซม์หรือสารแขวนลอยสปอร์ราเพียงอย่างเดียว จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพบนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู และการเจริญของรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 หลังการพ่นด้วยสารละลายเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสร่วมกับสารแขวนลอยสปอร์ราเป็นเวลา 3 วัน พบว่าแมลงถูกทำลาย และมีเส้นใยราปกคลุมตัวเพลี้ยแป้ง ภายหลังจากการนำเพลี้ยแป้งไปบ่ม 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเส้นใยราหนาแน่นขึ้นและสปอร์ของราสีขาวแทงทะลุออกมาและปกคลุมทั่วผนังลำตัวของเพลี้ยแป้ง สรุปได้ว่าสารละลายเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสช่วยเพิ่มความรุนแรงของราในการเข้าทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู

คำสำคัญ: เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ราก่อโรคในแมลง ไคติเนส โปรติเอส *Beauveria bassiana*

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ทำรายได้ให้ประเทศไทยเป็นลำดับ 4 รองลงมาจากยางพารา อ้อย และข้าว ซึ่งสามารถสร้างมูลค่าเข้าสู่ประเทศมากกว่า 6 หมื่นล้านบาทต่อปี ปัจจุบันการผลิตมันสำปะหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 ถึง 2557 นั้น จะพบพื้นที่ในการเพาะปลูกและปริมาณผลผลิตที่ได้โดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้น คิดเป็นร้อยละ 3.4 และ 8.4 ตามลำดับ ในขณะที่ผลผลิตต่อไร่โดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นร้อยละ 4.4 (สถาบันอาหาร, 2558) หากวิเคราะห์สถานการณ์ในแต่ละปีจะพบปัญหาที่เกิดขึ้นในการปลูกมันสำปะหลัง คือการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูที่รุนแรงและต่อเนื่องตั้งแต่ปลายปี พ.ศ. 2551 และต้นปี พ.ศ. 2552 และขยายพื้นที่อย่างรวดเร็วจนถึงปัจจุบันซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจในทุกภาคของพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ในปี พ.ศ. 2559 ได้มีการทำระบบภูมิศาสตร์เพื่อสร้างแบบจำลองถิ่นอาศัย เพื่อทำนายพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูเพื่อใช้ในการตัดสินใจและจัดการป้องกัน

การระบาด (รัฐวารรณ และ เบญจคุณ, 2559) แต่ก็ยังไม่สามารถลดการระบาดได้ เนื่องจากการกำจัดเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูนั้นทำได้ยาก เนื่องจากตามลำตัวของเพลี้ยแป้งสีชมพู ปกคลุมด้วย โปรตีน ไคติน แป้ง และไขมัน ทำให้ยากต่อการทำลาย การกำจัดเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูโดยทั่วไปใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัด แต่ปัญหาจากการใช้สารเคมีพวกนี้มีผลเสียมากมาย การใช้จุลินทรีย์กำจัดแมลงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะจุลินทรีย์หลายชนิดมีประสิทธิภาพในการทำลายสูง ทำลายเฉพาะแมลงศัตรูพืชที่เป็นเป้าหมาย และปลอดภัยต่อผู้ใช้ ราก่อโรคในแมลง (entomopathogenic fungi) เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ได้รับการพัฒนาเพื่อใช้ในการกำจัดแมลง เนื่องจากราในกลุ่มนี้จะมี ความจำเพาะเจาะจงกับแมลงโดยตรง สามารถเข้าสู่ร่างกายของแมลงโดยทางทะลุผ่านเข้าทางผนังลำตัวแมลง และจะเจริญภายในตัวแมลง ทำลายเนื้อเยื่อและระบบต่าง ๆ ทำให้แมลงตาย (ทิพย์วดี, 2535) ปัจจุบันมีการศึกษาเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ รวมทั้งรา โดยเฉพาะกลุ่มของเอนไซม์ที่สามารถย่อยไคติน

โปรตีน และไขมันได้ เพื่อเชื่อมโยงกับความรุนแรงในการก่อโรคของจุลินทรีย์ก่อโรคในแมลงเนื่องจากเอนไซม์เหล่านี้ทำหน้าที่ในการย่อยผนังลำตัวแมลงก่อนที่จะใช้สารอาหารในตัวแมลงเพื่อการเจริญเติบโต (St. Leger *et al.*, 1986a, b) มีรายงานการศึกษาเอนไซม์ที่ผลิตโดยรา *Aspergillus flavus* ในการผลิตเอนไซม์ที่ส่งออกนอกเซลล์ (extracellular enzyme) ได้แก่ ไคตินเนส โปรตีเอส และไลเปส เพื่อใช้ย่อยผนังชั้นนอกของแมลง ทำให้ราสามารถเข้าไปเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนภายในแมลงได้ (Isaka *et al.*, 2005; Firouzbakht *et al.*, 2015) ดังนั้นกลไกเบื้องต้นในการเข้าทำลายแมลงของราจะต้องมีการสังเคราะห์เอนไซม์ไคตินเนสและโปรตีเอสเพื่อทำลายผนังลำตัวก่อนที่จะเข้าไปใช้สารอาหารในตัวแมลง ซึ่งจากกระบวนการนี้จะใช้เวลานาน งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการใช้สารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรตีเอสที่ผลิตจากรา *Aspergillus flavus* ไอโซเลท L21A และ *Beauveria bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ที่ Tabsri *et al.* (2016) ได้ศึกษาค้นคว้าแล้วพบว่ามีความสามารถนำมาใช้ร่วมกับสารแขวนลอยสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ในการทดสอบประสิทธิภาพและความรุนแรงเพื่อลดระยะเวลาในการทำลายเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุที่ใช้ในงานวิจัย

วัสดุที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ. ดร. มาลี ตั้งระเบียบ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ใช้ในการผลิตสปอร์และเอนไซม์โปรตีเอส ส่วนรา *A. flavus* ไอโซเลท L21A ที่คัดแยกได้จากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (ภัทรภา, 2556) นำมาใช้ผลิตเอนไซม์ไคตินเนส

2. การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2

เลี้ยงราในอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน หรือจนรา

เจริญและสร้างสปอร์ จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของรา โดยชะสปอร์ของ *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และปรับจำนวนสปอร์ให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 8.15×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3. การเตรียมสารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรตีเอส

เตรียมสารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรตีเอสตามวิธีของ Tabsri *et al.* (2016) โดยมีรายละเอียดดังนี้ นำสารแขวนลอยสปอร์รา *A. flavus* ไอโซเลท L21A และ *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 เติมนลงในอาหารเหลว Sabouraud's dextrose yeast extract (SDY) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นเข้มข้น 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยสปอร์ของ *A. flavus* ไอโซเลท L21A ใช้ในการผลิตเอนไซม์ไคตินเนส ส่วนสปอร์ของ *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ใช้ในการผลิตเอนไซม์โปรตีเอส บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 150 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายไม่ซีเลียมของ *A. flavus* ไอโซเลท L21A พร้อมอาหารลงในอาหารเหลว basal salt broth 200 มิลลิลิตร ที่มี 2% (w/v) colloidal chitin เพื่อเหนี่ยวนำให้ผลิตเอนไซม์ไคตินเนส ส่วนไม่ซีเลียมของ *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 พร้อมอาหารถ่ายลงในอาหารเหลว basal salt broth 200 มิลลิลิตร ที่มี 1% (w/v) skim milk powder เพื่อเหนี่ยวนำให้ผลิตเอนไซม์โปรตีเอส จากนั้นนำไปเขย่าที่ 200 rpm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 และ 12 วัน ตามลำดับ บ่มเหวี่ยงแยกเอาส่วนใสซึ่งเป็นสารละลายเอนไซม์ (crude enzyme) ที่มีกิจกรรมเอนไซม์ไคตินเนส 3.52 U/ml และเอนไซม์โปรตีเอส 187.35 U/ml ไปใช้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

เชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ จังหวัดขอนแก่น โดยมีขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ให้ได้ด้วยเดียวกัน โดยเริ่มจากการปลูกต้นมันสำปะหลังให้มีอายุ 2 เดือน แล้วใช้พริกแห้งแช่ในน้ำแช่เชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ลงบนยอดมันสำปะหลังต้นละ 2 ถึง 3 ถัง ปล่อยให้เชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

สำปะหลังสีชมพูเจริญเติบโตบนต้นมันสำปะหลัง เป็นระยะเวลา 14 ถึง 16 วัน ซึ่งอยู่ในวัย 3 เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไป (ภัทรภา, 2556)

5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายเอนไซม์ไคตินเนส โปรติเอส และสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ในการทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู

การทดลองนี้ทำตามวิธีของ ภัทรภา (2556) มีการดัดแปลงเล็กน้อย โดยนำใบมันสำปะหลังที่ล้างจนสะอาดแล้วมาตัดเป็นชิ้นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.0 เซนติเมตร นำมาวางลงบนผิวหน้าแผ่นวุ้นเข้มข้น 0.7% (w/v) ในกล่องพลาสติกโดยหันด้านใต้ใบขึ้น จากนั้นแช่ตัวอ่อนวัยที่ 3 ของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ลงบนใบมันสำปะหลัง จำนวน 30 ตัวต่อ 1 กล่อง ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี จากนั้นเตรียมสารละลาย

เอนไซม์ไคตินเนส โปรติเอส และสปอร์ราของรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ตามตารางที่ 1 โดยมีกรรมวิธีทั้งหมด 8 กรรมวิธี ดังนี้ T1 control (0.1% (v/v) tween 80) T2 (crude chitinase) T3 (crude protease) T4 (crude chitinase + crude protease) T5 (สปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2) T6 (สปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 + crude chitinase) T7 (สปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 + crude protease) และ T8 (สปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 + crude chitinase + crude protease) โดยกรรมวิธีที่มีสปอร์รามีความเข้มข้นสุดท้าย 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นพ่นสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตร ของแต่ละกรรมวิธี โดยใช้หัวสเปรย์พ่นฝอยขนาดจุขวด 5 มิลลิลิตร มีระยะการสเปรย์ห่างจากกล่องพลาสติก 30 เซนติเมตร เก็บกล่องที่พ่นแล้วในกรงที่มีมุ้งลวดป้องกันแมลงที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นตรวจนับจำนวนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู

Table 1. Composition of crude chitinase, crude protease and spores *Beauveria bassiana* isolate LARTC2 of treatment T1 to T8

Treatments	Spore suspension (8.15×10^7 spores/ml) (μl) ¹	Tween 80 (10% (v/v)) (μl) ²	0.1 M phosphate buffer pH 6.0 (μl)	Crude enzyme ³	
				Protease (μl)	Chitinase (μl)
T1 (0.1% (v/v) Tween 80)	-	10	990	-	-
T2 (crude chitinase)	-	10	590	400	-
T3 (crude protease)	-	10	590	-	400
T4 (crude chitinase + crude protease)	-	10	190	400	400
T5 (spores of <i>B. bassiana</i> isolate LARTC2)	122	10	868	-	-
T6 (spores of <i>B. bassiana</i> isolate LARTC2 + crude chitinase)	122	10	468	400	-
T7 (spores of <i>B. bassiana</i> isolate LARTC2 + crude protease)	122	10	468	-	400
T8 (spores of <i>B. bassiana</i> isolate LARTC2 + crude protease + crude chitinase)	122	10	68	400	400

¹ Final concentration is 1×10^7 spores/ml in 1 ml of each treatment

² Final concentration is 0.1 % (v/v) Tween 80 in 1 ml of each treatment

³ Activities of chitinase and protease are 3.52 U/ml and 187.35 U/ml, respectively

ที่ตายหลังจากพ่นเป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 7 วัน โดยแยกเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูที่ตายในวันที่ 3 ออกมา บ่มเพื่อตรวจสอบการเข้าทำลายของสารละลายเอนไซม์ไคตินเอส โปรติเอส และสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 โดยใช้ฟูกันเขี่ยเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูที่ตายวางลงบนกระดาษชรองเบอร์ 1 ในจานแก้วปลอดเชื้อ เส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร ให้ความชื้นโดยใช้ฟองน้ำชุบน้ำกลั่นปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน สังเกตและบันทึกลักษณะการตายของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู และลักษณะของราที่เจริญปกคลุมตัวเพลี้ยแป้งสีชมพู เปรียบเทียบผลการทดลองกับกรรมวิธี T1 นำข้อมูลที่ได้มาหาเปอร์เซ็นต์การตาย (percent mortality) และวิเคราะห์หาระยะเวลาในการทำให้เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (median lethal time: LT_{50}) ด้วยวิธี probit analysis (Finney, 1971) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป StatPlus

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนเพลี้ยแป้งสีชมพูที่ตาย} \times 100}{\text{จำนวนเพลี้ยแป้งสีชมพูเริ่มต้น}}$$

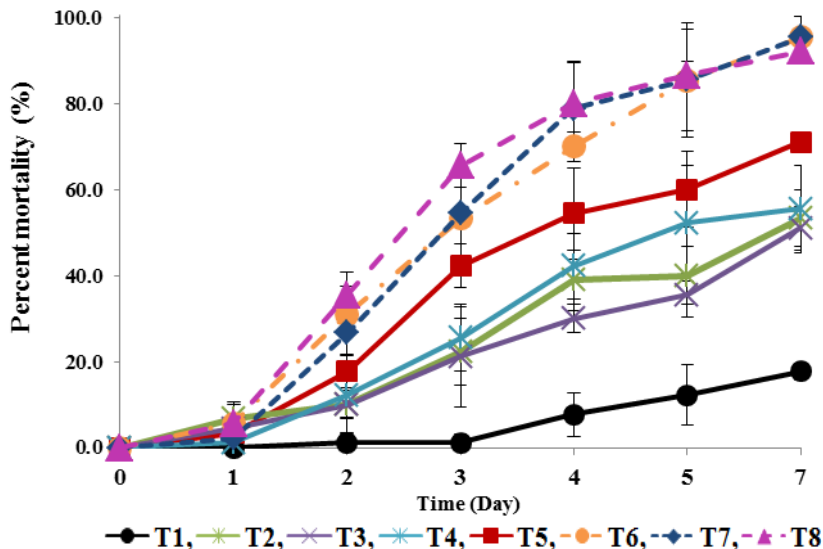


Figure 1. Percent mortality of 3rd instar nymph of pink cassava mealybug after exposed with treatment T1 to T8 for 7 days: T1 = 0.1% (v/v) tween 80, T2 = crude chitinase, T3 = crude protease, T4 = crude chitinase + crude protease, T5 = spores of *B. bassiana*, T6 = spores of *B. bassiana* + crude chitinase, T7 = spores of *B. bassiana* + crude protease and T8 = spores of *B. bassiana* + crude chitinase + crude protease

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบในห้องปฏิบัติการวางแผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics 17.0

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ผลการทดสอบความสามารถของรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ร่วมกับสารละลายเอนไซม์ไคตินเอสและ โปรติเอสในการเข้าทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูในระดับห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบสารแขวนลอยสปอร์ของรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ร่วมกับสารละลายเอนไซม์ไคตินเอสและ โปรติเอสในการเข้าทำลายตัวอ่อนวัยที่ 3 ของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วย 0.1% (v/v) Tween 80 (T1) เป็นเวลา 7 วัน ดังแสดงในภาพที่ 1 พบว่าทุกกรรมวิธี มีเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยแป้งสูงขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้

ในการทดสอบ แต่กรรมวิธีที่มีสารแขวนลอยสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ใช้ร่วมกับสารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรติเอส (T6, T7, T8) มีอัตราเร็วในการตายสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ โดยดูได้จากความชันของเส้นกราฟในช่วง 1-4 วัน เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ของวันที่ 3 หลังการฉีดพ่น ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2 พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูของกรรมวิธี T2-T8 อยู่ในช่วง $21.11 \pm 10.47 - 65.56 \pm 4.55\%$ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่ากรรมวิธี T1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ ส่วนกลุ่มที่ใช้เฉพาะสารละลายเอนไซม์ (T2-T4) มีเปอร์เซ็นต์การตายต่ำกว่า กลุ่มที่มีสารแขวนลอยสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ แม้ว่าในกลุ่มที่มีสารแขวนลอยสปอร์รา (T5-T8) ไม่พบเปอร์เซ็นต์การตายที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ แต่อย่างไรก็ตามกรรมวิธี T8 ที่มีสารแขวนลอยสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ร่วมกับสารละลายเอนไซม์ทั้งสองชนิด (ไคตินเนสและโปรติเอส) มีความสามารถในการทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูได้สูงที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ $65.56 \pm 4.55\%$ และจากการหาค่าระยะเวลาในการทำให้เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LT_{50}) ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า กลุ่มของสารแขวนลอยสปอร์รา

B. bassiana ไอโซเลท LARTC2 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิเมตร ที่ใช้ร่วมกับสารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรติเอส (T8) มีค่า LT_{50} น้อยที่สุด เท่ากับ 2.52 วัน หมายความว่าเพลี้ยแป้งสีชมพูถูกทำลายได้เร็วที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์การตายที่มีค่าสูงที่สุดสรุปได้ว่าสารละลายเอนไซม์ช่วยเพิ่มความรุนแรงของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ในการทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Ortiz *et al.* (2010) ได้หาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีนที่สังเคราะห์จาก *B. bassiana* ที่เลี้ยงในอาหารต่างชนิดกัน ในการทำลายหนอนผีเสื้อกินใบฝรั่ง (*Galleria mellonella*) พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนที่ราผลิตได้ และจากรายงานของ Pelizza *et al.* (2012) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างราก่อโรคกับกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนส โดยทดสอบราก่อโรค 59 ไอโซเลท พบว่า *B. bassiana* ไอโซเลท LPSC1067 สามารถผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้สูงสุด และมีความสามารถในการทำลายตักแตนซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การตาย 97.7% และใช้ระยะเวลาในการเข้าทำลายตักแตน 3.19 วัน และจากรายงานของ Zhang *et al.* (2011) ได้คัดเลือกรา *B. bassiana* จากตัววงเปลือกแข็ง *Dendroctonus valens* ที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสทั้งหมด 12 ไอโซเลท และพบว่า *B. bassiana* ไอโซเลท Bb1801 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้สูงและสามารถ

Table 2. Percent mortality of 3rd instar nymph of pink cassava mealybug at day 3 after exposed with T1 to T8¹ and LT_{50} of 1×10^7 spores/ml of *B. bassiana*

Treatments	Percent mortality (%) $\pm$ SD	LT_{50} (day) (95% fiducial limits)
T1 (0.1% Tween 80)	1.11 ± 1.72^a	-
T2 (crude chitinase)	21.11 ± 10.47^b	6.54 (6.12-6.96)
T3 (crude protease)	22.22 ± 6.89^b	6.17 (5.43-6.91)
T4 (crude chitinase + crude protease)	25.56 ± 6.89^b	5.61(4.82-6.40)
T5 (spores of <i>B. bassiana</i>)	42.22 ± 4.55^c	4.46 (4.05-4.87)
T6 (spores of <i>B. bassiana</i> + crude chitinase)	54.44 ± 9.58^{cd}	3.18 (2.66-3.70)
T7 (spores of <i>B. bassiana</i> + crude protease)	53.33 ± 0.00^{cd}	3.13 (3.02-3.24)
T8 (spores of <i>B. bassiana</i> + crude chitinase + crude protease)	65.56 ± 4.55^d	2.52 (2.40-2.64)

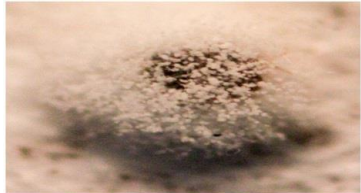
¹ Different superscripts within the same column indicate significant differences ($P < 0.05$)

ทำให้ด้วง *D. valens* ตาย 100% มีค่า LT_{50} 4.6 วัน ที่ความเข้มข้น 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Fang *et al.* (2009) ได้ทำการตัดต่อยีนโปรติเอสและไคตินเนสเข้าไปในยีนของ *B. bassiana* เพื่อให้ผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิดเพิ่มมากขึ้น ผลการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มความรุนแรงของรา *B. bassiana* ในการทำลาย *G. mellonella* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และ Fan *et al.* (2010) ได้รายงานการตัดต่อยีนของไคตินเนสเข้าไปใน *B. bassiana* ซึ่งทำให้มีการสังเคราะห์ไคตินมากกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิมทำให้ศักยภาพในการทำลายไคตินที่เป็นส่วนประกอบที่ผนังของแมลงได้เพิ่มขึ้น

2. ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเพลี้ยแป้งบนลำปะหลังสีชมพูที่ตายหลังการทดสอบความสามารถของรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ร่วมกับสารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรติเอสในการเข้าทำลาย

ผลการศึกษาลักษณะการทำลายเพลี้ยแป้งบนลำปะหลังสีชมพู หลังจากการฉีดพ่น 3 วัน และการเจริญของเชื้อรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 บนเพลี้ยแป้งบนลำปะหลังสีชมพู เมื่อนำไปบ่มเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสของกรรมวิธี T1, T4, T5 และ T8 (ตารางที่ 3) สรุปได้ว่าการฉีดพ่น 3 วัน กรรมวิธี T5

Table 3. Physical and morphological changes of 3rd instar nymph of pink cassava mealybug after 3 days exposed to treatment T1, T4, T5 and T8 and the growth of *B. bassiana* isolate LARTC2 after incubated at 30 °C for 3 days

Treatments	3 days after exposure	After 3 days of incubation
T1 (0.1% Tween 80)		
T4 (crude chitinase + crude protease) ¹		
T5 (spores of <i>B. bassiana</i>) ²		
T8 (spores of <i>B. bassiana</i> + crude chitinase + crude protease)		

¹ Activities of chitinase and protease are 1.40 U (400 µl) and 74.94 U (400 µl), respectively.

² Spore concentration is 1×10^7 spores/ml

ที่มีเฉพาะสารแขวนลอยสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 และ T8 ที่มีสารแขวนลอยสปอร์ราพร้อมกับสารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรติเอส มีผลทำให้ผนังลำตัวของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูถูกทำลายและมีเส้นใยราเริ่มปกคลุมตัวเพลี้ยแป้ง โดยเฉพาะ T8 ผนังลำตัวถูกทำลายมากกว่า ซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับการที่สารละลายเอนไซม์ไคตินเนส และโปรติเอสที่เติมเข้าไปจะย่อยผนังลำตัวแมลงก่อนโดยไม่ต้องรอให้ราสร้างเองซึ่งต้องใช้เวลา นานกว่า ซึ่งแตกต่างจาก T1 และ T4 ที่ผนังลำตัวของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูยังสมบูรณ์ และราเจริญไม่ชัดเจน เมื่อนำไปบ่มเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า T5 และ T8 ผนังลำตัวถูกทำลายมากขึ้น เนื่องจากราใช้อาหารในตัวเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู โดยสังเกตเห็นเส้นใยและสปอร์ของราสีขาว *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 แทงทะลุออกมา และปกคลุมผนังลำตัวของเพลี้ยแป้งเพิ่มขึ้น ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลของสารละลายเอนไซม์เพิ่มความเร็วในการทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูของการทดลองข้างต้น และสอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่าการเพิ่มปริมาณเอนไซม์โปรติเอสและไคตินเนส สามารถเพิ่มความรุนแรงของรา *B. bassiana* ในการทำลายผนังชั้นนอกของแมลง ทำให้ราสามารถทำลายและเข้าไปเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนภายในแมลงได้อย่างรวดเร็ว (Fan *et al.*, 2010; Fang *et al.*, 2009; Firouzbakht *et al.*, 2015; Ortiz *et al.*, 2010) จากรายงานของ El-Sinary (2002) และ Quesada *et al.* (2006) พบว่าแมลงที่ได้รับเชื้อก่อโรคเข้าไป 3-5 วัน เส้นใยของราจะเจาะเข้าไปในตัวแมลงและปลดปล่อยเอนไซม์ไคตินเนสมาขัดขวางการสร้างไคติน ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนหลังการฟ้น 2 วัน โดยเส้นใยของราจะเข้าไปทางหลอดลม เยื่อผิวหนังบาง ๆ และผิวหนังกำพำของเซลล์ หลังจาก 3 วัน ราที่เข้าไปในตัวแมลงจะเจริญสร้างเส้นใยแผ่กระจายจนเต็มตัวแมลงแย่งแร่ธาตุอาหาร และทำลายอวัยวะรวมถึงกลไกต่าง ๆ ในระบบตัวแมลง และหลังจาก 4 วัน ที่แมลงได้รับเชื้อราก่อโรค แมลงจะตาย 100%

สรุป

จากการใช้สารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรติเอสจากราที่มีศักยภาพในการทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังที่ผลิตจากรา *A. flavus* ไอโซเลท L21A และรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 ตามลำดับ ร่วมกับสปอร์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 พบว่าสารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรติเอสสามารถเพิ่มประสิทธิภาพและความรุนแรง ลดระยะเวลาในการเข้าทำลายเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูของรา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2 อย่างมีนัยสำคัญ เป็นไปได้ว่าสารละลายเอนไซม์ไคตินเนสและโปรติเอสที่เติมลงไปจะเริ่มทำงานโดยการย่อยผนังของแมลงในขั้นตอนแรกทันที โดยไม่ต้องรอให้ราสร้างสารละลายเอนไซม์ทั้งสองชนิดมาเพื่อย่อยผนังแมลง ทำให้ลดระยะเวลาในการเข้าทำลายแมลงโดยที่ราจะแทงเส้นใยเข้าสู่ตัวแมลง และทำให้แมลงตายในที่สุดได้อย่างรวดเร็ว

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช) ทุนอุดหนุนปี พ.ศ. 2556 มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอขอบคุณ ผศ.ดร.มาลี ตั้งระเบียบที่ให้ความอนุเคราะห์รา *B. bassiana* ไอโซเลท LARTC2

เอกสารอ้างอิง

- ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2535. โรควิทยาของแมลง. เอกสารทางวิชาการ. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 205 หน้า.
- ภัทรา พิมพ์พันธ์. 2556. การคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู (*Phenacoccus manihoti*) ในมันสำปะหลัง.

- วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.
มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 79 หน้า.
- รัชฎาวรรณ เงินกลิ่น และ เบญจคุณ แสงทองพราว. 2559.
ระบบสารสนเทศเพื่อการตัดสินใจและการ
จัดการเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู
Phenacoccus manihoti Matile-Ferrero
(Hemiptera: Pseudococcidae) ในภาคตะวันออก
และภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกของประเทศไทย. วารสารเกษตร 32(3): 357-368.
- สถาบันอาหาร. 2558. อุตสาหกรรมมันสำปะหลังของไทย.
(ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://fic.nfi.or.th/foodsectordatabank-all2_detail.php?cat=8&type=1 (มีนาคม 2558).
- El-Sinary, N.H. 2002. Influence of the
entomopathogenic fungus, *Beauveria
bassiana* (Balsamo) on the mature larvae of
the potato tuber moth, *Phthorimaea
operculella* (Zeller) under different degrees
of temperature and relative humidity.
Mansoura University Journal of Agricultural
Sciences 27(8): 4151-4161.
- Fan, Y., X. Pei, S. Guo, Y. Zhang, Z. Luo, X. Liao and
Y. Pei. 2010. Increased virulence using
engineered protease-chitin binding domain
hybrid expressed in the entomopathogenic
fungus *Beauveria bassiana*. Microbial
Pathogenesis 49(6): 376-380.
- Fang, W., J. Feng, Y. Fan, Y. Zhang, M.J. Bidochka,
R.J. St. Leger and Y. Pei. 2009. Expressing
a fusion protein with protease and chitinase
activities increases the virulence of the
insect pathogen *Beauveria bassiana*.
Journal of Invertebrate Pathology 102(2):
155-159.
- Finney, D.J. 1971. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge
University Press, Cambridge, 333 p.
- Firouzbakht, H., A. Zibaei, H. Hoda and M.M.
Sohani. 2015. Purification and
characterization of the cuticle-degrading
proteases produced by an isolate of
Beauveria bassiana using the cuticle of
predatory bug, *Andrallus spinidens*
Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae).
Journal of Plant Protection Research 55(2):
179-186.
- Isaka, M., P. Kittakoop, K. Kirtikara, N.L. Hywel-Jones
and Y. Thebtaranonth. 2005. Bioactive
substances from insect pathogenic fungi.
Accounts of Chemical Research 38(10):
813-823.
- Ortiz, U.A., L. Riveiro-Miranda, C. Santiago-Alvarez
and E. Quesada-Moraga. 2010. Insect-toxic
secreted proteins and virulence of the
entomopathogenic fungus *Beauveria
bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology
105(3): 270-278.
- Pelizza, S.A., L.A. Eliades, M.C.N. Saparrat, M.N.
Cabello, A.C. Scorsetti and C.E. Lange.
2012. Screening of Argentine native fungal
strains for biocontrol of the grasshopper
Tropidacris collaris: relationship between
fungal pathogenicity and chitinolytic
enzyme activity. World Journal of
Microbiology and Biotechnology 28(4):
1359-66.
- Quesada-Moraga, E., A. Ruiz-Garcia and C.
Santiago-Álvarez. 2006. Laboratory
evaluation of entomopathogenic fungi
Beauveria bassiana and *Metarhizium
anisopliae* against puparia and adults of
Ceratitis capitata (Diptera: Tephritidae).
Journal of Economic Entomology 99(6):
1955-1966.
- St. Leger, R.J., R.M. Cooper and A.K. Charnley.
1986a. Cuticle-degrading enzymes of
entomopathogenic fungi: cuticle

- degradation *in vitro* by enzymes from entomopathogens. Journal of Invertebrate Pathology 47(2): 167-177.
- St. Leger, R.J., A.K. Charnley and R.M. Cooper. 1986b. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: mechanisms of interaction between pathogen enzymes and insect cuticle. Journal of Invertebrate Pathology 47(3): 295-302.
- Tabstri, S., K. Vichitphan and S. Vichitphan. 2016. Characterization of chitinase and protease production from entomopathogenic fungi against pink cassava mealybug. pp. 381-391. *In*: Proceeding of The National and International Graduate Research Conference 2016 (NIGRC KKU-2016). Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand.
- Zhang, L., Y. Liu, J. Yao, B. Wang, B. Huang, Z. Li, M. Fan and J. Sun. 2011. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) isolates as potential agents for control of *Dendroctonus valens*. Insect Science 18(2): 209-216.
-

ผลของรูปแบบรังไม้ประกอบต่อการจัดวางถ้วยอาหารของชันโรง

Tetragonula laeviceps Species Complex

Effects of Hive Patterns on Storage Pot Arrangement of Stingless Bees,

Tetragonula laeviceps Species Complex

สมฤทัย ใจเย็น จิราพร กุลสาริน* ไสว บุรณพานิชพันธุ์ และ กนกวรรณ คำยอดใจ

Somruetai Jaiyen, Jiraporn Kulsarin*, Sawai Buranapanichpan and Kanokwan Khamyotchai

ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

*Corresponding author: Email: j.tayuti@gmail.com

(Received: 22 September 2017; Accepted: 15 January 2018)

Abstract: Stingless bees, *Tetragonula laeviceps* species complex, are beneficial to agriculture and ecosystem. They are efficient pollinator of many flowers and produce honey with nutritional value and good price. However, the harvest of stingless bee honey is difficult because it is arranged in overlapping to brood colonies in the standard wooden hive. Thus, the objective of this study is to investigate the effects of different hive patterns on stingless bee storage pots arrangement. The study was composed of 3 parts. First, four wooden stingless bee hive patterns 1) Standard wooden hive (SH) 2) Standard size with cross shaped wood hive (SCH) 3) Standard size with parallel shaped wood hive (SPH) and 4) Long wood hive (LH) were used to evaluate the arrangement pattern. The result showed that the hive pattern 2, 3 and 4 honey pots were arranged separated to brood colonies. Second, Five wooden stingless bee hive patterns were used in this study including 1) Standard wooden hive (SH), 2) Standard crossed and netted wooden hive (SCNH), 3) Longer wooden hive connected with double layer small wooden hive (LCDH), 4) Three partitions in longer wooden hive connected with double layer small wooden hive (TLCDH), and 5) Double layer wooden hive (DH). The brood colonies and storage pots of stingless bee were equally divided and put in each hive as initial colony. Observations on development of the colony structure were recorded every week by weighing and every month by photographing. The result showed that brood colonies and storage pots in four patterns of hive (SH, LCDH, TLCDH and DH) were overlapping arrangement whereas those in SCNH was clearly separated. The brood chambers were found on net and storage pots located under the net. This pattern of hive showed the highest final weight of stingless bee cells at 1.13 kg while those of SH, LCDH, TLCDH and DH were 0.66, 0.66, 0.69 and 0.20 kg, respectively. Third, the study on the suitable size of SCNH revealed that the size of 21x30x20 cm was the most appropriate hive due to the weight of stingless bee cells was maximum when compared to the other sizes.

Keywords: Wood hive patterns, nest construction behavior, *Tetragonula laeviceps*

บทคัดย่อ: ชันโรง *Tetragonula laeviceps* species complex เป็นแมลงที่มีประโยชน์ต่อการเกษตรและระบบนิเวศ ช่วยผสมเกสรดอกไม้หลายชนิดอย่างมีประสิทธิภาพและผลิตน้ำผึ้งชันโรงที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและขายได้ราคาดี อย่างไรก็ตาม การเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งชันโรงในรังไม้มาตรฐานที่ใช้เลี้ยงทั่วไปยังทำได้ยาก เนื่องจากโครงสร้างของถ้วยเก็บน้ำผึ้งและถ้วยเก็บเกสร กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนอยู่ทับซ้อนกัน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาผลของรูปแบบรังไม้ประกอบต่อการจัดวางถ้วยเก็บอาหารของชันโรงประกอบด้วย 3 ส่วน ส่วนแรกศึกษารูปแบบรังไม้ที่เหมาะสมและง่ายต่อการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งชันโรง ด้วยรังไม้ประกอบที่มีรูปแบบรังไม้ที่แตกต่างกัน 4 แบบ 1. รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐาน (SH) 2. รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานภายในวงไม้ไขว้เป็นมุมฉาก (SCH) 3. รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานภายในวงไม้ยาวคู่ขนาน (SPH) และ 4. รังไม้ประกอบยาว (LH) ทำการแยกรังชันโรงใส่ในรังไม้แต่ละรูปแบบ พบว่ารังไม้ SCH และรังไม้ SPH มีการสร้างกลุ่มไข่และตัวอ่อนแยกจากกลุ่มถ้วยเก็บอาหารอย่างชัดเจน ส่วนที่ 2 ศึกษาแบบรังไม้ประกอบที่มีผลต่อการจัดเรียงถ้วยเก็บอาหารของชันโรงในรังไม้ประกอบที่มีรูปแบบรังไม้ที่แตกต่างกัน 5 รูปแบบ คือ 1. รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐาน (SH) 2. รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานที่วงไม้ไขว้เป็นมุมฉากและมีตาข่ายอยู่ด้านบนไม้ (SCNH) 3. รังไม้ประกอบเล็กสองชั้นเชื่อมต่อกับรังไม้ประกอบยาวด้านหน้า (LCDH) 4. รังไม้ประกอบเล็กสองชั้นเชื่อมต่อกับรังไม้ประกอบยาวที่แบ่งเป็นสามช่อง (TLCDH) และ 5. รังไม้ประกอบสองชั้น (DH) ทำการแยกรังชันโรงโดยนำกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อน และถ้วยเก็บอาหารที่ปริมาณเท่ากันใส่ในรังไม้ประกอบแต่ละรูปแบบ สังเกตและบันทึกผลการพัฒนาของโครงสร้างรังชันโรงโดยชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์และถ่ายภาพทุกเดือน พบว่าการจัดวางตัวของกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อน รวมทั้งถ้วยเก็บอาหารทับซ้อนกันในรังไม้สี่รูปแบบ (SH, LCDH, TLCDH และ DH) แต่สำหรับรังไม้ SCNH มีการจัดวางตัวของกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนรวมทั้งถ้วยเก็บอาหารแยกออกจากกันอย่างชัดเจน โดยกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนจัดเรียงอยู่ด้านบนตาข่าย ส่วนถ้วยเก็บอาหารอยู่ด้านล่างของตาข่าย และมีน้ำหนักสุดท้ายของรังชันโรงสูงสุดเท่ากับ 1.13 กิโลกรัม ขณะที่รังแบบ SH, LCDH, TLCDH และ DH มีน้ำหนักของรังชันโรงเท่ากับ 0.66, 0.66, 0.69 และ 0.20 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนที่ 3 ศึกษาหาขนาดที่เหมาะสมของรังไม้ SCNH พบว่ารังไม้ SCNH ขนาด 21x30x20 เซนติเมตร มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้น้ำหนักของรังชันโรงสูงสุดเท่ากับ 1.20 กิโลกรัม เมื่อเทียบกับรังไม้ชนิดอื่น

คำสำคัญ: รูปแบบรังไม้ พฤติกรรมการสร้างรัง ชันโรง *Tetragonula laeviceps*

คำนำ

ชันโรง *Tetragonula laeviceps* species complex เป็นแมลงจำพวกผึ้งที่ไม่มีเหล็กใน จัดอยู่ในอันดับ Hymenoptera วงศ์ Apidae วงศ์ย่อย Meliponinae เผ่า Meliponini (Michener, 2000) ข้อมูลด้านอนุกรมวิธาน ชันโรงมีการกระจายตัวในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก สำหรับข้อมูลด้านชีววิทยาของชันโรง *T. laeviceps* มีความกว้างส่วนหัว 1.69-1.79 มิลลิเมตร (Sakagami, 1978) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าชันโรง *T. laeviceps* นั้นอาจประกอบด้วย 2 ชนิด หรือมากกว่าเนื่องจากมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคลายคลึงกันหลายชนิด (Bänziger and Khamyothchai, 2014) มีลักษณะทางชีววิทยาพื้นฐานเหมือนกับผึ้งในวงศ์ย่อย Apinae ในการเก็บน้ำผึ้ง

และการแบ่งหน้าที่ของแรงงานภายในรัง เช่น ผึ้งงานมีหน้าที่เก็บเกสร เก็บน้ำผึ้ง เก็บยางไม้ไว้ในรังและมีผึ้งพยาบาลทำหน้าที่ดูแลผึ้งอ่อน เป็นต้น (Roubik, 2006) ชันโรงเป็นแมลงที่มีประโยชน์ต่อการเกษตรและระบบนิเวศ เนื่องจากชันโรงเป็นแมลงผสมเกสรที่มีประสิทธิภาพ (Slaa et al., 2006) และสามารถผสมเกสรได้อย่างละเอียดอ่อนนิ่มนวล เพราะมีลำตัวขนาดเล็ก มีความขยันสามารถตอมดอกไม้ได้หลายชนิด อีกทั้งสามารถลงตอมดอกไม้ที่ผ่านการตอมของแมลงผสมเกสรชนิดอื่นได้ ชันโรงบางชนิดสามารถเก็บอาหารในรังได้ไม่เกิน 300 เมตร มีพฤติกรรมการเก็บเกสรอย่างเด่นชัด อีกทั้งเป็นแมลงที่ไม่มีเหล็กในจึงไม่มีอันตรายต่อมนุษย์ และสัตว์เลี้ยงจึงสามารถเลี้ยงชันโรงไปพร้อม ๆ กับการทำการเกษตรอื่น ๆ เช่น ทำสวนผลไม้ ปลูกพืชผัก พืชไร่ เลี้ยง

เปิดเลี้ยงไก่ และเลี้ยงวัว ได้อย่างไม่เป็นอุปสรรค ชันโรง *T. laeviceps* มีแหล่งอาศัยที่หลากหลายสามารถพบได้ทั้งในโพรงธรรมชาติและโพรงเทียม (สมนึก, 2541) ในโพรงธรรมชาติสร้างรังมากที่สุดในดินโพธิ์ ส่วนในสิ่งก่อสร้างของมนุษย์สามารถสร้างมากที่สุดในโพรงปูนซีเมนต์ (กนกวรรณ และคณะ, 2558) แตกต่างจากผึ้งโพรงที่นิยมเลี้ยงในขอนไม้แบบดั้งเดิมซึ่งมีลักษณะเป็นท่อนไม้ท่อนที่ภายในเป็นโพรง (วีรยา และคณะ, 2554) น้ำผึ้งจากชันโรงยังให้ประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์เพราะมีชั้นผึ้งที่ให้น้ำผึ้งสมบูรณ์พร (อัญชลี, 2556) สามารถจำหน่ายได้ในราคาที่สูงกว่าน้ำผึ้งอุตสาหกรรม และเป็นที่ต้องการของตลาด ทำให้ชันโรงกลายเป็นแมลงที่สร้างคุณค่าให้กับเศรษฐกิจ ในปัจจุบันเชื่อกันว่าน้ำผึ้งชันโรงมีสรรพคุณทางยาและราคาแพงมาก ชันโรง 1 รัง จะได้น้ำผึ้งประมาณครึ่งกิโลกรัม ราคา กิโลกรัมละ 1,000-1,500 บาท (เกียรติภูมิ และคณะ, 2558) ผลผลิตชันโรงที่ได้จากชันโรงสามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมาย แต่ยังไม่ค่อยแพร่หลายนัก เพราะรังของชันโรงหายากน้ำผึ้งได้ปริมาณน้อยเนื่องจากถูกดูดซับด้วยเกสร ส่งผลให้ผลผลิตจากชันโรงซึ่งมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค (Ghisalberti, 1979)

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงชันโรงเป็นอาชีพหลักยังมีน้อย เนื่องจากไม่มีข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับชันโรงอย่างเพียงพอ ทำให้การเพาะเลี้ยงชันโรงยังไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร การจัดโครงสร้างของกลุ่มตัวอ่อนและถ้วยเก็บอาหารภายในรังชันโรงมีลักษณะที่ซับซ้อนกันเมื่อทำการเก็บน้ำผึ้ง กลุ่มตัวอ่อนได้รับความเสียหาย การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อหารูปแบบรังที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งจากชันโรง โดยต้องการให้ถ้วยเก็บอาหาร และกลุ่มตัวอ่อนของชันโรงแยกออกจากกัน ทำให้การเก็บน้ำผึ้งได้สะดวก ซึ่งช่วยให้ปริมาณน้ำผึ้งที่เก็บได้มีปริมาณมากขึ้น ลดการสูญเสียน้ำผึ้ง อีกทั้งน้ำผึ้งที่ได้ยังมีคุณภาพเนื่องจากไม่เจือปนกับสิ่งอื่น ดังนั้นจึงมีการศึกษาถึงรูปแบบรังไม้ประกอบที่มีผลต่อการจัดวางถ้วยน้ำผึ้งของชันโรง เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของน้ำผึ้งให้สมบูรณ์ อีกทั้งสามารถนำข้อมูลที่ได้มาประยุกต์ใช้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรงและนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานการศึกษาวิจัยด้านอื่น ๆ ของชันโรงต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาแบบร่างไม้ประกอบต่อการจัดวางถ้วยอาหารของชันโรง

1.1 การเตรียมรังชันโรง

เตรียมรังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (16x27x15 เซนติเมตร) และรังไม้ประกอบยาวขนาด 11x56x9 เซนติเมตร โดยเพิ่มความยาวฝาหลังและฐานด้านปากทางเข้ารังทั้ง 2 รูปแบบ 3 เซนติเมตร เพื่อบังแดดและเป็นที่พักให้กับชันโรงหลังบินกลับจากการหาอาหาร ทำการแบ่งการทดลอง 4 กรรมวิธี จำนวนกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐาน [Standard wooden hive (SH)] ภายในกล่องวางเปล่า (ชุดควบคุม) (ภาพที่ 1A)

กรรมวิธีที่ 2 รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐาน ใส่ไม้ขนาด 12x15x10 เซนติเมตร 2 แผ่น วางไขว้เป็นมุมฉากติดด้านหลังของรัง [Standard size with cross shaped wood hive (SCH)] (ภาพที่ 1B)

กรรมวิธีที่ 3 รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐาน ใส่ไม้ยาวคู่ขนานขนาด 5x15x10 เซนติเมตร วางคู่ขนานยาวติดด้านหลังของรัง [Standard size with parallel shaped wood hive (SPH)] (ภาพที่ 1C)

กรรมวิธีที่ 4 รังไม้ประกอบยาวขนาด 11x56x9 เซนติเมตร [Long wood hive (LH)] (ภาพที่ 1D)

1.2 การแยกรังชันโรง

นำโครงสร้างภายในรังของชันโรง ซึ่งประกอบด้วย ถ้วยเก็บอาหาร กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อน ซึ่งคัดแยกมาจากรังเลี้ยงที่มีความสมบูรณ์ย้ายใส่ในรังไม้ประกอบของแต่ละกรรมวิธี โดยให้มีอัตราส่วนขององค์ประกอบในปริมาณ 0.15 กรัม การจัดวางขององค์ประกอบในแต่ละกรรมวิธีอยู่ในรูปแบบเดียวกัน คือ วางถ้วยเก็บอาหาร กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนในตำแหน่งเดียวกัน โดยเริ่มจากรังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานในทุกกรรมวิธี หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักของรังอย่างต่อเนื่อง สัปดาห์ละ 1 ครั้ง พร้อมทั้งบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบภายในรังเดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา

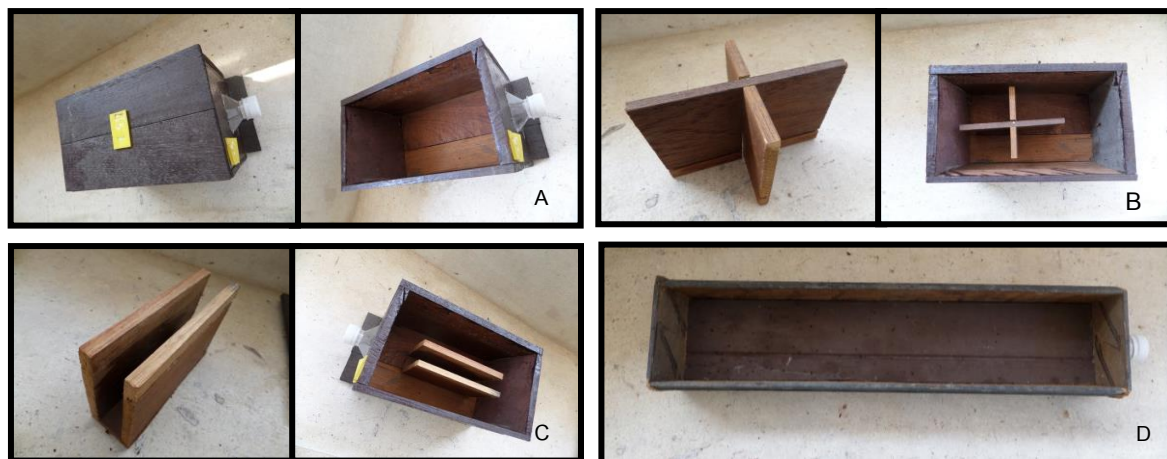


Figure 1. Hive patterns of stingless bees wooden hives

A: Standard wooden hive

B: Standard size with cross shaped wood hive

C: Standard size with parallel shaped wood hive

D: Long wood hive

6 เดือน สังเกต บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของการจัดเรียงองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในรังชั้นโรงแต่ละกรรมวิธี

2. ศึกษารูปแบบรังไม้ประกอบที่มีผลต่อการจัดวางถ้วยเก็บอาหารของชันโรง

2.1 การเตรียมรังชันโรง

เตรียมรังไม้ประกอบโดยใช้รังไม้ที่มีรูปแบบแตกต่างกัน แบ่งการทดลองเป็น 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 รัง ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐาน [Standard wooden hive (SH)] (ชุด ควบคุม) ขนาด 21x30x20 เซนติเมตร ภายในรังไม่วางเปล่า (ภาพที่ 2A)

กรรมวิธีที่ 2 รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานใส่ไม้ขนาด 12x15x10 เซนติเมตร 2 แผ่น วางไขว้เป็นมุมฉากและมีตาข่ายอยู่ด้านบน วางติดด้านหลังของรัง [Standard crossed and netted wooden hive (SCNH)] (ภาพที่ 2B)

กรรมวิธีที่ 3 รังไม้ประกอบเล็กสองชั้นขนาด 15x20x3 เซนติเมตร เชื่อมต่อกับรังไม้ประกอบยาวขนาด 15x40x7.5 เซนติเมตร ด้านหน้า [Longer wooden hive connected with double layer small wooden hive (LCDH)] (ภาพที่ 2C)

กรรมวิธีที่ 4 รังไม้ประกอบเล็กสองชั้น เชื่อมต่อกับรังไม้ประกอบยาวที่แบ่งเป็นสามช่อง รังไม้ประกอบยาวแบ่งเป็นสามช่อง เชื่อมต่อกับกล่องไม้เล็กสองชั้นตามขวาง ขนาดความยาวของแต่ละช่องประมาณ 13 เซนติเมตร ทำการเจาะรูให้ทั้งสามช่องสามารถเชื่อมถึงกันได้ เพื่อใช้เป็นทางเดินเข้า-ออกของชันโรงโดยทำการเจาะให้ชิดพื้นรังไม้ทั้ง 3 ช่อง [Three partitions in longer wooden hive connected with double layer small wooden hive (TLCDH)] (ภาพที่ 2D)

กรรมวิธีที่ 5 รังไม้ประกอบเล็กสองชั้น เจาะรูเชื่อมถึงกัน [Double layer wooden hive (DH)]. (ภาพที่ 2E)

2.2 การแยกรังชันโรง

ทำการแยกรังชันโรงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักของรังอย่างต่อเนื่องสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 เดือน พร้อมทั้งบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบภายในรังเดือนละ 1 ครั้ง สังเกต บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของการจัดเรียงองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในรังชันโรงจากรังแต่ละกรรมวิธี หลังจากสิ้นสุดการทดลองนำน้ำหนักของโครงสร้างภายในรังชันโรงที่เปลี่ยนแปลงไปเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของน้ำหนักโดยวิธี LSD (Least Significance Difference)

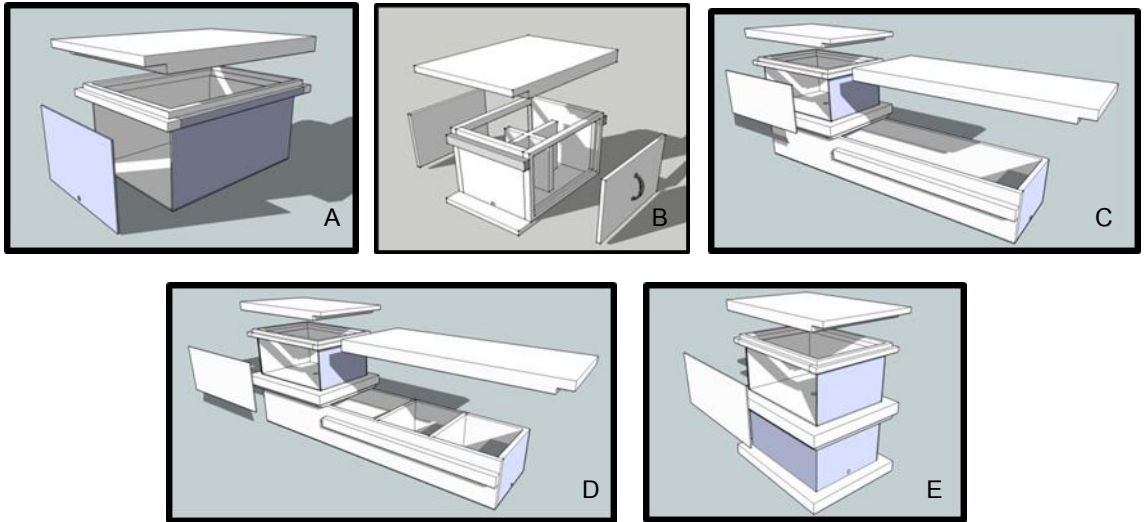


Figure 2. Hive patterns of stingless bees wooden hives

A: Standard wooden hive (Control)

B: Standard crossed and netted wooden hive

C: Longer wooden hive connected with double layer small wooden hive

D: Three partitions in longer wooden hive connected with double layer small wooden hive

E: Double layer wooden hive

3. ศึกษาขนาดที่เหมาะสมของรังไม้ที่ใช้เก็บน้ำผึ้งของชันโรง

3.1 การเตรียมรังชันโรง

นำรูปแบบรังไม้ประกอบที่ได้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 มาศึกษาขนาดที่เหมาะสมของรังไม้ที่ใช้เก็บน้ำผึ้งโดยทำการเพิ่มความสูงของรังไม้ประกอบเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการเก็บน้ำผึ้งแบ่งเป็น 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 รังไม้ประกอบ (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 รังไม้ประกอบเพิ่มความสูง 5

เซนติเมตร

กรรมวิธีที่ 3 รังไม้ประกอบเพิ่มความสูง 10

เซนติเมตร

3.2 การแยกรังชันโรง

ทำการแยกรังชันโรงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักของรังอย่างต่อเนื่องสัปดาห์ละ 1 ครั้ง พร้อมทั้งบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบภายในรังเดือนละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 6 เดือน สังเกต บันทึก

ผลการเปลี่ยนแปลงของการจัดเรียงองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในรังชันโรงจากรังแต่ละกรรมวิธี หลังจากสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักของโครงสร้างภายในรังชันโรงที่เปลี่ยนแปลงไปเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนักโดยวิธี LSD

ผลการทดลอง

1. ศึกษาแบบรังไม้ต่อพฤติกรรมการสร้างรังของชันโรง

จากการศึกษาแบบรังไม้ประกอบทั้ง 4 กรรมวิธีที่มีผลต่อพฤติกรรมการสร้างรังของชันโรง พบว่า

กรรมวิธีที่ 1 รังแบบ SH (ชุดควบคุม) มีกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนรวมทั้งถ้วยเก็บอาหารในรังไม้ขนาดมาตรฐานมีลักษณะเชื่อมติดกัน โดยถ้วยเก็บอาหารจะอยู่ใต้กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อน (ภาพที่ 3A)

กรรมวิธีที่ 2 รังแบบ SCH พบกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนอยู่ด้านบนของไม้ไขว้มุมฉาก สำหรับถ้วยเก็บ

อาหารอยู่ด้านล่างของกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อน เห็นแยกออกจากกันอย่างชัดเจน (ภาพที่ 3B)

กรรมวิธีที่ 3 รังแบบ SPH พบมีพฤติกรรมการสร้างรังของชันโรงไปในแนวทางเดียวกันกับกรรมวิธีที่ 2 (ภาพที่ 3C)

กรรมวิธีที่ 4 รังแบบ LH พบกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนรวมถึงถ้วยเก็บอาหารแยกออกจากกัน ตั้งอยู่แยกแต่ละด้านของรัง (ภาพที่ 3D)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักภายในรังชันโรงหลังจากที่ทำการแยกรังใน 2 สัปดาห์แรก พบว่ารังไม้ประกอบทั้ง 4 รูปแบบ โครงสร้างภายในรังชันโรงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเฉลี่ย 205.23 กรัม (จากน้ำหนักเริ่มต้นรังทุกรูปแบบที่ 150 กรัม) หลังจากสัปดาห์ที่ 2 มีการเพิ่มขึ้นไปแบบช้า ๆ จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 18 โครงสร้างภายในรังชันโรงของรังแบบ SH มีน้ำหนักเท่ากับ 338.68 กรัม ขณะที่รังแบบ SCH, SPH และ LH มีน้ำหนักเท่ากับ 283.83, 247.53 และ 299.83 กรัม ตามลำดับ แต่หลังจากนั้น รังชันโรงทั้ง 4 รูปแบบน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มคงที่ คือ 331.34, 283.81, 245.06, 299.26 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 4)

2. ศึกษาารูปแบบรังไม้ประกอบที่มีผลต่อการจัดวางถ้วยเก็บอาหารของชันโรง

จากการศึกษารูปแบบรังไม้ประกอบทั้ง 5 กรรมวิธีที่มีผลต่อการจัดเรียงถ้วยเก็บอาหารของชันโรงพบว่า

กรรมวิธีที่ 1 รังแบบ SH (ชุดควบคุม) มีการจัดเรียงตัวของกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อน รวมทั้งถ้วยเก็บอาหารทับซ้อนกัน ไม่มีการแยกออกจากกัน (ภาพที่ 5A)

กรรมวิธีที่ 2 รังแบบ SCNH (ภาพที่ 5B) พบการจัดเรียงตัวของกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนรวมทั้งถ้วยเก็บอาหารมีการแยกตัวออกจากกันอย่างชัดเจน โดยที่กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนเรียงตัวอยู่ด้านบนตาข่ายไม้ไขว้มุมฉากสำหรับถ้วยเก็บอาหารอยู่ด้านล่างของไม้ไขว้มุมฉาก (ภาพที่ 6)

กรรมวิธีที่ 3 รังแบบ LCDH มีการจัดเรียงตัวของกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนอยู่รังไม้ประกอบชั้นล่างเหมือนเดิม แต่ส่วนของถ้วยเก็บอาหารบางส่วนย้ายไปอยู่รังไม้ประกอบยาวใกล้กับปากทางเข้ารัง สำหรับรังไม้ประกอบชั้นที่ 2 ที่เชื่อมต่อด้านบนไม่พบการสร้างโครงสร้างของรังชันโรง (ภาพที่ 5C)



Figure 3. Arrangement of brood chamber of stingless bees, *Tetragonula laeviceps* species complex, inside various wood hive types

A: Standard wooden hive

B: Standard size with cross shaped wood hive

C: Standard size with parallel shaped wood hive

D: Long wood hive

★ brood chamber ▲ storage pots chamber

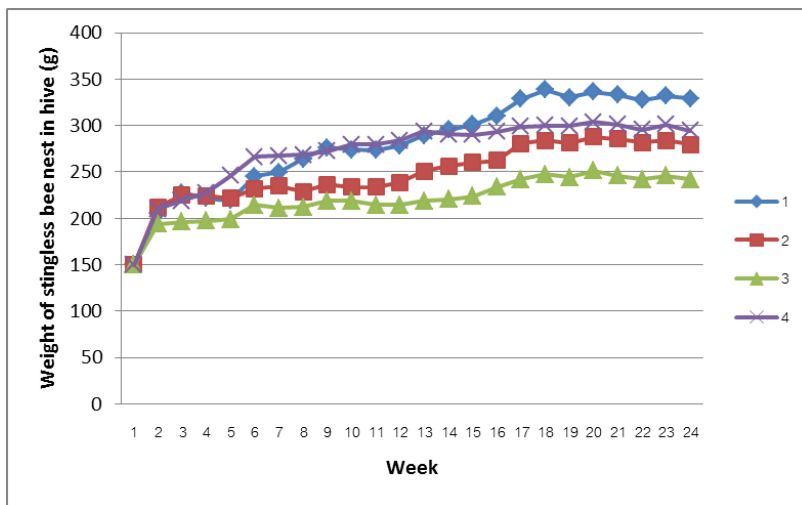


Figure 4. Changes of stingless bee nest weight inside various wood hive types

- 1: Standard wooden hive
- 2: Standard size with cross shaped wood hive
- 3: Standard size with parallel shaped wood hive
- 4: Long wood hive

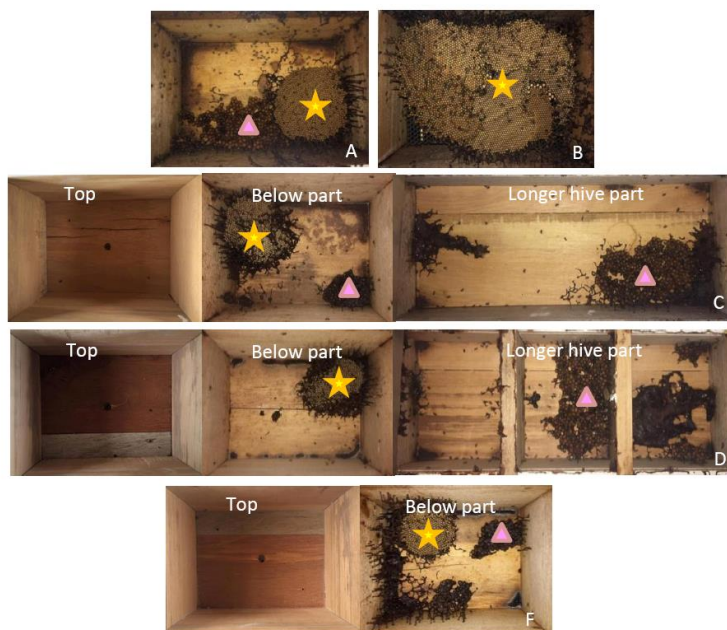


Figure 5. Arrangement of brood chamber of stingless bees, *Tetragonula laeviceps* species complex, inside various wood hive types

- A: Standard wooden hive (control)
- B: Standard crossed and netted wooden hive
- C: Longer wooden hive connected with double layer small wooden hive
- D: Three partitions in longer wooden hive connected with double layer small wooden hive
- E: Double layer wooden hive
- ★ brood chamber ▲ storage pots chamber



Figure 6. Result of SCNH (brood chamber of the stingless bee separated from storage pot)

กรรมวิธีที่ 4 รังแบบ TLCDH การจัดเรียงตัวของกลุ่มไขและกลุ่มตัวอ่อนอยู่รังไม้ประกอบเล็กชั้นหนึ่งที่เคยเดิม แต่ด้วยเก็บอาหารบางส่วนย้ายไปอยู่รังไม้ประกอบยาว สำหรับรังไม้ประกอบชั้นที่ 2 ที่เชื่อมต่อด้านบนไม่พบการสร้างโครงสร้างของรังชั้นโรง (ภาพที่ 5D)

กรรมวิธีที่ 5 รังแบบ DH มีการจัดเรียงตัวของกลุ่มไขและกลุ่มตัวอ่อน รวมทั้งด้วยเก็บอาหารอยู่บริเวณรังไม้ประกอบเล็กชั้นหนึ่งที่เคยเดิมเพียงอย่างเดียว ไม่มีการสร้างขยายขึ้นด้านบนของรังไม้ประกอบเล็กชั้นสอง ซึ่งการจัดเรียงตัวของกลุ่มไขและกลุ่มตัวอ่อน รวมทั้งด้วยเก็บอาหารมีลักษณะทับซ้อนกัน ไม่มีการแยกออกจากกัน (ภาพที่ 5E)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักภายในรังชั้นโรงหลังจากที่ทำการแยกรังใน 2 สัปดาห์แรก พบว่ารังไม้ประกอบ 4 รูปแบบ ได้แก่ SH, SCNH, LCDH และ TLCDH โครงสร้างภายในรังชั้นโรงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากสัปดาห์ที่ 2 มีการเพิ่มขึ้นไปแบบช้า ๆ โครงสร้างภายในรังชั้นโรงเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกันโดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.51 กิโลกรัม (จากน้ำหนักเริ่มต้นรังทุกรูปแบบที่ 0.15 กิโลกรัม) จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 11 พบว่ารังแบบ SCNH มีน้ำหนักภายในรังชั้นโรงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และน้ำหนักสุดท้ายของรังชั้นโรงสูงสุดเท่ากับ 1.13 กิโลกรัม ขณะที่รังแบบ SH, LCDH, TLCDH และ DH มีน้ำหนักของรังชั้นโรงเท่ากับ 0.66, 0.66, 0.69 และ 0.20 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1) สำหรับรังแบบ DH มีน้ำหนักภายในรังชั้นโรงเพิ่มขึ้นน้อยมากเมื่อเทียบกับน้ำหนักเริ่มแรก โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.17 กิโลกรัม (ภาพที่ 7) ดังนั้นรังแบบ SCNH มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกรรมวิธีอื่น ๆ

3. ศึกษาขนาดที่เหมาะสมของรังไม้ที่ใช้เก็บน้ำผึ้งของชันโรง

จากการศึกษารูปแบบรังไม้ประกอบที่มีผลต่อการจัดวางถ้วยน้ำผึ้งของชันโรงในการทดลองที่ 2 พบว่ารังแบบ SCNH มีการจัดเรียงตัวของกลุ่มไขและกลุ่มตัวอ่อนรวมทั้งด้วยเก็บอาหารมีการแยกตัวออกจากกันอย่างชัดเจน โดยที่กลุ่มไขและกลุ่มตัวอ่อนเรียงตัวอยู่ด้านล่างของไม้ไขว้มุมฉาก สำหรับถ้วยเก็บอาหารอยู่ด้านล่างของไม้ไขว้มุมฉาก จึงได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงขนาดที่เหมาะสมของรังไม้ที่ใช้เก็บน้ำผึ้ง โดยทำการเพิ่มความสูงของรังไม้ประกอบเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการเก็บน้ำผึ้งแบ่งเป็น 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 รังแบบ SCNH (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 รังแบบ SCNH เพิ่มความสูง 5 เซนติเมตร

กรรมวิธีที่ 3 รังแบบ SCNH เพิ่มความสูง 10 เซนติเมตร

หลังจากที่ทำการแยกรังใน 2 สัปดาห์ พบว่ารังไม้ขนาด 21x30x20 เซนติเมตร น้ำหนักโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงภายในรังของชันโรงเพิ่มสูงอย่างรวดเร็วเป็น 0.34 กิโลกรัม (จากน้ำหนักเริ่มต้นรังทุกรูปแบบที่ 0.035 กิโลกรัม) ในขณะที่อีก 2 ขนาดมีการเพิ่มขึ้นไปอย่างช้า ๆ หลังจากสัปดาห์ที่ 2 น้ำหนักภายในรังชั้นโรงทั้ง 3 ขนาดเพิ่มขึ้นไปในทิศเดียวกันเป็น 0.56 กิโลกรัม โดยเฉลี่ย แต่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 18 เป็นต้นไป รังไม้ขนาด 21x30x20 เซนติเมตร (ชุดควบคุม) มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และน้ำหนักสุดท้ายของรังชั้นโรงเท่ากับ 1.20 กิโลกรัม ขณะที่รังไม้ขนาด 21x30x25 เซนติเมตรและ รังไม้ขนาด 21x30x30 เซนติเมตร มีน้ำหนักของรังชั้นโรงเท่ากับ 0.73 และ 0.54 กิโลกรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 8) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 2)

Table 1. The average weight change of stingless bee in each type of hive

Treatments	Average weight (kg)
SH	0.6625b
SCNH	1.1250a
LCDH	0.6550b
TLCCH	0.6925b
DH	0.1950c

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

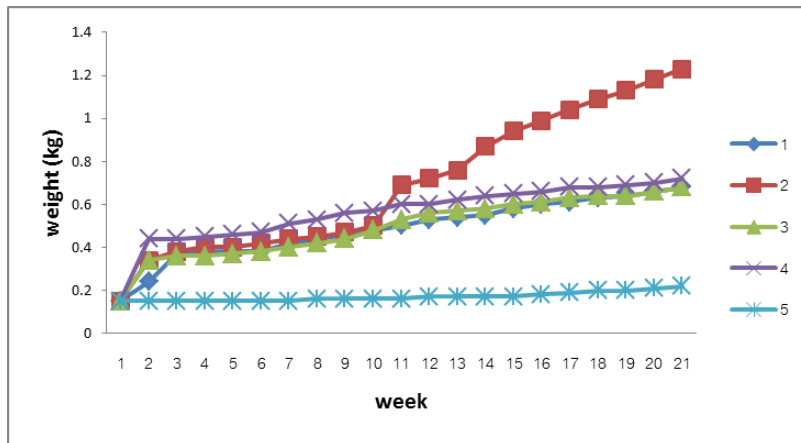


Figure 7. Weight change of stingless bee in each type of hive

- 1: Standard wooden hive (control)
- 2: Standard crossed and netted wooden hive
- 3: Longer wooden hive connected with double layer small wooden hive
- 4: Three partitions in longer wooden hive connected with double layer small wooden hive
- 5: Double layer wooden hive

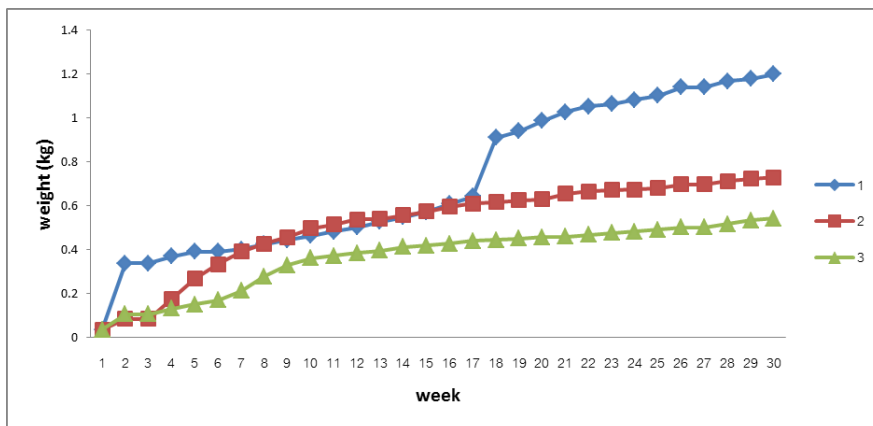


Figure 8. Weight change of stingless bee in each sizes of hive

- 1: Standard crossed and netted wooden hive 21x30x20 cm (control)
- 2: Standard crossed and netted wooden hive 21x30x25 cm
- 3: Standard crossed and netted wooden hive 21x30x30 cm

Table 2. The average weight change of stingless bee in each sizes of hive

Treatments	Average weight (kg)
SCNH 21x30x20 cm	1.2000a
SCNH 21x30x25 cm	0.7300ab
SCNH 21x30x30 cm	0.5425b

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

วิจารณ์

จากการศึกษาพฤติกรรมการสร้างรังของชันโรงในรังไม้ประกอบทั้ง 4 รูปแบบ คือ 1) รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐาน (SH) 2) รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานภายในวางไม้ไขว้เป็นมุมฉาก (SCH) 3) รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานภายในวางไม้ยาวคู่ขนาน (SPH) และ 4) รังไม้ประกอบยาว (LH) ดำเนินการที่คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ารูปแบบของรังชันโรงที่แตกต่างกันมีผลต่อพฤติกรรมการจัดเรียงตัวขององค์ประกอบต่าง ๆ ภายในรังชันโรง โดยที่กลุ่มไข่และตัวอ่อนรวมทั้งกลุ่มถ้วยเก็บอาหารในรังแบบ SH มีลักษณะเชื่อมติดกัน โดยกลุ่มถ้วยเก็บอาหารจะอยู่ใต้กลุ่มไข่และตัวอ่อน ในขณะที่รังแบบ SCH และ SPH พบกลุ่มไข่และตัวอ่อนอยู่ด้านบนของไม้ไขว้มุมฉากและไม้คู่ขนาน และมีกลุ่มถ้วยเก็บอาหารอยู่ด้านล่างของกลุ่มไข่และตัวอ่อน เห็นแยกออกจากกันอย่างชัดเจน รังแบบ LH พบกลุ่มไข่และตัวอ่อนรวมถึงกลุ่มถ้วยเก็บอาหารแยกออกจากกันอยู่แต่ละด้านของรัง สำหรับการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักภายในรังชันโรงแต่ละรูปแบบ พบว่าน้ำหนักภายในรังในช่วง 18 สัปดาห์แรกของรังแบบ SH มีน้ำหนักเพิ่มมากกว่ารังไม้ประกอบรูปแบบอื่น แต่พอหลังจาก 18 สัปดาห์ไปแล้วรังชันโรงทั้ง 4 รูปแบบ น้ำหนักเริ่มคงที่ ทั้งนี้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของชันโรง คือ อุณหภูมิในช่วง 28-31 °C และความชื้น 85-95 %RH แต่เนื่องจากในช่วงนั้นอุณหภูมิลดลง ความชื้นลดลง และยังมีปริมาณน้ำฝนที่น้อยมากหรือไม่เลย ปริมาณแหล่งอาหารของชันโรงขาดแคลนมีไม่เพียงพอต่อความต้องการ ส่งผลต่อการดำรงชีวิตของชันโรง

จากการศึกษาพฤติกรรมการจัดเรียงถ้วยน้ำผึ้งของชันโรง ภายในรังไม้ประกอบที่มีรูปแบบของรังที่แตกต่างกัน 5 รูปแบบ คือ 1) รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐาน (SH) 2) รังไม้ประกอบขนาดมาตรฐานที่วางไม้ไขว้มุมฉากและมีตาข่ายอยู่ด้านบนไม้ (SCNH) 3) รังไม้ประกอบเล็กสองชั้นเชื่อมต่อกับรังไม้ประกอบยาวด้านหน้า (LCDH) 4) รังไม้ประกอบเล็กสองชั้นเชื่อมต่อกับรังไม้ประกอบยาวที่แบ่งเป็นสามช่อง (TLCDH) และ 5) รังไม้ประกอบสองชั้น (DH) พบว่ารูปแบบของรังชันโรงที่แตกต่างกันมีผลต่อพฤติกรรมการเรียงตัวของถ้วยเก็บอาหารภายในรังชันโรง โดยที่รังแบบ SCNH มีการจัดเรียงตัวของถ้วยเก็บอาหาร กลุ่มไข่ และกลุ่มตัวอ่อนมีการแยกตัวออกจากกันอย่างชัดเจนสอดคล้องกับการวิจัยของ (Sommeijer, 1999) ที่พบว่า UTOB hive ที่มีการสร้างรังเป็นแบบ 2 ชั้น ทำให้การจัดวางตัวของถ้วยเก็บอาหาร กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อน มีการแยกออกจากกัน ซึ่งทำให้ง่ายต่อการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งไม่ทำให้กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนเสียหาย กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนที่เกาะอยู่ด้านบนของไม้ไขว้มุมฉากนั้นสามารถหยิบออกได้อย่างง่าย โดยที่กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนได้รับความเสียหายไม่มาก อีกทั้งพอเก็บน้ำผึ้งและถ้วยเกสรเสร็จแล้ว ยังสามารถใส่ไม้ไขว้มุมฉากที่มีกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนเกาะอยู่ด้านบน นำใส่กลับเข้าไปในรังได้ดังเดิม และปล่อยให้ประชากรภายในรังผลิตและสร้างน้ำผึ้งต่อไป ทำให้การเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งมีประสิทธิภาพ ทำได้รวดเร็ว และไม่รบกวนหรือทำให้กลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนได้รับความเสียหาย รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักรังที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเพิ่มขึ้นเป็น 1.7 เท่าของรังแบบ SH นำไปสู่การพัฒนาเพื่อนำไปส่งเสริมใช้เป็นรังไม้ประกอบที่ทำการเพาะเลี้ยงชันโรงเป็นอุตสาหกรรมได้ อย่างไรก็ตาม Thummajitsakul *et al.* (2008) ได้รายงานถึงการเพิ่มจำนวนของประชากรชันโรง

มักมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างช้า ๆ ตามสิ่งแวดล้อม ดังนั้น สมควรมีการศึกษาและพัฒนารังของชันโรงเพิ่มเติม เพื่อให้สามารถเพิ่มจำนวนประชากรให้ได้มีประสิทธิภาพ เพื่อนำไปสู่การปรับใช้นำไปประกอบเป็นอาชีพที่มีความมั่นคงต่อไป

จากการศึกษาที่พบว่ารังแบบ SCNH ซึ่งมีการจัดวางตัวของถ้วยเก็บอาหาร กลุ่มไข่ และกลุ่มตัวอ่อนแยกออกจากกันอย่างชัดเจน โดยกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนจัดเรียงอยู่ด้านบนไม้ไข้วมุมฉากที่มีตาข่าย ส่วนถ้วยเก็บอาหารอยู่ด้านล่างของไม้ไข้วมุมฉาก อีกทั้งยังพบว่า น้ำหนักของรังชันโรงมีการเพิ่มขึ้นเร็วกว่ารังไม้ประกอบรูปแบบอื่น ๆ ซึ่งเมื่อนำมาศึกษาหาขนาดที่เหมาะสมพบว่ารังไม้ขนาด 20x30x20 เซนติเมตร ซึ่งเป็นรังขนาดมาตรฐาน พบว่าน้ำหนักภายในรังชันโรงมีการเพิ่มขึ้นมากกว่ารังไม้ขนาด 21x30x25 เซนติเมตร และรังไม้ขนาด 21x30x30 เซนติเมตร อย่างไรก็ตาม น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงภายในรังของชันโรงมีแนวโน้มมาจากความสูงของรังไม้ประกอบ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

สรุป

จากการศึกษาพฤติกรรมการจัดเรียงตัวของถ้วยเก็บอาหาร และกลุ่มตัวอ่อนของชันโรงภายในรังที่มีรูปแบบรังไม้แตกต่างกัน 4 รูปแบบ พบว่ารังแบบ SH มีการวางตัวขององค์ประกอบภายในรังแบบซ้อนทับกันอยู่อย่างไม่เป็นระเบียบ ในส่วนของรังแบบ LH, SCH และ SPH การวางตัวขององค์ประกอบมีการแยกจากกันอย่างชัดเจน

จากการศึกษาผลของรูปแบบรังไม้ประกอบต่อการจัดวางตัวของถ้วยเก็บอาหารของชันโรงทั้ง 5 รูปแบบ พบว่ารังแบบ SCNH มีการจัดวางตัวของกลุ่มไข่และกลุ่มตัวอ่อนรวมทั้งถ้วยเก็บอาหารแยกออกจากกันอย่างชัดเจน และน้ำหนักของรังที่ 21 สัปดาห์เท่ากับ 1.13 กิโลกรัม ขณะที่รังแบบ SH, LCDH, TLCDH และ DH มีน้ำหนักของรังชันโรงเท่ากับ 0.66, 0.66, 0.69 และ 0.20 กิโลกรัม ตามลำดับ รูปแบบรังไม้ประกอบมีผลต่อการการจัดเรียงตัวของถ้วยเก็บอาหารที่แตกต่างกัน และรังไม้ SCNH ได้ผลที่ดีที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากการศึกษาที่พบว่ารังแบบ SCNH มีการจัดวางตัวของถ้วยเก็บอาหาร กลุ่มไข่ และกลุ่มตัวอ่อนแยกออกจากกันอย่างชัดเจน และน้ำหนักของรังชันโรงมีการเพิ่มขึ้นเร็วกว่ารังไม้ประกอบรูปแบบอื่น ซึ่งเมื่อนำมาศึกษาหาขนาดที่เหมาะสม พบว่ารังไม้ขนาด 21x30x20 เซนติเมตร มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากน้ำหนักสุดท้ายของรังชันโรงเท่ากับ 1.20 กิโลกรัม ขณะที่รังไม้ขนาด 21x30x25 เซนติเมตรและรังไม้ขนาด 21x30x30 เซนติเมตร มีน้ำหนักของรังชันโรงเท่ากับ 0.73 และ 0.54 กิโลกรัม ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารอ้างอิง

- กนกวรรณ คำยอดใจ H. Bänziger และ จิราพร กุลสาริน. 2558. รูปแบบสถาปัตยกรรมปากทางเข้ารังของชันโรง *Tetragonula laeviceps* (Smith) Species Complex (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) ในประเทศไทยและมาเลเซียตะวันตก. วารสารเกษตร 31(1): 1-9.
- เกียรติภูมิ จันเต สุนทรี จินธรรม และ ปณณัฏฐ์ ถกลภักดี. 2558. แนวทางการพัฒนาศูนย์สิ่งแวดล้อมศึกษาด้านการอนุรักษ์ภูมิปัญญาผึ้งสายพันธุ์ชันโรง ตำบลปัว อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี. วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ 6(1): 21-45.
- วีรยา สมณะ เยาวลักษณ์ จันท์บาง จิราพร กุลสาริน และ M. Burgett. 2554. ชีวมิติของรังผึ้งโพรงธรรมชาติจากการสังเกตในภาคเหนือของประเทศไทย. วารสารเกษตร 27(3): 219-228.
- สมนึก บุญเกิด. 2541. ผึ้งและชันโรง. วารสารเทคโนโลยีชาวบ้าน 10(188): 46-49.
- อัญชลี สวาสดีธรรม. 2556. มหัศจรรย์ชันโรง. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท ทริปเฟล กรุ๊ป จำกัด, ปทุมธานี. 27 หน้า.
- Bänziger, H. and K. Khamyotchai. 2014. An unusually large and persistent male swarm

- of the stingless bee *Tetragonula laeviceps* in Thailand (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Journal of Melittology* 32: 1-5.
- Ghisalberti, E.L. 1979. Propolis: a review. *Bee World* 60(2): 59-84.
- Michener, C.D. 2000. *The Bees of the World*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. 972 p.
- Roubik, D. W. 2006. Stingless bee nesting biology. *Apidologie* 32(7): 124-143.
- Sakagami, S.F. 1978. *Tetragonula* stingless bees of the continental Asia and Sri Lanka (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Faculty of Science, Hokkaido University, Series VI, Zoolozy* 21(2): 165-247.
- Slaa, E.J., L.A. Sanchez, Chaves, K.S. Malagodi-Braga and F. E. Hofstede. 2006. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie* 37(2): 293-315.
- Sommeijer, M.J. 1999. Beekeeping with stingless bees: a new type of hive. *Bee World* 80(2): 70-79.
- Thummajitsakul, S., S. Klinbunga, D. Smith and S. Sittipraneed. 2008. Genetic diversity and population structure of *Trigona pagdeni* Schwarz in Thailand. *Apidologie* 39(4): 446-455.
-

ประสิทธิภาพสารพาบางชนิดในการเก็บรักษาเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

Efficacy of Some Carriers to Preserve *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 for Controlling Brown Planthopper

นวลศิริ สิบบุญมี¹ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ^{1*} ไสว บุรณพานิชพันธุ์² ปภพ สิ้นชยกุล³ และ จิราพร กุลสาริน²
Nuansiri Sribunme¹, Weerathep Pongprasert^{1*}, Sawai Buranapanichpan², Pabhop Sinchayakul³
and Jiraporn Kulsarin²

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

¹Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University,
Phitsanulok 65000, Thailand

²ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

²Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

³ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

³Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: Email: weerathepp@nu.ac.th

(Received: 1 October 2017; Accepted: 29 December 2017)

Abstract: The objective of this research was to study on the efficacy of 5 carriers: soil organic matter, sand, white clay filler, Lop Buri kaolin, and Lampang kaolin to preserve *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 for controlling brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). The total of 10 ml of *M. anisopliae* MRT-PCH 048 conidia suspension at the concentration of 10^8 conidia/ml was mixed with 300 grams of each carrier and stored at 25°C for 6 months. The completely randomized design with 3 replications was applied. Viability of *M. anisopliae* MRT-PCH 048 preserved in each carrier was determined in each month and the efficacy of those to control brown planthopper was evaluated after 6 months of preservation. The result found that soil organic matter and sand were the best high efficacy carriers to preserve *M. anisopliae* MRT-PCH 048 for 6 months. However, the high mortality of brown planthopper (98-100%) in 5 days after contacting to *M. anisopliae* MRT-PCH 048 preserved in all carriers with median lethal time (LT_{50}) at 2.03-2.57 days was found.

Keywords: *Metarhizium anisopliae*, carriers, soil organic matter, sand, white clay filler, kaolin

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการศึกษาคือ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารพา 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ในการเก็บรักษาโคนินเดียของเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) โดยใช้เชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ความเข้มข้น 10^8 โคนินเดีย/มิลลิลิตรจำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารพา 300 กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 3 ซ้ำ ตรวจสอบความมีชีวิตของเชื้อราในแต่ละสารพาทุกเดือน และตรวจสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เมื่อเก็บรักษาครบ 6 เดือน พบว่าสารพาดินอินทรีย์วัตถุ และทราย มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวเป็นระยะเวลา 6 เดือนได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตาม เชื้อราเขียวที่เก็บรักษาในทุกสารพายังคงประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงมากถึงร้อยละ 98-100 ภายใน 5 วันหลังสัมผัสเชื้อ และทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 2.03-2.57 วัน

คำสำคัญ: เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม สารพา ดินอินทรีย์วัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาว

คำนำ

เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* เป็นเชื้อราในสกุล *Metarhizium* เป็นกลุ่มของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคในแมลง (entomopathogenic fungi) (Bridge *et al.*, 1997; Iskandarov *et al.*, 2006) จัด อยู่ใน Division Ascomycota Class Sordariomycetes เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินสามารถแยกได้ 3 ชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของโคนินเดีย เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น (Zimmermann, 1993) โดยแต่ละชนิดมีความแปรผันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ มีความหลากหลายของสายพันธุ์แตกต่างกันตามถิ่นอาศัย และแต่ละสายพันธุ์มีแมลงอาศัย (host insect) แตกต่างกัน (Tulloch, 1976) จึงให้ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงอาศัยแตกต่างกัน (Inglis *et al.*, 1999) อย่างไรก็ตาม การจำแนกในเบื้องต้นสามารถกระทำด้วยการทดสอบกับแมลงอาศัยเนื่องจากเชื้อราชนิดนี้มักมีความจำเพาะต่อแมลงอาศัยมาก (Shi and Feng, 2004; Milner *et al.*, 1998)

ในปัจจุบันพบว่า *M. anisopliae* เป็นเชื้อราในสกุลนี้ที่ได้รับการคัดและใช้ประโยชน์ในการทำดัดแปลงศัตรูพืชโดยชีววิธีอย่างแพร่หลาย (Onofre *et al.*, 2001) เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อพื้นฐาน potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิประมาณ 15-20 องศาเซลเซียส (Kershaw *et al.*, 1999) ลักษณะของโคโลนีเมื่อแรกเริ่มมีสีขาวจนเมื่อเจริญเต็มที่เชื้อสร้างโคนินเดียสีเขียวกระจายอยู่โดยรอบ (Tanada and Kaya, 1993) เชื้อรา *M. anisopliae*

มีความปลอดภัยสูงเหมาะแก่การใช้ในการควบคุมศัตรูพืช เนื่องจากไม่พบการติดเชื้อในสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมายเช่น นก ปลา หนู หมู และกระต่ายในพื้นที่ที่มีการใช้เชื้อรานี้ (Zimmermann, 1993)

ในประเทศไทย เชื้อรา *M. anisopliae* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจและได้มีการทดสอบกับแมลงหลายชนิดเช่นด้วงงวงมะพร้าวด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย แมลงนูนหลวง (วิวัฒน์ และคณะ, 2548, 2551) แมลงวันผลไม้ (นริศ และอนุชิต, 2551) ด้วงหมัดผักแถบลาย (นาวัน และคณะ, 2559) แมลงสิง (สมบัติ และคณะ, 2541) หนอนกระทู้ผัก (ภัทรดนัย และคณะ, 2557) หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และเพลี้ยกระโดดหลังขาว (จริยา และคณะ, 2529; เพชรหทัย และคณะ, 2542) เป็นต้น โดยผลการควบคุมขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อและสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้น ๆ

จากการศึกษาที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยได้คัดแยกเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 จากธรรมชาติซึ่งมีศักยภาพในการลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดี (อารยา และคณะ, 2558) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้น ๆ อย่างไรก็ตาม การใช้ประโยชน์จากเชื้อราในปัจจุบันนิยมใช้ในรูปแบบหัวเชื้อสด ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางจุลชีววิทยาในการเก็บรักษาเชื้อและเลี้ยงเชื้อในอาหารเทียมเพื่อผลิตหัวเชื้อราสำหรับขยายในวัสดุเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการใช้ประโยชน์ และที่สำคัญคือหัวเชื้อราสดไม่สามารถคงความมีชีวิตและ

ประสิทธิภาพได้นาน (เสาวนิตย์ และคณะ, 2549) แม้มีการเก็บเชื้อราในระดับอุณหภูมิต่ำ 4-5 องศาเซลเซียส เพื่อลดการเจริญของเชื้อราก็ตาม (อนุเทพ, 2536; Pham *et al.*, 2009; Santa *et al.*, 2005; Ying and Feng, 2006) ทำให้กลายเป็นข้อจำกัดสำหรับการส่งเสริมในระดับเกษตรกรอย่างมาก การผสมสปอร์หรือโคนิเดียของเชื้อรากับสารพาทาชนิดต่าง ๆ เช่น ดินอินทรีย์ ดินขาว ททราย (Daoust *et al.*, 1983) สามารถการยืดอายุของเชื้อราสดีให้คงประสิทธิภาพได้นานขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม สารพาทาที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวแต่ละชนิดมีศักยภาพในการเก็บรักษาเชื้อราได้แตกต่างกัน การคัดเลือกสารพาทาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวมีผลต่อความมีชีวิตและประสิทธิภาพของเชื้อรามาก ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพสารพาทาชนิดต่าง ๆ ในการเก็บรักษาเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 นี้ขึ้น เพื่อศึกษาความมีชีวิตและประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาในสารพาทาชนิดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน ทั้งนี้ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับพัฒนาชีวภัณฑ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ได้รับจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติภาคเหนือตอนล่าง จังหวัดพิษณุโลก เป็นเชื้อราที่มีศักยภาพในการลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้รวดเร็ว (อารยา และคณะ, 2558) ทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sabouraud dextrose agar) บ่มเชื้อที่ระดับอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน จนได้โคโลนีที่ฟูเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อราโดยใน 1 จานอาหารใช้น้ำกลั่นซึ่งผสมด้วย 0.1% Tween 80 (Sigma, St. Louis, MO, USA) จำนวน 20 มิลลิลิตร ผสมกับโคนิเดียเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อ คูดน้ำโคนิเดียแขวนลอยของเชื้อราใส่ขวด 500 มิลลิลิตร แล้วเขย่าขวดเพื่อให้เชื้อกระจายทั่วขวด ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของโคนิเดียโดย haemocytometer (Hausser, Horsham,

PA, USA) และปรับความเข้มข้น ให้เป็น 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

ซึ่งสารพาทา 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ททราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ชนิดละ 300 กรัม ใส่ขวดทดลอง ปิดปากขวดด้วยสำลี นำน้ำเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ใส่สารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราเขียวข้างต้นขวดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 6 เดือน

ประเมินความมีชีวิตของเชื้อราเขียวโดยนำตัวอย่างหัวเชื้อที่บ่ม เป็นเวลา 1 เดือน จำนวน 1 กรัม ใส่ลงใน flask ที่ เติมน้ำกลั่นจำนวน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายผสมกับน้ำ รอจนตกตะกอน เจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} มิลลิลิตร และ spread ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA โดยใช้ปริมาณสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร/เพลท บ่มที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ตรวจนับและคำนวณจำนวนโคโลนีที่พบ และเปรียบเทียบระหว่างสารพาทาชนิดต่าง ๆ

ทดสอบศักยภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เชื้อราเขียวที่ผสมในสารพาทาชนิดต่าง ๆ จำนวน 1 กรัม เพาะเลี้ยงในวัสดุเพาะคือข้าวพันธุ์เส้าไห่ทุ่งกึ่งสูง 150 กรัม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จนโคนิเดียของเชื้อราเขียวเจริญทั่วถุงข้าว ทำการตรวจวัดความเข้มข้นของโคนิเดียในวัสดุเพาะเลี้ยง บันทึกผล จากนั้นปรับระดับความเข้มข้นของโคนิเดียที่ 10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร พ่นลงบนต้นข้าวพันธุ์ไทสูงเนที่ฟ1 ระยะแตกกอที่ได้ปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยที่ 3 จำนวน 30 ตัวต่อหน่วยการทดลอง แล้วเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงทำ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับเชื้อราทางการค้า บันทึกจำนวนเพลี้ยกระโดดที่ตายทุกวัน วิเคราะห์ผลด้วย analysis of variance เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย (Duncan's multiple range test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ ($P=0.05$) และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา โดยใช้ผลการคำนวณ probit analysis จากระยะเวลาที่เชื้อทำให้เพลี้ยตายร้อยละ 50 (LT_{50})

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาประสิทธิภาพสารพาในการเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048

การทดสอบประสิทธิภาพสารพาในการเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง พบว่า สารพาแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการรักษาความมีชีวิตของเชื้อราเขียวได้แตกต่างกันอย่างชัดเจนในแต่ละระยะเวลาของการเก็บรักษา ในเดือนที่ 1 สารพาชนิดต่าง ๆ สามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 1.3×10^5 - 3.0×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยดินอินทรีย์วัตถุ และ ดินขาวลำปาง พบเชื้อราเขียวสูงสุดสองอันดับแรก คือ 3.0×10^5 และ 2.5×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 2 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 1.5×10^5 - 3.5×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ดินขาวลำปาง เช่นเดียวกับในช่วง 1 เดือน พบ 3.5×10^5 และ 2.6×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 3 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 0.4×10^5 - 3.6×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ดินขาวลพบุรี พบ 3.6×10^5 และ 1.5×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 4 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 0.3×10^5 - 3.2×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ทราย พบ 3.2×10^5 และ 1.6×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 5 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 0.4×10^5 - 3.5×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ทราย พบ 3.5×10^5 และ 1.3×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ที่ 6 เดือน สารพาสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ในช่วง 0.1×10^5 - 2.6×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร โดยสารพาที่มีประสิทธิภาพสูง คือ ดินอินทรีย์วัตถุ และ ทราย พบ 2.6×10^5 และ 1.1×10^5 โคนิเดีย/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 1)

ผลการศึกษาศักยภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาด้วยสารพาต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เมื่อเก็บรักษาเชื้อราได้ครบ 6 เดือน และขยายในข้าวถึงสุกกึ่งดิบพบว่า เชื้อราที่เก็บรักษาด้วยสารพาทั้ง 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ทราย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง สามารถเพิ่มขยายจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ใน 7 วัน ตรวจพบโคโลนีของเชื้อราได้ 8.8×10^9 ,

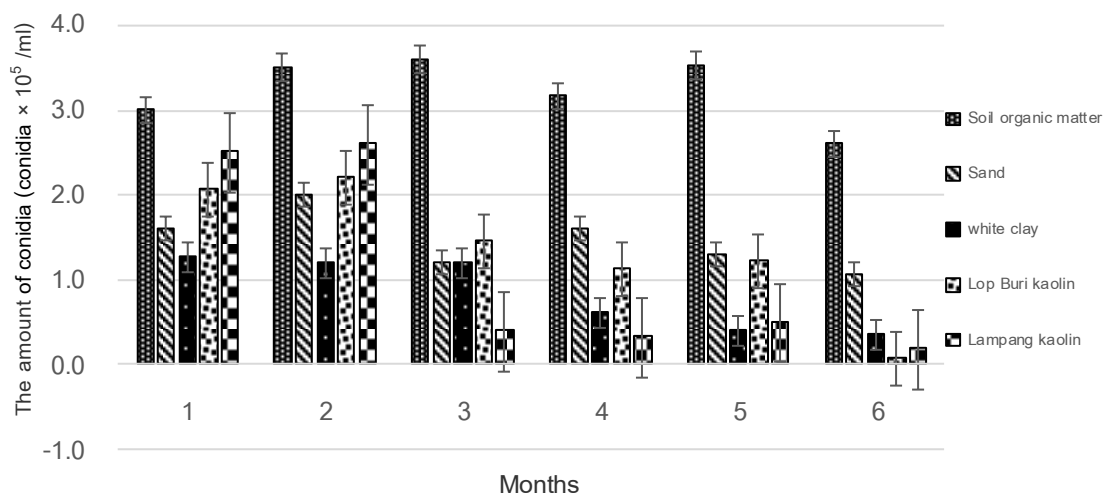


Figure 1. The amount of recovered *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 conidia preserved in 5 carriers during 1-6 months

4.2×10^8 , 1.7×10^8 , 1.5×10^9 และ 1.9×10^9 โคนิ เดีย / มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บรักษาในสารพาหะเป็นเวลานาน 6 เดือน เปรียบเทียบกับเชื้อราทางการค้า พบว่า เชื้อราเขียวในสารพาหะชนิดต่าง ๆ มีประสิทธิภาพในการฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในช่วง ร้อยละ 98-100 ที่ระยะ 5 วัน หลังสัมผัสเชื้อราเขียว โดยเชื้อราเขียวที่เก็บรักษาใน ทวาย ดินสอพอง และดินขาวลพบุรี พบอัตราการตายของเพลี้ยที่ร้อยละ 100 และทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 2.03, 2.13 และ 2.21 วันตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่เก็บรักษาใน ดินอินทรีย์วัตถุ และดินขาวลำปาง พบอัตราการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ร้อยละ 98.0 และ 98.7 ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 2.35 และ 2.57 วัน ตามลำดับ

ในขณะที่เชื้อราทางการค้าพบอัตราการตายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ร้อยละ 93.3 แตกต่างจากเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ที่เก็บในสารพาหะทั้ง 5 ชนิด และทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 3.00 วัน (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

จากผลการเก็บรักษาเชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ในสารพาหะ 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ทวาย ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า สารพาหะทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวได้ดี โดยตรวจพบจำนวนโคโลนีของเชื้อราเขียวได้สูงสุดในสารพาหะที่เป็นดินอินทรีย์วัตถุ และทวาย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jackson *et al.* (2010) และ Post and Mann (1990)

Table 1. The amount of *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 colonies in 5 carriers recovered in rice media after 6 months of preservation

Carriers	Recovered conidia/ml
Soil organic matter	8.8×10^9 a
Sand	4.2×10^8 b
White clay	1.7×10^8 b
Lop Buri kaolin	1.5×10^9 b
Lampang kaolin	1.9×10^9 b

Means within column followed by the same letter are not significantly different ($P \leq 0.05$)

Table 2. Percentage of mortality and median lethal time (LT_{50}) of *Nilaparvata lugens* after contacting to *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 preserved for 6 months

Carriers	% Mortality $\pm$ SE (at 5 day) ¹	$LT_{50} \pm$ SE (day) ²
Soil organic matter	98.0 ± 0.82^a	2.35 ± 0.04
Sand	100.0 ± 0.00^a	2.03 ± 0.06
White clay	100.0 ± 0.00^a	2.13 ± 0.06
Lop Buri kaolin	100.0 ± 0.00^a	2.21 ± 0.06
Lampang kaolin	98.7 ± 0.27^a	2.57 ± 0.07
Commercial <i>M. anisopliae</i>	93.3 ± 0.30^b	3.00 ± 0.13

Means within column followed by the same letter are not significantly different ($P \leq 0.05$)

¹ Mortality at day 5

² *M. anisopliae* were applied of concentration of 1×10^8 conidia/ml

พบว่าดินอินทรีย์วัตถุมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาสูงสุด *M. anisopliae* สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของดินได้เมื่อมีความชื้นที่เหมาะสมและ Bukhari *et al.* (2011) ที่พบว่า ทราายเป็นสารพาหะที่มีความชื้นต่ำ เมื่อผสมกับเชื้อราจึงสามารถกระจายตัวได้ดี ส่วนสารพาหะในกลุ่มดินขาวที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อรา *M. anisopliae* MRT-PCH 048 คือ ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ซึ่งดินสอพองและดินขาวลพบุรี เป็นกลุ่มดินที่มีองค์ประกอบของแร่แคลไซต์ ส่วนดินขาวลำปาง ประกอบด้วยแร่โดโลไมท์และเศษซากฟอสซิล ซึ่งตายทับถมกันเป็นเวลานาน เนื้อดินจึงมีความพรุน และแห้งสามารถเก็บรักษาความมีชีวิตของเชื้อราได้ดี ประกอบกับสารพาหะในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็น wetting agent เมื่อผสมกับวัสดุเพาะขยายเชื้อทำให้เชื้อสามารถกระจายตัวได้ดี (Ali, 2014) และแม้ว่าในเดือนที่ 6 พบโคโลนีเชื้อราเขียวในระดับต่ำมาก แต่กลับเป็นกลุ่มเชื้อที่มีความแข็งแรงมากสามารถขยายเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในช่วงกึ่งสูงสุดความสามารถในการกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างจากการใช้เชื้อรา *Metarhizium* ที่จำหน่ายเป็นการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เชื้อราเขียวที่เก็บรักษาในสารพาหะทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการลงทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีในระดับที่ไม่แตกต่างทางสถิติ

ผลการทดลองในครั้งนี้เป็นการสร้างตัวเลือกในการใช้สารพาหะชนิดต่างๆ เพื่อเก็บรักษาเชื้อรา *M. anisopliae* โดยพิจารณาระยะเวลาในการเก็บรักษาเชื้อราและสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษาที่มีเป็นเกณฑ์ ร่วมกับความสะดวกในการจัดหา และราคา ของสารพาหะในแต่ละท้องที่ เพื่อช่วยเก็บรักษาเชื้อราได้มีความสะดวกในการนำไปใช้ ต่อไปในอนาคต

สรุป

การใช้ประโยชน์จากเชื้อราในปัจจุบันนิยมใช้ในรูปแบบหัวเชื้อสด จำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางจุลชีววิทยาในหลายในการเก็บเชื้อและเลี้ยงเชื้อในอาหารเทียม เพื่อผลิตหัวเชื้อราสำหรับขยายในวัสดุเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการใช้ประโยชน์ และที่สำคัญคือหัวเชื้อราสดไม่สามารถคงความมีชีวิตและประสิทธิภาพได้นาน

จึงได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารพาหะ 5 ชนิด คือ ดินอินทรีย์วัตถุ ทราয় ดินสอพอง ดินขาวลพบุรี และดินขาวลำปาง ในการเก็บรักษาโคโคเดียของเชื้อราเขียวขึ้น โดยใช้เชื้อราเขียว *M. anisopliae* MRT-PCH 048 ความเข้มข้น 10^6 จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับสารพาหะ 500 กรัม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือนพบว่าสารพาหะทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อราเขียวได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ดินอินทรีย์วัตถุ และทราয় และคงประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงถึงร้อยละ 98-100 ภายใน 5 วันหลังสัมผัสเชื้อ ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาย 50% (LT_{50}) ภายในระยะเวลา 2.03-2.57 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (วช.) ภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้คำแนะนำและอุปการะ และสถานที่ในการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- จริยา จันทน์โพแสง ทิพย์วดี อรรถธรรม และ วาสุลี ใจจนวงศ์. 2529. การสำรวจโรคเชื้อราของเพลี้ยจักจั่นบางชนิดที่เป็นศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นริศ ท้าวจันทร์ และ อนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ใน แมลงวัน ผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3): 21-25.
- นาวัน สุขเลิศ จิราพร กุลสาริน ไสว บรูณพานิชพันธ์ และ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2559. ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบีย่องเต้านพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(2): 171-180.

- เพชรหทัย ปฏิกูปานุสร ธวัช ปฏิกูปานุสร และ ภมร บัตตา
วะตัง. 2542. ประสิทธิภาพของเชื้อราบางชนิด
ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ย
จักจั่นสีเขียว. งานวิจัยอารักขาพืช ศูนย์วิจัยข้าว
พิษณุโลก, พิษณุโลก.
- ภัทรดนัย ชัยสวัสดิ์ จิราพร กุลสาริน ไสว บุรณพานิชพันธุ์
และ สิริญา คัมภีโร. 2557. ประสิทธิภาพของ
เชื้อรา *Nomuraea* และ *Metarhizium* สาเหตุ
โรคแมลง ในการควบคุมหนอนกระทู้ผักของดอก
ดาวเรือง. วารสารเกษตร 30(1): 11-19.
- วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพ์พรรณ สมมาตย์ ศิธิภา นักษัตร
วิมลมาศ โสภณเสน และ อาภรณ์ บันทองคำ.
2548. การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Metarhizium*
anisopliae และการนำไปใช้ควบคุมหนอนด้วง
หนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย *Dorystenes*
buqueti Guerin (Coleoptera: Cerambycidae)
ในสภาพไร่. หน้า 1-13. ใน: รายงานการประชุม
วิชาการประจำปี 2548. ศูนย์วิจัยควบคุม
ศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- วิวัฒน์ เสือสะอาด พิมพ์พรรณ สมมาตย์ อาภรณ์ บัน
ทองคำ ปวีณา บูชาเทียน และ ดอกกกล้วยไม้
หอมระหัด. 2551. การใช้เชื้อรา *Metarhizium*
anisopliae (Metschnikoff) Sorokin เพื่อควบคุม
หนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นอ้อย
Dorystenes buqueti (Guerin) (Coleoptera:
Cerambycidae). หน้า 1. ใน: รวบรวมบทความ
ผลงานวิจัย การประชุมวิชาการประจำปี 2551.
ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ.
กรุงเทพฯ.
- สมบัติ รุจาคม ภมร บัตตาวะตัง นลินี เจียงวรรณะ และ
เพชรหทัย ปฏิกูปานุสร. 2541. การควบคุมแมลง
สิงโดยเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* และเชื้อ
ราเขียว *Metarhizium anisopliae*. หน้า 198-
209. ใน: รายงานการสัมมนาทางวิชาการ เรื่อง
การพัฒนาข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 9.
กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ วรวิ สมสุข และ สุทธวัจน์ ว่องไว
ลิขิต. 2549. การศึกษาสารพา (carriers) ที่
เหมาะสมในการใช้ร่วมกับแบ่ง. สำนักวิจัย
พัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร,
กรุงเทพฯ.
- อนุเทพ ภาสุระ. 2536. การผลิตมวลชีวภาพเชื้อรา
Trichoderma harzianum โดยกระบวนการหมัก
อาหารเหลือเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุ
โรคพืชทางชีววิธี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.
- อารยา บุญศักดิ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิช
พันธุ์ และ จิราพร กุลสาริน. 2558. การคัดเลือก
เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff)
Sorokin ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ย
กระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว. วารสารเกษตร
31(3): 291-299.
- Ali, M.I.E. 2014. Investigation of entomopathogenic
fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium*
anisopliae) for control of *Bactrocera*
dorsalis (Hendel) (Diptera: Tephritidae), and
development of formulation. Ph.D.
Dissertation. Indian Agricultural Research
Institute, New Delhi.
- Bridge, P.D., C. Prior, J. Sagbohan, C.J. Lomer, M.
Carey and A. Buddie. 1997. Molecular
characterization of isolates of *Metarhizium*
from locusts and grasshoppers. Biodiversity
and Conservation 6(2): 177-189.
- Bukhari, T., W. Takken and C.J.M. Koenraadt. 2011.
Development of *Metarhizium anisopliae* and
Beauveria bassiana formulations for control
of malaria mosquito larvae. Parasites &
Vectors 4: 23, doi: 10.1186/1756-3305-4-23.
- Daoust, R.A., M.G. Ward and D.W. Roberts. 1983.
Effect of formulation on the viability of
Metarhizium anisopliae conidia. Journal of
Invertebrate Pathology 41(2): 151-160.
- Inglis, P.W., B.P. Magalhaes and M.C. Valadares-
Inglis. 1999. Genetic variability in

- Metarhizium flavoviride* revealed by telomeric fingerprinting. FEMS Microbiology Letters 179(1): 49-52.
- Iskandarov, U.S., A.G. Guzalova and K.D. Davranov. 2006. Effects of nutrient medium composition and temperature on the germination of conidia and the entomopathogenic activity of the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Applied Biochemistry and Microbiology 42(1): 72-76.
- Jackson, M.A., C.A. Dunlap and S.T. Jaronski. 2010. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. BioControl 55(1): 129-145.
- Kershaw, M.J., E.R. Moorhouse, R. Bateman, S.E. Reynolds and A.K. Charnley. 1999. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. Journal of Invertebrate Pathology 74(3): 213-223.
- Milner, R.J., J.A. Staples and G.G. Lutton. 1998. The selection of an isolate of the hyphomycete fungus, *Metarhizium anisopliae*, for control of termites in Australia. Biological Control 11: 240-247.
- Onofre, S.B., C.M. Miniuk, N.M. De Barros and J.L. Azevedo. 2001. Growth and sporulation of *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* on culture media and lighting regimes. Scientia Agricola 58(3): 613-616.
- Pham, T.T., T.B. Nguyen, T. Dong and T.T. Tran. 1994. Effect of *Beauveria bassiana* Vuill. and *Metarhizium anisopliae* Sorok. on brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal) in Vietnam. International Rice Research Newsletter 19(3): 29.
- Post, W.M. and L.K. Mann. 1990. Changes in soil organic carbon and nitrogen as a result of cultivation. pp. 401-406. In: A. F. Bowman (ed.). Soils and the Greenhouse Effect. John Wiley & Sons, New York.
- Santa, H.S.D., O.R.D. Santa, D. Brand, L.P. de Souza Vandenberghe and C. R. Socol. 2005. Spore production of *Beauveria bassiana* from agro-industrial residues. Brazilian Archives of Biology and Technology 48: 51-60.
- Shi, W.B. and M.G. Feng. 2004. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. Biological Control 30: 165-173.
- Tanada, Y. and H.K. Kaya. 1993. Insect Pathology. Academic Press, New York.
- Tulloch, M. 1976. The genus *Metarhizium*. Transactions of the British Mycological Society 66(3): 407-411.
- Ying, S.H. and M.G. Feng. 2006. Medium components and culture conditions affect the thermotolerance of aerial conidia of fungal biocontrol agent *Beauveria bassiana*. Letters in Applied Microbiology 43(3): 331-335.
- Zimmermann, G. 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biological agent. Pest Management Science 37(4): 375-379.

ผลของระบบนิเวศวิศวกรรมต่อความหลากหลายของแมลงและแมงมุมในนาข้าว

Effect of Ecological Engineering System on Diversity of Insects and Spiders in Rice Paddy Field

วงเดือน พักข้าว¹ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ^{1*} ไสว บุรณพานิชพันธุ์² ปภพ สิ้นชยกุล³
และ วิชัย สรพงษ์ไพศาล³

Wongduan Fakkam¹, Weerathep Pongprasert^{1*}, Sawai Buranapanichpan²,
Pabhop Sinchayakul³ and Wichai Sorapongpisal³

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

¹Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University,
Phitsanulok 65000, Thailand

²ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

²Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

³ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

³Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: Email: weerathepp@nu.ac.th

(Received: 31 October 2017; Accepted: 15 December 2017)

Abstract: The objective of this research was to study on the effect of ecological engineering in rice paddy field on diversity of insects and spiders compared to non-managed rice paddy field. The bund of RD61 rice paddy field at 2 rai was adjusted to be wider up to 1 meters and *Crotalaria juncea* was planted on. Insects and spiders were determined every week from seedling stage (14 days old) to harvesting stage using net sweeping method. All insects and spiders were identified, Shannon-Wiener's diversity and distribution indices were analyzed. The relationship between number species and number of insects and spiders with abiotic factors: temperature, relative humid and rainfall and biotic factors: natural enemies were determined. The result found that the management of rice paddy field based on ecological engineering by planting *C. juncea* on the bund of rice paddy field affected on the ratio of species numbers and the amounts of insects and spiders, generated higher diversity that supported the more complexity, balance and stability of insect and spider activities in the rice paddy field ecosystem and finally, reduced the species and amount of rice insect pests in the managed rice paddy field.

Keywords: Biodiversity, insect and spider, rice paddy field, ecological engineering system

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการวิจัยคือ เพื่อศึกษาผลของระบบนิเวศวิศวกรรมในแปลงนาข้าวต่อความหลากหลายของแมลงและแมงมุมเปรียบเทียบกับแปลงนาปกติ ในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์โดยทำการปรับปรุงคันนาแปลงนาข้าวพันธุ์ กข61 ขนาด 2 ไร่ ให้กว้างขึ้นเป็น 1 เมตร และปลูกปอเทืองบนคันนาโดยรอบ สุ่มสำรวจด้วยสวิงโอบ ตั้งแต่ข้าวอายุ 14 วัน ทุก ๆ 7 วันจนถึงระยะเก็บเกี่ยว จำแนกชนิดของแมลง และแมงมุม วิเคราะห์ความหลากหลายชนิด และการกระจายตัวของ Shannon-Wiener พร้อมทั้งเปรียบเทียบสัดส่วนแมลงศัตรูข้าว แมลงศัตรูธรรมชาติ แมงมุม และอื่น ๆ รวมไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนของแมลงและแมงมุมที่พบกับปัจจัยทางกายภาพ คือ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ รวมถึงปริมาณน้ำฝน และปัจจัยทางชีวภาพ คือ จำนวนชนิดของศัตรูธรรมชาติ ผลการศึกษาพบว่า การจัดการระบบนิเวศวิศวกรรมในนาข้าวด้วยการปลูกปอเทืองโดยรอบคันนามีผลต่อสัดส่วนของชนิดและจำนวนแมลงและแมงมุมชนิดต่าง ๆ สนับสนุนการสร้าง ความหลากหลายทางชีวภาพให้เกิดขึ้นในระบบนิเวศแปลงนา และเป็นกลไกที่ส่งผลต่อกิจกรรมต่าง ๆ ของแมลงและแมงมุมให้มีความซับซ้อนมากขึ้น มีความสมดุลและเสถียรมากขึ้น และมีส่วนลดจำนวนชนิดและปริมาณของแมลงศัตรูข้าวได้

คำสำคัญ: ความหลากหลายทางชีวภาพ แมลงและแมงมุม นาข้าว ระบบนิเวศวิศวกรรม

คำนำ

ข้าวจัดเป็นพืชอาหารที่มีความสำคัญมากในเอเชีย (Peng and Hardy, 2001) การระบาดของแมลงศัตรูข้าวชนิดต่าง ๆ ที่สำคัญคือเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว เพลี้ยกระโดดหลังขาว หนอนห่อใบข้าวสร้างความเสียหายต่อผลผลิตข้าวในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วทั้งเอเชียทุกปี (Savary *et al.*, 2012) และพื้นที่การระบาดยังมีแนวโน้มขยายเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนถึงระดับที่รัฐบาลต้องประกาศพื้นที่นาในหลายจังหวัดเป็นพื้นที่ภัยพิบัติบ่อยครั้ง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2555) ระบบการทำนาในปัจจุบันมุ่งเน้นการผลิตเพื่อการค้า ปลูกในพื้นที่ขนาดใหญ่ต่อเนื่องตลอดทั้งปี มีข้าวทุกระยะการเพาะปลูกตลอดเวลา จึงเป็นสภาพพื้นที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของศัตรูพืช ทำให้ศัตรูพืชสามารถสะสมและก่อให้เกิดการระบาดได้ (วันทนา และคณะ, 2554) มีการใช้สารควบคุมศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ มากมายซึ่งมีผลกระทบต่อศัตรูธรรมชาติ (Heong, 2009) ซึ่งการที่ศัตรูธรรมชาติถูกทำลายนอกจากแมลงศัตรูข้าวมีโอกาสระบาดแล้วยังส่งผลทำให้แมลงที่เป็นศัตรูรองไม่มีความสำคัญกลายเป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญขึ้นมาได้ นอกจากนี้การนิยมใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณสูงเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของข้าวนั้นกลับเป็นการกระตุ้นการระบาดของแมลงศัตรูข้าวชนิดต่าง ๆ ได้ (Lu and Heong, 2009)

ด้วยการควบคุมแมลงศัตรูพืชในปัจจุบันนั้นมีความหมายที่มุ่งเน้นการเกษตรปลอดภัย การเกษตรปลอดสาร และเกษตรอินทรีย์ ที่ชัดเจนและเป็นระบบมากขึ้น ทั้งในส่วนของ การค้นหาวิธีการควบคุมที่มีความปลอดภัยในรูปแบบต่าง ๆ เช่น การใช้ชีวภัณฑ์ (นาวัน และคณะ, 2559; อารยา และคณะ, 2558) การใช้สารสกัดจากพืช (ปิ่นรส, 2559; ศุภกร และคณะ, 2560) การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (วุฒิพัฒน์ และคณะ, 2560) และการศึกษาพฤติกรรมในการปฏิบัติและการยอมรับของเกษตรกร (ตะวัน และคณะ, 2557; นราศิณี และคณะ, 2560; พหล และสุรัชย์, 2559; สุภาวดี, 2559) เพื่อกำหนดแนวทางในการส่งเสริมและเสริมสร้างมาตรฐานการผลิตที่ลดการใช้สารเคมีควบคุมแมลงศัตรูพืชเสริมสร้างความปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยการจัดการระบบนิเวศในนาข้าว (ecological manipulation) หรือ นิเวศวิศวกรรม (ecological engineering) (Gurr, 2009) เป็นหนึ่งในแนวคิดของการจัดการศัตรูพืชที่เกิดขึ้นและมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ปรับระบบการปลูกข้าว เพื่อลดการระบาดของศัตรูข้าวได้ โดยทำการปรับปรุงคันนาให้กว้างขึ้นและปลูกพืชไม้ดอก สมุนไพรหลากหลายชนิดตามคันนา เพื่อสร้างความหลากหลายชนิดของพืชให้เกิดขึ้นในระบบนาข้าว พืชดังกล่าวสามารถดึงดูดศัตรูธรรมชาติให้เข้ามาสู่แปลงนาได้ง่ายเนื่องจากเป็นแหล่งน้ำหวานที่เป็นอาหาร และเป็นที่หลบพักของในช่วงเวลาที่

มีอากาศหรือสภาพแวดล้อมในนาข้าวไม่เหมาะสมได้ (Begum *et al.*, 2004; Ostman, 2004) ทำให้ ศัตรูธรรมชาติมีชีวิตรที่ยาวนานขึ้น การค้นหาเหยื่อมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Jervis *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2014; Rivero and Casas, 1999) ส่งผลสนับสนุนให้เกิดกลไกการควบคุมภายใต้ความสมดุลของธรรมชาติ โดยการควบคุมดังกล่าวขึ้นอยู่กับระดับความซับซ้อนของกลไกการควบคุมโดยธรรมชาติที่จะก่อให้เกิดสมดุลของระบบนิเวศในนาข้าว (Hoeng and Sogawa, 1994) และการจัดการดังกล่าวถือเป็นมาตรการหนึ่งที่สำคัญมากในการอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติ สนับสนุนการตั้งรกราก และการคงอยู่ของศัตรูธรรมชาติในสภาพจริง (Van Driesche and Bellows, 1996)

นอกจากนี้สามารถใช้ร่วมกับวิธีการอื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับสารฆ่าแมลง เช่น พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรม และการควบคุมโดยชีววิธี เป็นต้น และเป็นแนวทางที่สำคัญที่สามารถใช้ในการบริหารจัดการศัตรูพืช (Landis *et al.*, 2000) เป็นแนวคิดที่ได้รับการยอมรับเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยในลักษณะของระบบนิเวศวิศวกรรมในนาข้าวนี้ยังมีการศึกษาและข้อมูลในระดับพื้นที่ยังมีน้อยมาก

จึงได้ทำการศึกษาผลของการจัดการระบบนิเวศแปลงนาด้วยการปลูกปอเพื่อรอบแปลงนาต่อความหลากหลายทางชีวภาพของแมลงศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติขึ้นเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่มีการจัดการ เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์สำหรับการบริหารจัดการแมลงศัตรูข้าวในนาชลประทานต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการศึกษาในเขตนาชลประทานจังหวัดนครสวรรค์ เตรียมแปลงทดลอง ขนาด 2 ไร่ 2 แปลง โดยทำการปรับพื้นที่นาให้มีคันนากว้างขนาด 1 เมตร รอบทุกแปลง ปลูกข้าวพันธุ์ กข61 (อายุเก็บเกี่ยวสั้น ในฤดูนาปี 96 วัน และฤดูนาปี 87) วันโดยวิธีการหว่าน อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ ทั้ง 2 แปลง โดย

แปลงที่ 1 แปลงนาระบบนิเวศวิศวกรรม (ecological engineering system: EE) ปลูก ปอ เพื่อ

รอบ ๆ คันนา ซึ่งมีขนาดกว้าง 1 เมตร ใช้เมล็ดปอเพียง 0.5 กิโลกรัม มีการให้น้ำในระดับความสูง 5 เซนติเมตร ตั้งแต่ข้าวมีอายุ 7 วัน จนถึงระยะการสร้างเมล็ด ใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง ครั้งที่ 1 หลังหว่านข้าว 30 วัน ใช้ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ครั้งที่ 2 หลังหว่านข้าว 45 วัน ใช้ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ และครั้งที่ 3 ระยะสร้างรวงอ่อน ใช้ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัสชีวภาพคลอร์ อัตรา 250 มิลลิลิตร/น้ำ 70 ลิตร เพื่อคุมวัชพืชเมื่อข้าวมีอายุ 7 วัน แต่ไม่มีการใช้สารเคมีกำจัดแมลง

แปลงที่ 2 แปลงที่ไม่มีการจัดการ (control: CON) บริเวณคันนา มีขนาดกว้าง 1 เมตร ไม่ปลูกพืชใด ๆ มีการให้น้ำใส่ปุ๋ยเหมือนแปลงที่ 1 ฟอสฟอรัสชีวภาพคลอร์ อัตรา 250 มิลลิลิตร/น้ำ 70 ลิตร เพื่อคุมวัชพืชเมื่อข้าวมีอายุ 7 วัน แต่ไม่มีการใช้สารเคมีกำจัดแมลง (คันนาตัดหญ้าเรียบเตียน)

สุ่มสำรวจจำนวนชนิดและปริมาณแมลง และแมงมุม ด้วยสวิงโอบตามแนวเส้นทแยงมุม แนวทแยงละ 15 โอบ 2 แนวต่อ 1 แปลง (แปลงละ 30 โอบ 1 โอบคือ โอบไปและกลับ) ทุกสัปดาห์ จากทั้ง 2 แปลงและบริเวณคันนาของแปลงจัดการระบบนิเวศตั้งแต่ข้าวอายุ 14 วัน หลังหว่าน จนถึงระยะเก็บเกี่ยว

จำแนกชนิดของแมลงและตรวนับจำนวนของแมลงในห้องปฏิบัติการ โดยนำแมลงที่ได้มาแยกเป็นกลุ่ม 4 กลุ่ม ได้แก่ แมลงศัตรูข้าว แมลงศัตรูธรรมชาติ แมงมุม และแมลงอื่น ๆ ตาม อันดับ (order) วงศ์ (family) และ ชนิด (species) ตามแนวทางการจำแนกของธวัช และเพชรหทัย (2554), พิสุทธิ (2553), วันทนา และคณะ (2550, 2553, 2554), Asahina (1993), Hutachareem *et al.* (2007) และ Shepard *et al.* (1995) รวบรวมข้อมูลบันทึกผลวิเคราะห์ข้อมูล เปรียบเทียบสัดส่วนของจำนวนชนิดและปริมาณ แมลงศัตรูข้าว แมลงศัตรูธรรมชาติ แมงมุม และแมลงอื่น ๆ วิเคราะห์ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ (Shannon-Wiener index of diversity, H) และค่าดัชนีการกระจายตัว (Shannon-Wiener index of species evenness, EH) (Kreb, 1972; Wilson, 2000)

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation analysis, R) ระหว่างจำนวนชนิดและปริมาณของแมลงศัตรูข้าวกับ

ปัจจัยทางชีวภาพคือจำนวนชนิดและปริมาณศัตรูธรรมชาติและปัจจัยทางกายภาพ คือ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้น จากทั้งสองแปลง

ผลการวิจัย

เปรียบเทียบสัดส่วนของจำนวนชนิดแมลงศัตรูข้าว แมลงศัตรูธรรมชาติ แมงมุม และแมลงอื่น ๆ

การสำรวจชนิดแมลงด้วยสวิงโอบ ในแปลงนา ระบบนิเวศวิศวกรรม (EE) แปลงนาที่ไม่มีการจัดการ (CON) บริเวณคันนาแปลงนิเวศวิศวกรรม (EEF) พบว่า สัดส่วนของจำนวนชนิดของแมลงศัตรูข้าวในแปลง EE และ CON คิดเป็นร้อยละ 17 และ 22 (ภาพที่ 1) แมลงศัตรูธรรมชาติ (NEs) คิดเป็นร้อยละ 50 และ 51 ตามลำดับ แมงมุมคิดเป็นร้อยละ 5 และ 4 ตามลำดับ แมลงอื่น ๆ คิดเป็นร้อยละ 28 และ 23 ตามลำดับ สำหรับ บริเวณคันนา พบว่า คันนาของแปลง EEF พบสัดส่วน

จำนวนชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติมากที่สุดคือร้อยละ 41 แมลงศัตรูข้าวแมงมุม และแมลงอื่น ๆ คิดเป็นร้อยละ 20, 6 และ 33 ตามลำดับ (ภาพที่ 1) ส่วนปริมาณแมลงที่สำรวจด้วยสวิงโอบ พบสัดส่วนปริมาณแมลงศัตรูข้าวในแปลง EE และแปลง CON คิดเป็นร้อยละ 59 และ 42 ตามลำดับ แมลงศัตรูธรรมชาติคิดเป็นร้อยละ 13 และ 16 ตามลำดับ แมงมุมคิดเป็นร้อยละ 10 และ 9 ตามลำดับ แมลงอื่น ๆ คิดเป็นร้อยละ 18 และ 33 ตามลำดับ สำหรับ บริเวณคันนา EEF พบ สัดส่วนปริมาณแมลงอื่น ๆ มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 73 ตามด้วยแมลงศัตรูข้าว แมลงศัตรูธรรมชาติ และแมงมุม คิดเป็นร้อยละ 10, 8 และ 9 ตามลำดับ (ภาพที่ 2)

ความหลากหลายเชิงอนุกรมวิธาน

ความหลากหลายในเชิงอนุกรมวิธานพบว่า จำนวนอันดับของแมลงและแมงมุมที่พบในแปลงแต่ละประเภท EE และ CON มีเท่า ๆ กัน คืออยู่ในช่วง 19-20

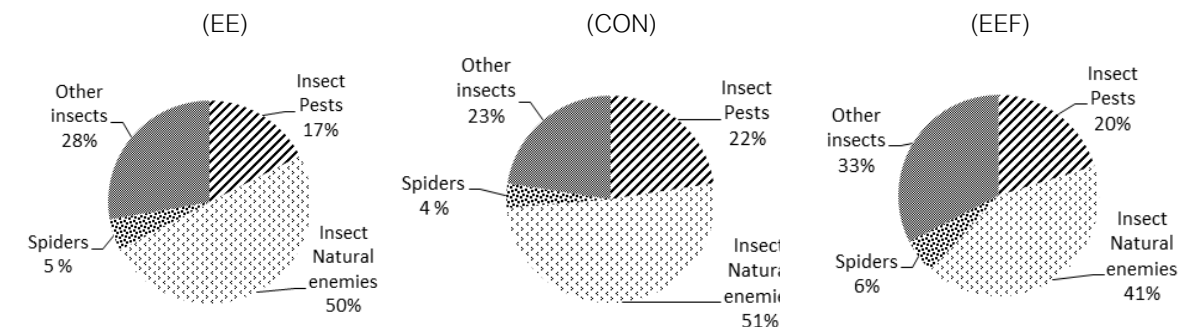


Figure 1. Percentage of species numbers of insect and spider found in ecological engineer field (EE), control field (CON) and bund of ecological engineer field (EEF) by sweeping method

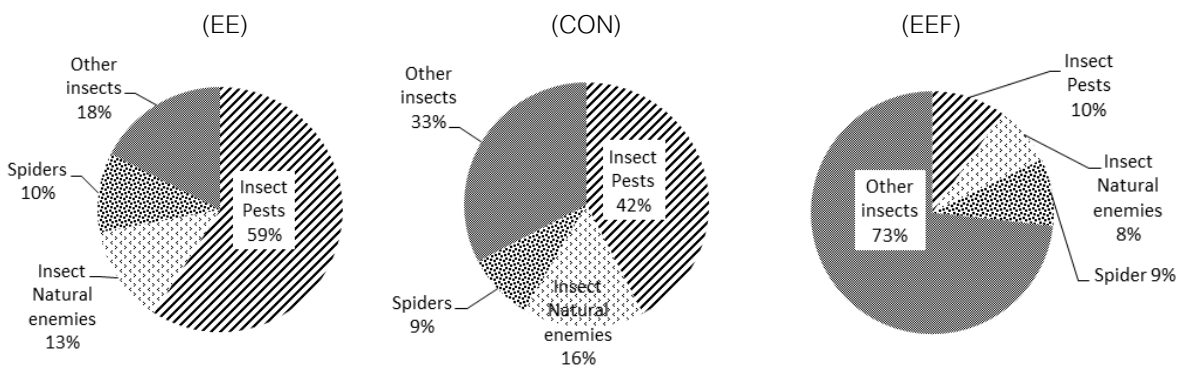


Figure 2. Percentage of numbers of insects and spiders found in ecological engineer field (EE), control field (CON) and bund of ecological engineer field (EEF) by sweeping method

อันดับ ในระดับวงศ์พบจำนวน 79 และ 81 วงศ์ ตามลำดับ ในระดับชนิดพบจำนวน 137 และ 133 ชนิด ตามลำดับ ส่วนในบริเวณขอบแปลงของแปลง EE นั้นมีจำนวนอันดับ วงศ์ และชนิด คือ 17, 59 และ 89 ตามลำดับ น้อยกว่าที่พบในแปลง EE และ CON (ภาพที่ 3)

ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ (H) และค่าดัชนีการกระจายตัว (EH) ของแมลง

ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายทางชีวภาพ และค่าดัชนีการกระจายตัวของแมลง จากการสำรวจแมลง โดยใช้สวิงโฉบ พบว่าในภาพรวมของแมลงและแมงมุมทั้งหมดมีค่าดัชนีความหลากหลายในแปลง EE, CON และ EEF เท่ากับ 2.61, 2.42 และ 2.45 ตามลำดับ และค่าดัชนีการกระจายตัวเท่ากับ 0.53, 0.49, และ 0.55 ตามลำดับ

ทั้งนี้ในส่วนแมลงศัตรูข้าวมีค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพเท่ากับ 1.04, 1.11 และ 1.53 ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการกระจายตัว 0.33, 0.33 และ 0.53 ตามลำดับ แมลงศัตรูธรรมชาติมีค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพเท่ากับ 2.96, 2.31 และ 2.99 ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการกระจายตัว 0.70, 0.53 และ 0.83 ตามลำดับ แมงมุมมีค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพเท่ากับ 0.98, 0.95 และ 0.77 ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการกระจายตัว 0.50, 0.59 และ 0.48 ตามลำดับ ในส่วนของแมลงอื่น ๆ มีค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพเท่ากับ 2.22, 0.77 และ 1.53 ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการกระจายตัว 0.61, 0.23 และ 0.46 ตามลำดับ โดยกลุ่มแมลงที่มีค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพและค่าดัชนีการกระจายตัวสูงที่สุดคือกลุ่มแมลงศัตรูธรรมชาติ (ตารางที่ 1)

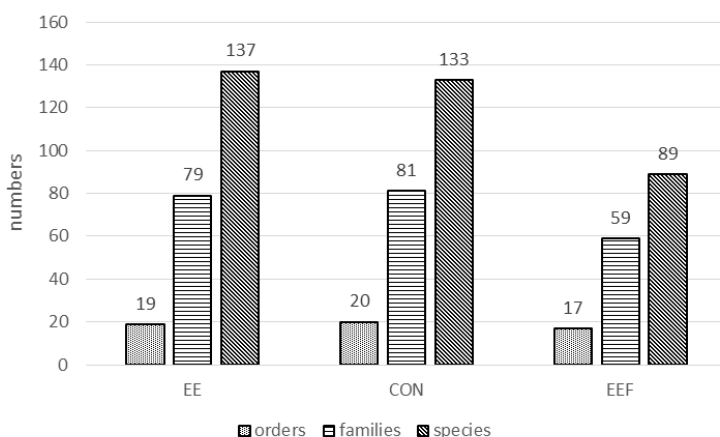


Figure 3. Taxonomic diversity of orders, families and species of insects and spiders in ecological engineer field (EE), control field (CON) and bund of ecological engineer field (EEF) by sweeping method

Table 1. Shannon-Wiener's biodiversity and evenness indices of rice insect pests, insect natural enemies, spider and other insects in ecological engineer field (EE), control field (CON) and bund of ecological engineer field (EEF) by sweeping method

Paddy field type	Rice insect pests		Insect natural enemies		Spiders		Other insects		Total	
	H	EH	H	EH	H	EH	H	EH	H	EH
EE	1.04	0.33	2.96	0.70	0.98	0.50	2.22	0.61	2.61	0.53
CON	1.11	0.33	2.31	0.53	0.95	0.59	0.77	0.23	2.42	0.49
EEF	1.53	0.53	2.99	0.83	0.77	0.48	1.53	0.46	2.45	0.55

Remarks: H = Shannon-Wiener's index

EH = Shannon-Wiener's evenness index

ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชนิดของแมลงศัตรูข้าว กับปัจจัยทางชีวภาพและปัจจัยทางกายภาพ

ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชนิดของแมลงศัตรูข้าวที่พบกับปัจจัยทางชีวภาพคือจำนวนชนิดของศัตรูธรรมชาติและปัจจัยทางกายภาพ คือ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน พบว่าในแปลงนาระบบนิเวศวิศวกรรม (EE) พบ จำนวนชนิดแมลงศัตรูข้าวมีความสัมพันธ์กับจำนวนชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติมากที่สุด ($R = 81.4$) ส่วนปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ มีความสัมพันธ์น้อยมาก เช่นเดียวกัน แปลงนาที่ไม่มีการจัดการ (CON) พบว่า จำนวนชนิดแมลงศัตรูข้าวมีความสัมพันธ์กับจำนวนชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติมากที่สุด ($R = 79.8$) ส่วนปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ มีความสัมพันธ์น้อยมาก ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนประชากรของแมลงศัตรูข้าวที่พบกับปัจจัยทางชีวภาพและปัจจัยทางกายภาพ มีความสัมพันธ์น้อยมาก

วิจารณ์

ผลการศึกษาสัดส่วนของแมลงกลุ่มต่าง ๆ พบว่าสัดส่วนจำนวนชนิดของศัตรูธรรมชาติ ในแปลง EE, CON และ EEF มีค่าสูงกว่าของแมลงศัตรูพืชถึง 2.94, 2.32 และ 2.05 เท่า ตามลำดับ ที่สำคัญคือในบริเวณรอบคันนาที่มีการปลูกพืชปอเทืองของแปลง EE มีสัดส่วนของจำนวนชนิดและปริมาณของแมลงอื่น ๆ สูงมาก ผลการศึกษาแสดงถึงบทบาทของการปลูกปอเทืองรอบ ๆ แปลงนามีผลสนับสนุนการเพิ่มขึ้นของแมลงชนิดอื่น ๆ และมีสัดส่วนจำนวนชนิดของแมลงศัตรูข้าวได้ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ จินตนา และคณะ (2555) ที่พบว่าการปลูกพืชบริเวณคันนาสามารถดึงดูด และเป็นที่อยู่อาศัยของแมลงต่าง ๆ ในระบบนิเวศนาข้าวได้ และเป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพที่จะเสริมการใช้ความหลากหลายทางชีวภาพได้

ผลการศึกษาความหลากหลายชนิดของแมลงและแมงมุม พบว่า ค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพของ Shannon-Wiener (Shannon-Wiener's index, H) แมลงและแมงมุมในแปลง EE มีค่าสูงกว่าแปลง CON และในทำนองเดียวกันกับค่าดัชนีการกระจายตัวของ

Shannon-Wiener (Shannon-Wiener's evenness index, EH) ซึ่งมีค่าการกระจายตัวไปในทิศทางเดียวกัน และเมื่อพิจารณาในรายกลุ่ม แปลง EE มีความหลากหลายของแมลงศัตรูธรรมชาติ แมงมุม และแมลงอื่น ๆ สูงกว่าแปลง CON มาก แต่ในขณะเดียวกัน ความหลากหลายของแมลงศัตรูข้าวในแปลง EE มีค่าต่ำกว่าแปลง CON สอดคล้องกับการศึกษาด้านความหลากหลายของแมลงศัตรูข้าวของ วิชัย และคณะ (2554), วีรยุทธ และคณะ (2558), Heong *et al.* (1991) และ Ooi and Shepard (1994)

ส่วนในบริเวณแปลงปอเทืองที่คันนาแปลง EE นั้น พบว่ามีค่าความหลากหลายทางชีวภาพของแมลงศัตรูข้าว แมลงศัตรูธรรมชาติ และแมลงอื่น ๆ ในระดับสูงเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งศัตรูธรรมชาติ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ จินตนา และคณะ (2555) และ Norela *et al.* (2013) โดยการปลูกพืชปอเทืองสามารถสนับสนุนการสร้างความหลากหลายทางชีวภาพให้เกิดขึ้นในระบบนิเวศแปลงนา และเป็นกลไกที่ส่งผลต่อกิจกรรมต่าง ๆ ของแมลงและแมงมุมให้มีความซับซ้อนมากขึ้น มีความสมดุลและเสถียรมากขึ้น

ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชนิดของแมลงศัตรูข้าวกับปัจจัยทางชีวภาพและปัจจัยทางกายภาพพบว่า ศัตรูธรรมชาติมีความสัมพันธ์กับจำนวนชนิดของแมลงศัตรูข้าวมากที่สุด ส่วนปัจจัยทางกายภาพเช่นปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิและความชื้นมีผลเกี่ยวข้องน้อยมาก ในขณะที่ความสัมพันธ์ของปริมาณแมลงศัตรูข้าวกับปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพนั้นมีน้อยมากเช่นกัน เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ วิชัย และคณะ (2554) และ วีรยุทธ และคณะ (2558)

สรุป

การศึกษาคความหลากหลายของแมลงและแมงมุมในนาข้าวระบบนิเวศวิศวกรรมในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ โดยทำการปรับปรุงคันนาแปลงนาขนาด 2 ไร่ ให้กว้างขึ้นเป็น 1 เมตรและปลูกปอเทืองบนคันนาโดยรอบ พบว่ามีผลต่อสัดส่วนของจำนวนชนิด และปริมาณของแมลงศัตรูข้าว ศัตรูธรรมชาติ แมงมุมและแมลงอื่น ๆ

สามารถดึงดูด และเป็นที่อยู่อาศัยของแมลงต่าง ๆ ในระบบนิเวศนาข้าวได้ส่งเสริมและสนับสนุนให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพในระดับที่สูงขึ้น และมีส่วนลดจำนวนชนิดของแมลงศัตรูข้าวได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัยในครั้งนี้ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร และกรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ และขอขอบคุณ คุณสำรวย พักขำ เกษตรกรพื้นที่ตำบลโคกหม้อ อำเภอชุมแสง จังหวัดนครสวรรค์ ที่ให้พื้นที่ทำการวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างสูง

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2555. ข้าวเตือนการระบาดของศัตรูพืชในนาข้าว. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.pmc02.doae.go.th/news/2016/11.10.59.pdf> (17 พฤศจิกายน 2559).

จินตนา ไชยวงศ์ วันทนา ศิริรัตนศักดิ์ และ สุกัญญา อรัญมิต. 2555. การใช้วิธีทางนิเวศวิศวกรรมเพิ่มความหลากหลายของอาร์โทรพอดในระบบนิเวศนาข้าว. หน้า 478-481. ใน: รายงานการประชุมวิชาการข้าวครั้งที่ 2 มิติใหม่วิจัยข้าวไทยพร้อมกับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศและการเปิดตลาดเสรีอาเซียน. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, กรุงเทพฯ.

ตะวัน ห่างสูงเนิน พงษ์ศักดิ์ อังกสิทธิ์ อารวรรณ์ โภกาสพัฒนกิจ และ รุจ ศิริสัญลักษณ์. 2557. ระบบเกษตรอินทรีย์ในบริบทของเศรษฐกิจพอเพียง: กรณีศึกษาเกษตรกรผู้ผลิตเกษตรอินทรีย์ในเขตลุ่มน้ำแรมริม จังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 30(1): 61-69.

ธวัช ปฏินันท์ และ เพชรหทัย ปฏินันท์. 2554. ศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติในภาคเหนือตอนล่างและภาคกลางตอนบน. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว, กรมการข้าว, กรุงเทพฯ. 303 หน้า.

นราศินี แก้วไหลมา สุรพล เศรษฐบุตร บุศรา ลัมนิรันดร์กุล และ ประทานทิพย์ กระมล. 2560. ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกร ตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 33(3): 387-395.

นาวัน สุขเลิศ จิราพร กุลสาริน ไสว บรูณพานิชพันธ์ และ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2559. ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบ๊องเต็นพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(2): 171-180.

ปณรสิ สุศิริรัตน์. 2559. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกวานหางจระเข้ในการควบคุมหนอนใบผัก. วารสารเกษตร 32(3): 369-378.

พหล ศักดิ์คะทัศน์ และ สุรัชย์ กังวล. 2559. การใช้วิธีวิเคราะห์การจัดกลุ่มหมู่บ้าน เพื่อส่งเสริมเกษตรอินทรีย์ในจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(2): 201-208.

พิสุทธิ เอกอานวย. 2553. โรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ. พิมพ์ครั้งที่ 3. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ. 592 หน้า.

พุดพัฒนา คุณะปัญญาดิกล ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์ และ เยว ลักษณ์ จันทรียง. 2560. ประสิทธิภาพของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการกำจัดมอดหนวดยาว (*Cryptolestes pusillus*) ในข้าวและสัณฐานวิทยาของไข่มอดหนวดยาว. วารสารเกษตร 33(3): 377-386.

วันทนา ศิริรัตนศักดิ์ จินตนา ไชยวงศ์ สุกัญญา อรัญมิต และ อรุณยานี บุญยประมุข. 2554. แมลง-สัตว์ศัตรูข้าวและการป้องกันกำจัด. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 198 หน้า.

- วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ จินตนา ไชยวงศ์ และ สุกัญญา เทพินดุง. 2553. แมลงศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติในนาข้าว: การประเมินและวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท วิช ครีเอชั่น (ประเทศไทย) จำกัด, กรุงเทพฯ. 78 หน้า.
- วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ เรวัต ภัทรสุทธิ นลินี เจียววรรณะ เพชรหทัย ปฏีรูปานุสร ถนอมจิตร ฤทธิมนตรี และ เพชร ช่างชิม. 2550. แมลงศัตรูข้าวและการป้องกันกำจัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 188 หน้า.
- วิชัย สรพงษ์ไพศาล สมชาย ธนสินชัยกุล วงศ์พันธ์ พรหมวงศ์ ฉัตรมณี วุฒิสาร และ ภราดร ดอกจันทร์. 2554. ความหลากหลายชนิดของแมลงศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติในนาข้าวอินทรีย์. วารสารเกษตร 27(1): 39-48.
- วิรุทธ สร้อยนาค วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สมชาย ธนสินชัยกุล วิชัย สรพงษ์ไพศาล และ คณิตา เกิดสุข. 2558. ความหลากหลายของแมลงและแมงมุมในนาข้าวเขตชลประทานจังหวัดพิษณุโลก. วารสารเกษตร 31(3): 281-290.
- ศุภกร วงศ์สุข เยาวลักษณ์ จันทราบง และ จิราพร กุลสาริน. 2560. ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียและก้านใบยาสูบในการควบคุมแมลงศัตรูผักบางชนิด. วารสารเกษตร 33(3): 367-376.
- สุภาวดี ขุนทองจันทร์. 2559. การเสริมสร้างศักยภาพของเกษตรกรในการผลิตพริกพื้นเมืองพันธุ์หัวเรือตามมาตรฐานเกษตรปลอดภัยในจังหวัดอุบลราชธานี. วารสารเกษตร 32(2): 209-221.
- อารยา บุญศักดิ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิช-พันธุ์ และ จิราพร กุลสาริน. 2558. การคัดเลือกเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin ที่มีศักยภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว. วารสารเกษตร 31(3): 291-299.
- Asahina, S. 1993. A list of Odonata from Thailand. Bosco Offset, Bangkok. 448 p.
- Begum, M., G.M. Gurr, S.D. Wratten and H.I. Nicol. 2004. Flower color affects tri-trophic-level biocontrol interactions. Biological Control 30: 584-590.
- Gurr, G.M. 2009. Prospects for ecological engineering for planthoppers and other arthropod pests in rice. pp. 371-388. In: K.L. Heong and B. Hardy (eds.). Planthoppers: New Threats to the Sustainability of Intensive Rice Production Systems in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños.
- Heong, K.L., G.B. Aquino and A.T. Barrion. 1991. Arthropod community structures of rice ecosystems in the Philippines. Bulletin of Entomological Research 81: 407-416.
- Heong, K.L. 2009. Are planthopper problems caused by a breakdown in ecosystem services? pp. 221-232. In: K.L. Heong and B. Hardy (eds.). Planthoppers: New Threats to the Sustainability of Intensive Rice Production Systems in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños.
- Heong, K.L. and K. Sogawa. 1994. Management strategies for insect pests of rice: Critical issues. pp. 3-14. In: P.S. Teng, K.L. Heong and K. Moody (eds.). Rice Pest Science and Management. International Rice Research Institute, Los Banos.
- Hutacharern, C., N. Tubtim and C. Dokmai. 2007. Checklists of Insects and Mites in Thailand. Department of Nation Parks, Wildlife and Plant Conservation, Bangkok. 319 p.
- Jervis, M.A., J.C. Lee and G.E. Heimpel. 2004. Use of behavioural and life history studies to understand the effects of habitat manipulation. pp. 65-100. In: G.M. Gurr, S.D. Wratten and M.A. Altieri (eds.). Ecological

-
- Engineering for Pest Management: Advances in Habitat Manipulation for Arthropods. CSIRO Publishing, Collingwood.
- Krebs, C.J. 1972. Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance. Harper and Row, New York. 694 p.
- Landis, D.A., S.D. Wratten and G.M. Gurr. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. Annual Review of Entomology 45: 175-201.
- Lu, Z.X. and K.L. Heong. 2009. Effects of nitrogen-enriched rice plants on ecological fitness of planthoppers. pp. 247-256. *In*: K.L. Heong and B. Hardy (eds.). Planthoppers: New Threats to the Sustainability of Intensive Rice Production Systems in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños.
- Lu, Z.X., P.Y. Zhu, G.M. Gurr, X.S. Zheng, D.M. Read, K.L. Heong, Y.J. Yang and H.X. Xu. 2014. Mechanisms for flowering plants to benefit arthropod natural enemies of insect pests: Prospects for enhanced use in agriculture. Insect Science 21(1): 1-12.
- Norela, S., I. Anizan, B.S. Ismail and A. Maimon. 2013. Diversity of pest and non-pest insects in an organic paddy field cultivated under the system of rice intensification (SRI): A case study in Lubok China, Melaka, Malaysia. Journal of Food, Agriculture & Environment 11(3&4): 2861-2865.
- Ooi, P.A.C. and B.M. Shepard. 1994. Predators and parasitoids of rice insect pests. pp. 585-612. *In*: E. A. Heinrichs (ed.). Biology and Management of rice Insects. Wiley Eastern Ltd., New Delhi.
- Ostman, O. 2004. The relative effects of natural enemy abundance and alternative prey abundance on aphid predation rates. Biological Control 30: 281-287.
- Peng, S., and B. Hardy. 2001. Rice Research for Food Security and Poverty Alleviation. International Rice Research Institute, Los Baños. 692 p.
- Rivero, A. and J. Casas. 1999. Incorporating physiology into parasitoid behavioral ecology: the allocation of nutritional resources. Researches on Population Ecology 41: 39-45.
- Savary, S., F. Horgan, L. Willocquet and K.L. Heong. 2012. A review of principles for sustainable pest management in rice. Crop Protection 32: 54-63.
- Shepard, B.M., A.T. Barrion and J.A. Litsinger. 1995. Rice-Feeding Insects of Tropical Asia. IRRI, Manila. 234 p.
- Van Driesche, R.G. and T.S. Bellows, Jr. 1996. Biological Control. Chapman and Hall, New York. 539 p.
- Wilson, E.O. 2000. Ants: Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. 248 p.
-

พฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรบ้านโพธิ์ประสาธ
ตำบลบ่อทอง อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก

Farmers' Behavior in Using Chemical Fertilizer at Ban Pho Prasat,
Bo Thong Subdistrict, Bang Rakam District, Phitsanulok Province

กัญชลี เจตียนนท์^{1*} ปิยนุภา เปลียนบางช้าง² ศักดิ์ชัย วิทยาอารีย์กุล³ วันวิสาข์ ปั่นศักดิ์¹
และ สุพรรณนิกา อินตะนันท์¹

Kanchalee Jetiyanon^{1*}, Pinyupa Plianbangchang², Sakchai Wittaya-areekul³, Wanwisa Punsak¹
and Suphannika Intanon¹

¹คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก 65000

¹Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

²80 ซอยสุขุมวิท 40 ถนนสุขุมวิท แขวงพระโขนง เขตคลองเตย กรุงเทพฯ 10110

²80 Soi Sukhumvit 40, Sukhumvit Road, Phra Kanong, Klong Toei, Bangkok 10110, Thailand

³คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก 65000

³Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

*Corresponding author: Email: kanchaleej@gmail.com หรือ kanchaleej@nu.ac.th

(Received: 10 October 2017; Accepted: 16 February 2018)

Abstract: Chemical fertilizers are among key production factors in modern day agricultural practice. Inappropriate use of such fertilizers in the long run negatively impacts the environment. The purposes of this cross-sectional descriptive study were to explore growers' fertilizer use patterns and their knowledge pertaining chemical fertilizers. The study was conducted in September 2016 in Ban Pho Prasat, Bo Thong subdistrict, Bang Rakam district, Phitsanulok province. Data were collected by means of structured face-to-face interviews on all consented farmers whose agriculture was the main or additional occupation. Five trained village health volunteers conducted the interview sessions. Seventy-four farmers from 74 households agreed to participate in this study. All of them reported using chemical fertilizers, and had been using the agents for long time. Farmers appeared to share the same fertilizer use pattern, mainly because they learned from their neighbors. Governmental agencies or academicians were rarely mentioned as their source of information. Factors relating to their decision to use chemical fertilizers were: product attributes such as ease of application; evidence attributes such as prior positive experience; cost attributes such as price of the fertilizers; and channel of distribution attributes such as availability of the product. Information and promotional activities were found to moderately, or less likely to, affect farmers' decision. Overall, farmers exhibited moderate knowledge pertaining to chemical fertilizers. Their knowledge on appropriate amount of fertilizers, however, was low. In addition, the vast majority of growers had never tried any other means of plant growth promoting product than chemical fertilizers. The findings warranted urgent measures from responsible authorities to increase farmers' knowledge and improve their chemical fertilizer use behavior.

Keywords: Chemical fertilizer, chemical fertilizer use behavior, knowledge about chemical fertilizer

บทคัดย่อ: ปุ๋ยเคมีเป็นปัจจัยการผลิตที่มีความสำคัญทางการเกษตร แต่เกษตรกรในปัจจุบันมีพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีมากเกินไปจนความจำเป็นและใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม การวิจัยเชิงพรรณนาภาคตัดขวางนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีและความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยเคมีของเกษตรกรบ้านโพธิ์ประสาท ตำบลบ่อทอง อำเภอบางระก่า จังหวัดพิษณุโลก เก็บข้อมูลในช่วงเดือนกันยายน พ.ศ. 2559 ด้วยแบบสัมภาษณ์แบบมีโครงสร้างโดยอาสาสมัครสาธารณสุขหมู่บ้านจำนวน 5 คน ที่ผ่านการอบรมแล้ว เก็บข้อมูลจากผู้ที่มีอาชีพหลัก และ/หรือ อาชีพเสริมทางเกษตรกรรมที่ยินดีให้ความร่วมมือในการวิจัย ผลการสำรวจพบว่า มีเกษตรกร 74 คน จาก 74 ครัวเรือนให้ความร่วมมือตอบแบบสัมภาษณ์ เกษตรกรทั้งหมดใช้ปุ๋ยเคมีทางการเกษตรมาเป็นระยะเวลานาน และมีพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีเหมือนกัน เนื่องจากได้รับข้อมูลข่าวสารจากเพื่อนบ้าน แหล่งข้อมูลข่าวสารจากทางราชการได้รับการกล่าวถึงน้อย ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการตัดสินใจใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกร คือ ปัจจัยด้านผลิตภัณฑ์ เช่น ความสะดวกในการใช้ ปัจจัยด้านหลักฐานเชิงประจักษ์ เช่น ประสบการณ์ตรงที่เคยใช้แล้วได้ผลดี ปัจจัยด้านต้นทุน เช่น ราคาปุ๋ย และปัจจัยด้านช่องทางจัดจำหน่าย เช่น หาซื้อได้ง่าย ส่วนปัจจัยด้านข้อมูลข่าวสารและการส่งเสริมการตลาดมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจของเกษตรกรเพียงปานกลางถึงน้อย ในภาพรวม เกษตรกรมีความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยเคมีในระดับปานกลาง แต่มีความรู้เกี่ยวกับปริมาณที่เหมาะสมของปุ๋ยเคมีอยู่ในระดับต่ำ นอกจากนี้ เกษตรกรเกือบทั้งหมดยังคงไม่มีประสบการณ์ในการใช้ผลิตภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอื่น ๆ นอกจากปุ๋ยเคมี ผลการวิจัยครั้งนี้ชี้ให้เห็นความจำเป็นเร่งด่วนในการปรับกลยุทธ์ของหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรมีความรู้และพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีที่เหมาะสม

คำสำคัญ: ปุ๋ยเคมี พฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมี ความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยเคมี

คำนำ

ประเทศไทยมีการเกษตรเป็นอาชีพหลักมาเป็นเวลาช้านาน พื้นที่เกือบครึ่งหนึ่งของประเทศจัดเป็นพื้นที่ใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ข้าวจัดเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญของประเทศไทย ใน พ.ศ. 2555/56 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 79 ล้านไร่ เพิ่มขึ้นจาก พ.ศ. 2550/51 ร้อยละ 12.7 ส่วนใหญ่ปลูกข้าวนาปี (ชาญพิทยา, 2559) เมื่อ พ.ศ. 2556 ประเทศไทยผลิตข้าวได้เป็นลำดับที่ 6 ของโลก รองจากจีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ และเวียดนาม และส่งออกข้าวเป็นลำดับที่ 2 รองจากอินเดีย (มูลนิธิเกษตรกรรมยั่งยืน, 2559)

ในการเกษตรเพื่ออุตสาหกรรม เกษตรกรมีแรงจูงใจในการเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ให้มากที่สุดและให้มีคุณภาพดีที่สุด เป็นที่รู้กันดีว่า สารอาหารสำหรับพืชเป็นปัจจัยสำคัญที่จะควบคุมให้ผลผลิตมีปริมาณและคุณภาพตามที่ต้องการ ในพื้นที่ที่ทำการเพาะปลูกต่อเนื่องเป็นเวลานาน ความอุดมสมบูรณ์ของแร่ธาตุในดินมักมีน้อย

ดังนั้นเกษตรกรจึงมีแนวโน้มที่จะใส่แร่ธาตุลงไปในดินเป็นลำดับแรก (Savci, 2012) แต่น่าเสียดายว่า ประเทศไทยยังไม่สามารถผลิตปุ๋ยเคมีได้อย่างเพียงพอกับความต้องการ จึงต้องพึ่งพาการนำเข้าแม่ปุ๋ยจากต่างประเทศ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2558) แม่ปุ๋ยที่นำเข้า ได้แก่ แม่ปุ๋ยไนโตรเจนจากประเทศซาอุดีอาระเบีย และสหรัฐอเมริกา แม่ปุ๋ยฟอสฟอรัสนำเข้าจากหลายประเทศ และแม่ปุ๋ยโปแตสเซียมนำเข้าจากแคนาดาและเยอรมนี ปุ๋ยที่เกษตรกรนิยมใช้ในการเพาะปลูกมักเป็นแบบที่มีธาตุอาหารที่พืชมีความต้องการสูง พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที สะดวกต่อการใช้งาน และให้ผลรวดเร็ว ความต้องการใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรในแต่ละปีมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559ก)

ปุ๋ยเคมีมีประโยชน์มาก แต่การใช้อย่างต่อเนื่องในปริมาณมากเป็นระยะเวลานานส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ปุ๋ยเคมีทำให้ดินแข็งกระด้างและขาดความอุดมสมบูรณ์ ส่งผลกระทบต่อปริมาณและความ

หลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน เกิดการสะสมของโลหะหนัก และการสะสมของไนเตรต นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดก๊าซไนโตรเจนและซัลเฟอร์ในอากาศ ส่งผลให้เกิดภาวะเรือนกระจก (Geisseler and Scow, 2014; Hossain and Singh, 2000; Savci, 2012; Uddin and Kurosawa, 2011)

พิษณุโลกเป็นจังหวัดในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย มีพื้นที่ประมาณ 6.7 ล้านไร่ ประมาณร้อยละ 30 เป็นพื้นที่นา (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) บ้านโพธิ์ประสาท เป็นหมู่บ้านในตำบลบ่อทอง อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก มีอาณาเขตอยู่ในพื้นที่ตำบลบ่อทอง ยกเว้นทิศตะวันออกติดกับบ้านหนองแขม ตำบลปลักแรด บ้านโพธิ์ประสาทเป็นหมู่บ้านขนาดใหญ่ มีคลองขำบ้านไหลผ่านหมู่บ้าน ลักษณะการตั้งบ้านเรือนส่วนใหญ่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม มีบ้านหนาแน่นเป็นจุด ๆ และบางจุดก็กระจาย ตั้งบ้านเรือนไม่เป็นระเบียบมากนัก มีตรอกซอยเข้าถึงบ้านเรือนเกือบทุกหลังคาเรือน และมีการตั้งแยกออกไปตามแนวทุ่งนา ด้านหลังหมู่บ้านมีทุ่งนาล้อมรอบ ณ วันที่ 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2559 บ้านโพธิ์ประสาทมีครัวเรือนทั้งหมด 190 ครัวเรือน มีประชากรทั้งสิ้น 611 คน แบ่งเป็นเพศชาย 321 คน เพศหญิง 290 คน ประชากรเป็นชาวไทย นับถือศาสนาพุทธ อาชีพหลักคือ เกษตรกรรม

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีและความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยเคมีของเกษตรกรบ้านโพธิ์ประสาท ตำบลบ่อทอง อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก ผลการสำรวจเป็นประโยชน์ต่อที่วิจัยในการทำความเข้าใจพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรในพื้นที่ อันจะนำไปสู่การแสวงหามาตรการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ถูกต้อง เหมาะสม และปลอดภัยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิจัยเชิงพรรณนาภาคตัดขวางนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยเรื่อง “การใช้ผลิตภัณฑ์ไรโซสายพันธุ์อาร์เอส 87 สำหรับเพิ่มผลผลิตข้าวในสภาพแปลงปลูก ลดความเครียดของพืชที่เกิดจากสภาวะภัยแล้ง และพัฒนาผลิตภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตที่เป็นมิตรต่อ

สิ่งแวดล้อมสำหรับพืชกระถาง” แนวปฏิบัติของการวิจัยได้รับการรับรองเชิงจริยธรรมจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เมื่อวันที่ 25 พฤษภาคม พ.ศ. 2559 ประชากรศึกษา คือ เกษตรกรในพื้นที่บ้านโพธิ์ประสาท ตำบลบ่อทอง อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก เครื่องมือวิจัย คือ แบบสัมภาษณ์แบบมีโครงสร้าง สร้างจากการทบทวนวรรณกรรม แบบสัมภาษณ์แบ่งเป็น 4 ตอน ตอนแรกสอบถามข้อมูลทั่วไป ตอนที่สองเป็นแบบทดสอบความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยเคมีจำนวน 14 ข้อ คะแนนรวม 14 คะแนน ลักษณะคำถามเป็นแบบเลือกตอบ 3 ตัวเลือก คือ ใช่ ไม่ใช่ และไม่แน่ใจ ตอบถูกต้องได้ 1 คะแนน ตอบผิดหรือตอบว่าไม่แน่ใจได้ 0 คะแนน แบ่งระดับความรู้ตามเกณฑ์ของ Anderson and Krathwohl (2001) ดังนี้ ได้คะแนนมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 80 หมายถึง มีความรู้ระดับสูง ได้คะแนนระหว่างร้อยละ 60 ถึง 79 หมายถึง มีความรู้ปานกลาง และได้คะแนนต่ำกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 60 หมายถึง มีความรู้ระดับต่ำ ตอนที่สามสอบถามพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมี เป็นคำถามปลายเปิดร่วมกับปลายปิด ตอนสุดท้ายสอบถามปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ปุ๋ยเคมีจำนวน 12 ข้อ แบบเลือกตอบ 4 ตัวเลือก คือ มาก ปานกลาง น้อย และไม่มีเลย เครื่องมือวิจัยผ่านการประเมินความเที่ยงตรงเชิงประจักษ์ (face validity) จากผู้เชี่ยวชาญด้านพฤติกรรมศาสตร์ การส่งเสริมการเกษตร และเศรษฐศาสตร์การเกษตร รวม 3 ท่าน ดำเนินการสัมภาษณ์โดยอาสาสมัครสาธารณสุขหมู่บ้านจำนวน 5 คน ที่ผ่านการอบรมแนวทางการเก็บข้อมูลแล้ว เก็บข้อมูลในเดือนกันยายน 2559 จากตัวแทนทุกครัวเรือนที่มีอาชีพหลักและ/หรือ อาชีพเสริมด้านเกษตรกรรม และยินยอมให้ความร่วมมือในการวิจัย วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา

ผลการศึกษา

1. ข้อมูลทั่วไปของเกษตรกร

มีเกษตรกรให้ความร่วมมือในการตอบแบบสัมภาษณ์ทั้งสิ้น 74 คนจาก 74 ครัวเรือน คิดเป็นร้อยละ 39 ของครัวเรือนทั้งหมดในพื้นที่ ประมาณสองในสาม

(ร้อยละ 69) ของเกษตรกรที่ให้ข้อมูลเป็นเพศชาย อายุเฉลี่ย 49.4 ± 9.6 ปี เกือบทั้งหมด (ร้อยละ 90) มีสถานภาพสมรส เกือบครึ่งหนึ่ง (ร้อยละ 49) จบการศึกษาระดับประถมศึกษาปีที่ 4 เกษตรกรร้อยละ 84 มีสมาชิกในครัวเรือน 4 คน (สูงสุด 8 และต่ำสุด 1 คน) โดยส่วนใหญ่ (ร้อยละ 81) อาศัยอยู่กับสามี ภรรยา และบุตรหลาน เกษตรกรที่สำรวจทุกคนมีอาชีพหลัก คือ เกษตรกรรม โดยครึ่งหนึ่งทำการเกษตรเป็นอาชีพมา 25 ปี ($IQ1 = 20$, $IQ3 = 30$ ปี) ทั้งหมดประกอบอาชีพเกษตรกรรมมาตั้งแต่รุ่นปู่ย่าตายาย

เกษตรกรที่สำรวจส่วนใหญ่ (ร้อยละ 84) ปลูกพืชชนิดเดียว โดย 71 ราย (ร้อยละ 96) ปลูกข้าวเป็นหลัก และอีก 3 รายปลูกมันสำปะหลัง ข้าวโพด และอ้อย เป็นพืชหลัก พืชเสริมที่เกษตรกรปลูก ได้แก่ มันสำปะหลัง อ้อย ถั่วเขียว ข้าวโพด ผัก และถั่วเหลือง เกษตรกรมีอาชีพเสริมที่หลากหลาย การรับจ้างทั่วไปเป็นอาชีพเสริมที่พบมากที่สุด (ร้อยละ 26) อาชีพเสริมอื่นๆ ได้แก่ รับจ้างในภาคการเกษตร ก่อสร้าง ค้าขาย และทำเกษตรกรรมอื่น คือ เลี้ยงปลา เลี้ยงไก่ และเลี้ยงกบ

รายได้เฉลี่ยต่อปีของครัวเรือนของเกษตรกรที่สำรวจเท่ากับ $179,459.5 \pm 99,407.7$ บาทต่อปี แบ่งเป็นรายได้จากอาชีพหลัก (เกษตรกรรม) $154,459.5 \pm 91,851.5$ บาท และรายได้จากอาชีพเสริม $45,388.9 \pm 28,107.2$ บาท ค่าใช้จ่ายเพื่อการอุปโภคบริโภคของครัวเรือนเฉลี่ย $7,163.6 \pm 5,713.6$ บาทต่อเดือน

ในรอบปีที่ผ่านมามีครัวเรือนของเกษตรกรที่สำรวจจำนวนมาก (ร้อยละ 77) กู้ยืมเงินจาก ธกส. เพื่อทำการเกษตร โดยเสียดอกเบี้ยเฉลี่ยร้อยละ 7.6 ± 1.3 ต่อปี รองลงมา คือ ใช้เงินทุนของตัวเอง (ร้อยละ 36) นอกจากนี้ กู้ยืมจากญาติพี่น้อง (ร้อยละ 7) สหกรณ์การเกษตร (ร้อยละ 4) และกู้ธนาคาร (ร้อยละ 1)

2. พฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมี

เกษตรกรที่สำรวจทุกคนมีการใช้ปุ๋ยเคมีทางการเกษตร และเริ่มใช้ปุ๋ยเคมีพร้อมกับที่เริ่มทำการเกษตร โดยเกษตรกรผู้ให้ข้อมูลเกือบทั้งหมดเป็นผู้ตัดสินใจซื้อปุ๋ยเคมีเข้าบ้านเอง (ร้อยละ 95) ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 78) ซื้อปุ๋ยจากร้านค้าปลีกในพื้นที่ นอกนั้นซื้อจากตัวแทนบริษัท

ขายปุ๋ยโดยตรง (ร้อยละ 18) และสหกรณ์การเกษตร (ร้อยละ 13) เกษตรกรทั้งหมดซื้อปุ๋ย 1-2 ครั้งต่อปี โดยเฉลี่ยครั้งละ $1,131 \pm 542.1$ กิโลกรัม วิธีการชำระเงินค่าปุ๋ยเคมีนิยมสองวิธี คือ เงินเชื่อ (ร้อยละ 78) และเงินสด (ร้อยละ 59) เกษตรกรส่วนมากเก็บปุ๋ยที่ซื้อมาแล้วไว้ที่ใดถุนบ้าน (ร้อยละ 86) มีเพียงส่วนน้อยที่เก็บไว้ในที่แยกเก็บเฉพาะห่างจากตัวบ้าน (ร้อยละ 11) และเก็บไว้ที่ห้างนา (ร้อยละ 3)

เกษตรกรส่วนใหญ่มีแบบแผนการใช้ปุ๋ยเคมีในการเพาะปลูกข้าวคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ มักใช้ปุ๋ยสองสูตรร่วมกันในการเพาะปลูก ปุ๋ยที่พบใช้เป็นหลัก คือ สูตร 46-0-0 ใส่ 1-2 ครั้งต่อฤดูกาลในช่วงข้าวอายุ 1-2 เดือน และ/หรือ ออกดอก ปุ๋ยเคมีที่นิยมใช้ร่วมกับ 46-0-0 คือ สูตร 16-20-0 ในช่วงข้าวอายุ 1-2 เดือนหรือช่วงแรกและช่วงท้ายของฤดูกาล และสูตร 30-0-0 ในช่วงข้าวเป็นต้นอ่อนและช่วงข้าวออกดอก ปุ๋ยอื่นๆ ที่พบใช้ประปรายมีความหลากหลาย อาทิ 15-15-15, 0-0-60, 21-0-0, 36-0-0, 13-13-21, 18-8-8 และ 16-8-8 โดยทั้งหมดพบใช้ร่วมกับปุ๋ยสูตร 46-0-0 เกษตรกรทุกรายใช้การหว่านปุ๋ย

เกษตรกรผู้เพาะปลูกมันสำปะหลังทุกรายใช้ปุ๋ยเคมีสองชนิดร่วมกัน คือ 16-20-0 ใส่ 1 ครั้งตอนพืชเป็นต้นอ่อน และ 15-15-15 ใส่ 2 ครั้งในช่วงที่พืชอายุระหว่าง 4-10 เดือน โดยโรยรอบต้น

เกษตรกรผู้เพาะปลูกข้าวโพดในการสำรวจครั้งนี้ มีเพียง 1 ราย ใช้ปุ๋ยสองสูตรร่วมกัน คือ 46-0-0 และ 16-20-0 โดยใส่ปุ๋ยทั้งสองชนิด 2 ครั้งต่อฤดูกาล ในช่วงข้าวโพดอายุ 1-2 เดือน โดยโรยรอบต้น

เกษตรกรผู้ปลูกอ้อย 1 รายรายงานว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงชนิดเดียว คือ 46-0-0 ใส่ 2 ครั้งต่อฤดูกาล ในช่วงพืชอายุระหว่าง 4-8 เดือน โดยโรยรอบต้น

นอกจากปุ๋ยเคมีแล้ว เกษตรกรส่วนใหญ่ไม่ได้ใช้ปุ๋ยอื่น ๆ (62 ราย, ร้อยละ 83.8) มีเพียงส่วนน้อยที่รายงานว่าการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ที่ซื้อจากร้านค้า (6 ราย, ร้อยละ 8.1) ปุ๋ยหมักเอง (4 ราย, ร้อยละ 5.4) และปุ๋ยขี้ค้างคาว (2 ราย, ร้อยละ 2.7)

3. ความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยเคมี

เกษตรกรได้คะแนนรวมเฉลี่ย 9.4 ± 1.6 จากคะแนนเต็ม 14 คะแนน คิดเป็นร้อยละ 78 (ช่วงคะแนน 5-

วิจารณ์

12) เมื่อพิจารณารายมิติพบว่า เกษตรกรได้คะแนนเฉลี่ยในมิติ “ชนิดของปุ๋ยเคมี” สูงที่สุด (4.2 ± 0.9 จาก 5 คิดเป็นร้อยละ 84) รองลงมา คือ “ระยะเวลาการให้ปุ๋ยเคมี” (ค่าเฉลี่ย 1.9 ± 0.8 จาก 3 คิดเป็นร้อยละ 63) และ “ปริมาณปุ๋ยเคมีที่เหมาะสม” (ค่าเฉลี่ย 2.2 ± 0.6 จาก 4 คิดเป็นร้อยละ 55) มิติที่เกษตรกรได้คะแนนต่ำสุด คือ “ตำแหน่งให้ปุ๋ย” (ค่าเฉลี่ย 0.9 ± 0.4 จาก 2 คิดเป็นร้อยละ 45)

เมื่อพิจารณารายข้อ เกษตรกรมากกว่าครึ่งหนึ่งสามารถตอบคำถามส่วนใหญ่ได้ถูกต้อง สำหรับข้อคำถามที่มีผู้ตอบถูกน้อย ได้แก่ “ไม่ว่าจะใส่ปุ๋ยด้วยวิธีใดให้กับพืชชนิดไหนก็ตาม พืชจะได้รับปุ๋ยและมีการเจริญเติบโตเหมือนกัน” (ตอบถูก 9 ราย, ร้อยละ 12.2) “พืชสามารถดูดซึมปุ๋ยที่เราใส่ลงไปในดินได้ทั้งหมด” (ตอบถูก 12 ราย, ร้อยละ 16.2) และ “การใส่ปุ๋ยให้กับพืชมากเกินไป ไม่มีผลร้ายอะไรต่อพืช แต่เป็นการสิ้นเปลืองเท่านั้น” (ตอบถูก 17 ราย, ร้อยละ 23) (ตารางที่ 1)

4. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการตัดสินใจใช้ปุ๋ยเคมี

การพูดคุยแลกเปลี่ยนกับเพื่อนบ้าน เป็นแหล่งข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับปุ๋ยเคมีที่สำคัญที่สุดสำหรับเกษตรกรในพื้นที่ รองลงมา ได้แก่ สื่อต่าง ๆ ผู้แทนจากบริษัทปุ๋ยเคมี หน่วยงานราชการ และผู้นำชุมชนตามลำดับ (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาปัจจัยที่ส่งผลต่อการตัดสินใจเลือกใช้ปุ๋ยเคมีพบว่า ปัจจัยด้านผลิตภัณฑ์ ต้นทุน ช่องทางการจัดจำหน่าย และหลักฐานเชิงประจักษ์ เช่น เห็นเพื่อนบ้านใช้แล้วได้ผลจริง มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจของเกษตรกรในระดับมาก ส่วนปัจจัยด้านข้อมูลข่าวสารและการส่งเสริมการตลาดมีอิทธิพลเพียงปานกลางถึงน้อยเท่านั้น ปัจจัยที่มีผู้เห็นว่าสำคัญมากในลำดับแรก ได้แก่ ความสะดวกในการหาซื้อ การใช้และการเก็บปุ๋ย รองลงมา คือ ประสิทธิภาพของปุ๋ยเคมี ไม่ว่าจะเป็นด้วยประสิทธิภาพโดยตรงหรือได้รับฟังจากเพื่อนบ้านก็ตาม การส่งเสริมการตลาดของบริษัท ไม่ว่าจะเป็นโฆษณาทางสื่อหรือการจัดรายการต่าง ๆ รวมทั้งคำแนะนำของบุคคลอื่นที่ไม่ใช่เพื่อนบ้าน มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจของเกษตรกรไม่มากนัก (ตารางที่ 3)

การสำรวจพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีครั้งนี้ พบอัตราการใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรในระดับสูงและใช้ติดต่อกันมาเป็นเวลานาน เกษตรกรมีพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีตามประสบการณ์และคำแนะนำของเพื่อนบ้าน ในภาพรวม เกษตรกรมีความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยเคมีอยู่ในระดับปานกลาง แต่มีความรู้เกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างเหมาะสมทั้งชนิด วิธี และปริมาณที่เหมาะสมน้อยมาก ความรู้ที่ไม่ถูกต้องนี้ส่งผลให้เกษตรกรมีพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยไม่ถูกต้อง เช่น ใช้มากหรือน้อยเกินความจำเป็นเพราะไม่ทราบถึงผลเสียที่ตามมา โดยเฉพาะการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ แหล่งข้อมูลข่าวสารที่สำคัญของเกษตรกร คือ เพื่อนบ้าน แหล่งข้อมูลของทางราชการต่าง ๆ รวมทั้งผู้นำชุมชนมีความสำคัญในลำดับรอง ข้อค้นพบนี้คล้ายคลึงกับการวิจัยที่ผ่านมาที่ว่า เกษตรกรมักพึ่งพาข้อมูลเกี่ยวกับปุ๋ยเคมีจากแหล่งที่ไม่เป็นทางการ เช่น เพื่อนบ้าน ซึ่งอาจไม่น่าเชื่อถือ และอาจมีผลประโยชน์ทับซ้อน (กัญชลี และคณะ, 2558) ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรแสวงหาแนวทางการเข้าถึงเกษตรกรกลุ่มเป้าหมาย เพื่อสามารถถ่ายทอดความรู้และแนวปฏิบัติในการใช้ปุ๋ยเคมีที่ถูกต้องและเหมาะสม ด้วยกลวิธีที่เป็นที่ยอมรับในหมู่เกษตรกรต่อไป ทั้งนี้อาจประยุกต์แนวทางการตลาดเชิงสังคม (social marketing) (Maibach, 1993) ที่เคยมีการนำมาใช้และประสบความสำเร็จในการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของเกษตรกรในประเทศไทย (บุษบง และคณะ, 2549)

ผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับการวิจัยที่ผ่านมาหลายชิ้นว่า ปัจจัยด้านผลิตภัณฑ์ที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจเลือกซื้อปุ๋ยเคมีของเกษตรกรมากที่สุด ในขณะที่ปัจจัยด้านการส่งเสริมการตลาดมีอิทธิพลน้อยเมื่อเทียบกับปัจจัยอื่น (ปัทมา และคณะ, 2556) แสดงให้เห็นว่าปุ๋ยเคมีเป็นสินค้าจำเป็น มีความยืดหยุ่นของอุปสงค์ต่อราคาต่ำ ไม่ว่าสินค้าจะมีราคาแพงสักเท่าใด เกษตรกรก็มีความจำเป็นต้องซื้อหามาใช้ ปุ๋ยเคมีเป็นสินค้าที่รัฐบาลไทยไม่ควบคุม ผู้ขายสามารถตั้งราคาได้อย่างอิสระ ส่งผลให้ต้นทุนทางการเกษตรของไทยสูงกว่าเพื่อนบ้านในกลุ่มอาเซียนอย่างเห็นได้ชัด และ 1 ใน 3 ของต้นทุนนี้เป็น

Table 1. Knowledge pertaining to chemical fertilizers

Question	Number of respondents with correct answer (%)
Type of chemical fertilizers (Total 5 points; average 4.2 ± 0.9 ; range 2-5)	
1. Growers should select particular fertilizer formula according to type of soils. True or false?	69 (93.2)
2. The main three numbers shown in fertilizer formula mean nitrogen, phosphorus and potassium, respectively. True or false?	56 (75.7)
3. Growers may obtain information about soil constituents by sending soil samples to governmental laboratories for soil analysis. True or false?	69 (93.2)
4. For rice crops, we should use only 60-0-0 formula. True or false?	65 (87.8)
5. For fruit crops, we should use only 15-15-15 or 16-16-16 formula. True or false?	54 (73.0)
Appropriate amount of chemical fertilizers (Total 4 points; mean 2.2 ± 0.6 ; range 0-4)	
1. Plants can assimilate all fertilizer when applied to soil. True or false?	12 (16.2)
2. Growers should always follow company instructions when using chemical fertilizers. True or false?	65 (87.8)
3. Too much fertilizer application will not harm plants. The only disadvantage would be a waste of money. True or false?	17 (23.0)
4. Applying fertilizer sporadically in appropriate amount is better than using large amount once. True or false?	66 (89.2)
Timing of fertilizer application (Total 3 points; mean 1.9 ± 0.8 ; range 0-2)	
1. Fertilizer with high nitrogen formula should be used during flowering and fruit settling or near the time of harvesting. True or false?	35 (47.3)
2. Plants need fertilizer the most during seed germination. True or false?	40 (54.0)
3. Rice needs fertilizer the most during panicle initiation and development. True or false?	68 (91.9)
Fertilizer application site (Total 2 points; mean 0.9 ± 0.4 ; range 0-2)	
1. Fertilizer application by means of sowing, sprinkling in rows, or embedding around plant base depends on types of plants. True or false?	72 (97.3)
2. Any application method (sowing, embedding, etc.) makes no difference in terms of plant assimilation and plant growth. True or false?	9 (12.2)

Table 2. Sources of chemical fertilizer information

Source of information	Time mentioned (%)*
Neighbors	59 (50.0)
Radio, television, newspaper	22 (18.6)
Chemical fertilizer sales representatives	18 (15.2)
Governmental agencies and state enterprises	11 (9.3)
Community leaders	8 (6.8)

Note: * Multiple responses

Table 3. Factors relating to decision to use chemical fertilizer

Factor	Number (%)			
	High	Moderate	Low	No relation
Product				
Convenience of storage	62 (83.8)	12 (16.2)	0 (0)	0 (0)
Convenience of use	60 (81.0)	13 (17.6)	1 (1.4)	0 (0)
Appropriate package size	50 (67.6)	18 (24.3)	4 (5.4)	2 (2.7)
Information and promotional activities				
Suggestions from community leaders	6 (8.1)	42 (56.7)	23 (31.1)	3 (4.0)
Information from agricultural extension officers/academicians	5 (6.7)	33 (44.6)	33 (44.6)	3 (4.0)
Mass media advertisement such as radio, television, newspaper, etc.	20 (27.0)	31 (41.9)	22 (29.7)	1 (1.4)
Promotional activities from fertilizer companies such as complimentary vacation, prize drawing, etc.	1 (1.4)	3 (4.0)	19 (25.0)	51 (69.0)
Cost				
Safety to the growers	57 (77.0)	17 (23.0)	0 (0)	0 (0)
Price of fertilizer	50 (67.6)	20 (27.0)	2 (2.7)	2 (2.7)
Possibility of using credit	48 (64.9)	19 (25.7)	4 (5.4)	3 (4.0)
Distribution Channel				
Availability of product	59 (79.7)	11 (14.9)	3 (4.0)	1 (1.4)
Evidence				
Previous positive experience on product efficacy	57 (77.0)	17 (23.0)	0 (0)	0 (0)
Indirect experience from neighbors/suggestions by neighbors	57 (77.0)	14 (18.9)	2 (2.7)	1 (1.4)
Credibility of fertilizer brand/company	47 (63.5)	24 (32.4)	2 (2.7)	1 (1.4)

ค่าปุ๋ยเคมี (มูลนิธิเกษตรกรรมยั่งยืน, 2559) ดังนั้น แนวทางการลดต้นทุนการผลิต นอกเหนือจากการส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ผลิตภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชแบบอื่น ๆ ที่มีราคาถูกและเกษตรกรสามารถจัดหาได้เองในชุมชนโดยไม่ต้องพึ่งพาการนำเข้าจากต่างประเทศแล้ว การพิจารณากลไกควบคุมราคาปุ๋ยของรัฐบาลอย่างเป็นทางการ ยังเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนในการทำการเกษตรลง และสามารถแข่งขันในตลาดต่างประเทศได้มากขึ้น

เกษตรกรในพื้นที่โพธิ์ประทับช้างยังคงพึ่งพาปุ๋ยเคมีเป็นหลัก ไม่มีประสบการณ์การใช้ปุ๋ยชีวภาพหรือปุ๋ยอินทรีย์เป็นทางเลือกในการเกษตรกรรม แสดงให้เห็นว่า เกษตรกรยังขาดความตระหนักคู่ต่อนวัตกรรมที่เป็นทางเลือกนี้ (นราศิณี และคณะ, 2560) ตามทฤษฎีการแพร่กระจายนวัตกรรม (Rogers, 2003) กระบวนการสร้างการยอมรับและนำนวัตกรรมไปใช้ในชุมชนหนึ่ง ๆ ประกอบไปด้วย 5 ขั้นตอน ขั้นตอนที่เหมาะสมสำหรับแนะนำนวัตกรรมเข้าสู่กลุ่มเป้าหมายนี้ คือ การให้ความรู้เพื่อสร้างความตระหนักของเกษตรกรต่อนวัตกรรม ผลการสำรวจแสดงให้เห็นว่า เครือข่ายทางสังคม คือ เพื่อนบ้าน เป็นเครือข่ายทางสังคม และการได้เห็นประสิทธิภาพของนวัตกรรมจากประสบการณ์ตรงของตนเอง มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจของเกษตรกร

สรุป

เกษตรกรบ้านโพธิ์ประทับช้างมีการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อการเกษตรทุกครัวเรือน โดยส่วนมากซื้อจากร้านค้าปลีกในหมู่บ้าน เกษตรกรมีแบบแผนการใช้ปุ๋ยเคมีคล้ายคลึงกัน เนื่องจากมีเพื่อนบ้านเป็นแหล่งข้อมูลข่าวสารหลักเกี่ยวกับปุ๋ยเคมี เกษตรกรกลุ่มนี้เกือบทั้งหมดไม่เคยมีประสบการณ์การใช้ผลิตภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชแบบอื่นนอกเหนือจากสารเคมี ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจใช้ปุ๋ยเคมี คือ ปัจจัยด้านผลิตภัณฑ์ หลักฐานเชิงประจักษ์ ต้นทุน และช่องทางการจำหน่าย ในภาพรวม เกษตรกรมีความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยเคมีในระดับปานกลาง แต่มีความรู้ด้านปริมาณการใช้ปุ๋ยที่เหมาะสมต่ำ

ข้อเสนอแนะ

ดังนั้น แนวทางการให้ความรู้ควรกระทำในลักษณะกลุ่มเรียนรู้ร่วมกัน โดยอาศัยทฤษฎีการเรียนรู้สำหรับผู้ใหญ่ (andragogy) (Knowles, 1948) ผสมผสานกับการจัดทำแปลงสาธิตโดยเกษตรกรที่สมัครใจ เมื่อเกษตรกรได้พิสูจน์ประสิทธิภาพของนวัตกรรมด้วยตนเอง ร่วมกับได้รับความรู้พร้อม ๆ กับเพื่อนบ้าน จะทำให้เกิดความตระหนักในนวัตกรรม อันจะนำไปสู่ขั้นตอนต่อไปของการแพร่กระจายนวัตกรรม คือ เกิดแรงจูงใจ เกิดการตัดสินใจทดลองใช้ จนกระทั่งเกิดการยอมรับนวัตกรรมนั้นในที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายเกษตร (สัญญารับทุนเลขที่ RDG5920040) ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กัญชลี เจติยานนท์ ภิญญภา เปลี่ยนบางช้าง ศักดิ์ชัย วิทยาอารีย์กุล และ อรรถนัฏ โลหิตินาวี. 2558. การใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรบ้านปลวกงาม ตำบลชมพู อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 32(1): 28-38.
- ชาญพิทยา ฉิมพาลี. 2559. สถิติและแนวโน้มพื้นที่ปลูกข้าวของประเทศไทย. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.thairice.org/doc_dl/seminar-29Oct13/3-powerpoint (K.Chanpitaya).pdf (27 ตุลาคม 2559).
- นราศิณี แก้วไหลมา สุรพล เศรษฐบุตร บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล และ ประทานทิพย์ กระมล. 2560. ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกร ตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 33(3): 387-395.

- บุษบง เจริญพานนท์ ปิยะพร หวังรุ่งทรัพย์ ศรีสุชา เชาว์-พร้อม ธวัช กันตระศรี อนุ บัวเพ็ญกลิ่น และ เจริญพงษ์ ชูหนูช. 2549. ประสิทธิภาพการนำกระบวนการตลาดเชิงสังคมปรับเปลี่ยนพฤติกรรมป้องกันไข้มาลาเรียของเกษตรกร. หน้า. 22-36. ใน: รายงานการวิจัย กลุ่มสนับสนุนวิชาการ สำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลง กระทรวงสาธารณสุข, นนทบุรี.
- ปัทมา สุวรรณจำรูญ วาสนา สุวรรณวิจิตร และ อรจันทร์ ศิริโชติ. 2556. ทศนคติของเกษตรกรต่อส่วนประสมทางการตลาดระหว่างปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 6(2): 47-57.
- มูลนิธิเกษตรกรรมยั่งยืน (ประเทศไทย). 2559. เกษตรกรรมในประเทศไทย: วรรณกรรมปริทัศน์. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.sathai.org/autopagev4/files/AudKQg5Thu100547.pdf> (27 ตุลาคม 2559).
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2558. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าปุ๋ยเคมีสูตรที่สำคัญ ปี 2551-2558. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/download/FactorOfProduct/Fertilizer_value49-54.html (27 ตุลาคม 2559).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559ก. ปริมาณปุ๋ยเคมีที่ใช้ในการเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=150& (27 ตุลาคม 2559).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559ข. สถิติการใช้ที่ดินจังหวัดพิษณุโลก พ.ศ. 2546-2556. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://service.nso.go.th/nso/web/statseries/statseries14.html> (27 ตุลาคม 2559).
- Anderson, L.W. and D.R. Krathwohl (eds.). 2001. A Taxonomy of Learning, Teaching, and Assessing: A Revision of Bloom's Taxonomy of Educational Objectives. Longman, New York. 352 p.
- Geisseler, D. and K.M. Scow. 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms-a review. Soil Biology & Biochemistry 75: 54-63.
- Hossain, M. and V.P. Singh. 2000. Fertilizer use in asian agriculture: implications for sustaining food security and the environment. Nutrient Cycling in Agroecosystems 57(2): 155-169.
- Knowles, M. 1984. Andragogy in Action: Applying Modern Principles of Adult Learning. Jossey-Bass, San Francisco. 444 p.
- Maibach, E.W. 1993. Social marketing for the environment: using information campaigns to promote environmental awareness and behavior change. Health Promotion International 8(3): 209-224.
- Rogers, E.M. 2003. Diffusion of Innovations. 5th ed. Free Press, New York. 576 p.
- Savci, S. 2012. Investigation of effect of chemical fertilizers on environment. APCBEE Procedia 1(2): 287-292.
- Uddin, M.S. and K. Kurosawa. 2011. Effect of chemical fertilizer application on the release of arsenic from sediment to groundwater in Bangladesh. Procedia Environmental Sciences 4: 294-302.

การจำแนกครัวเรือนเกษตรกรที่มีระบบการทำฟาร์มแบบปลูกข้าวเป็นพืชหลักใน จังหวัดกำแพงเพชร

Classification of Farm Households in Rice-based Farming Systems in Kamphaeng Phet Province

สุชนีย์ ทรัพย์สมบูรณ์^{1*} เบญจพรรณ เอกะสิงห์² ชานชัย แสงชโยสวัสดิ์³
จิรวรรณ กิจชัยเจริญ² และ พนมศักดิ์ พรหมบุรมย์⁴

Suchanee Subsomboon^{1*}, Benchaphun Ekasingh², Chanchai Sangchyoswat³,
Jirawan Kitchaicharoen² and Panomsak Promburom⁴

¹สาขาวิชาเกษตรศาสตร์เชิงระบบ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

¹Program in Agricultural Systems, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²ภาควิชาพัฒนาการเศรษฐกิจ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

³ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

³Department of Crop Sciences and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

⁴ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

⁴Center for Agricultural Resource Systems Research, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: suchanee_1@hotmail.com

(Received: 20 September 2017; Accepted: 29 January 2018)

Abstract: In order to achieve efficiency and effectiveness in agricultural extension activities, farmers have to be classified into groups in order to have similarity of their resources and characteristics. This study had as its objective to classify farmers into groups, according to important factors relating to physical, biological, social and economic conditions. Before classifying farmer's groups by means of cluster analysis, related variables are first grouped into fewer sets of variables using factor analysis. The samples are farmers in the rice-based farming systems in Kamphaeng Phet province. The results showed that 10 components (groups) could be created from 49 initial variables. The most influential set of variables is that of farm income. Six farmer clusters could be identified from those with very high land and other assets to those with very low land and other assets. The results of this study can be used to identify farming households that need assistance and cases of farm households with good performance within a cluster can be used as models for other farm households to improve their production and income potential.

Keywords: Factor analysis, cluster analysis, rice-based farming system

บทคัดย่อ: การจัดการระบบฟาร์มให้มีประสิทธิภาพ และประสิทธิผลขึ้นอยู่กับกิจกรรมการส่งเสริมเกษตรกรในกลุ่มเกษตรกรที่มีความคล้ายกันในด้านทรัพยากรและคุณลักษณะของเกษตรกรในด้านต่าง ๆ การศึกษาค้นคว้ามีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกกลุ่มของเกษตรกรตามลักษณะขององค์ประกอบของตัวแปรที่สำคัญทางด้านกายภาพ ชีวภาพ เศรษฐกิจและสังคม โดยใช้การวิเคราะห์องค์ประกอบ (factor analysis) จำแนกกลุ่มตัวแปรที่มีความสำคัญก่อนทำการจำแนกกลุ่มเกษตรกรด้วยการวิเคราะห์จัดกลุ่ม (cluster analysis) กลุ่มตัวอย่างเป็นครัวเรือนเกษตรกรในจังหวัดกำแพงเพชรที่มีการปลูกข้าวเป็นหลัก ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มของตัวแปรที่มีอิทธิพล มี 10 กลุ่มตัวแปรที่สำคัญ ซึ่งได้มาจากตัวแปรเริ่มต้น 49 ตัวแปร กลุ่มของตัวแปรที่มีอิทธิพลมากที่สุดคือ รายได้จากการทำฟาร์ม และนำมาจัดกลุ่มเกษตรกร ตามที่ดินและทรัพยากรอื่น ได้ 6 กลุ่มเรียงลำดับจากกลุ่มที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นมากไปกลุ่มที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นน้อยมาก ผลของการจัดกลุ่มทำให้สามารถระบุกลุ่มของครัวเรือนเกษตรกรที่ควรได้รับการพัฒนา และสามารถใช้อย่างอย่างของครัวเรือนที่โดดเด่นในกลุ่มเป็นตัวอย่างให้แก่ครัวเรือนเกษตรกรอื่นในการพัฒนาการผลิตและสร้างรายได้ให้สูงขึ้นได้ต่อไป

คำสำคัญ: การวิเคราะห์องค์ประกอบ การวิเคราะห์จัดกลุ่ม ระบบฟาร์มแบบปลูกข้าวเป็นหลัก

คำนำ

จังหวัดกำแพงเพชร เป็นจังหวัดหนึ่งที่มีเกษตรกรส่วนใหญ่มากกว่าร้อยละ 60 ประกอบอาชีพการปลูกข้าวเป็นหลักและพบว่าเส้นความยากจนมีระดับต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของประเทศในรอบทศวรรษที่ผ่านมา (สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ, 2558) ในการแก้ปัญหาความยากจนนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องเข้าใจในสภาพการทำฟาร์มของเกษตรกรซึ่งประกอบด้วยปัจจัยหลาย ๆ ด้านและมีจำนวนมากทั้งด้านกายภาพ ชีวภาพ เศรษฐกิจและสังคม และมีปัจจัยต่าง ๆ ภายนอกเข้ามาเกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตของเกษตรกร ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีความสำคัญต่อการตัดสินใจในการจัดการฟาร์มของเกษตรกร ถ้านักวิจัย นักส่งเสริม และผู้วางนโยบาย จะทำงานอย่างมีประสิทธิภาพและประสิทธิผลต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในระบบฟาร์มของเกษตรกร ทั้งนี้ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา การพัฒนาทางด้านการเกษตรมักจะคำนึงถึงการพัฒนาในด้านเทคโนโลยี โดยขาดการวิเคราะห์เชิงระบบ และสิ่งที่สำคัญคือ เกษตรกรแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกัน การพัฒนาในพื้นที่หนึ่งทีประสบความสำเร็จอาจไม่ประสบความสำเร็จในที่อีกแห่งหนึ่ง จึงเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้เกษตรกรไม่ยอมรับเทคโนโลยี และยังไม่สามารถช่วยเหลือให้เกษตรกรพ้นจากความยากจนได้ตามเป้าหมาย นอกจากนี้การจำแนกกลุ่มของเกษตรกรไม่

ชัดเจน ทำให้การใช้เทคโนโลยีต่าง ๆ ไม่สามารถตอบสนองต่อกลุ่มเกษตรกรนั้น ๆ ได้ ดังนั้นการศึกษาตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อครัวเรือนเกษตรกรเพื่อใช้จำแนกกลุ่มเกษตรกรจึงเป็นเรื่องที่มีความจำเป็นก่อนดำเนินการวางแผนพัฒนาในด้านต่าง ๆ ต่อไป

ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เป็นการเริ่มต้นของกระบวนการศึกษาอย่างเป็นระบบ โดยใช้แนวคิดของระบบการทำฟาร์ม ใช้พื้นที่กรณีศึกษา คือ จังหวัดกำแพงเพชร โดยพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเกษตรกรที่ครอบคลุม ทั้งด้าน กายภาพ ชีวภาพ เศรษฐกิจและสังคม ต้องเผชิญกับสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันตามแต่ละสภาพของครัวเรือน ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งในการที่ครัวเรือนเกษตรกรจะยอมรับเทคโนโลยี หรือ รูปแบบการทำฟาร์มใหม่ ๆ ดังนั้น ในการจัดกลุ่มของตัวแปรที่เกี่ยวข้องในการทำฟาร์มของเกษตรกร และการจัดกลุ่มเกษตรกร จะทำให้การศึกษานี้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย ส่งเสริม และ วางแผนการเกษตรต่อไปอย่างยิ่ง

วิธีการหนึ่งที่ใช้ในการจัดกลุ่มของตัวแปรที่มีจำนวนมาก ได้แก่ การวิเคราะห์องค์ประกอบ (factor analysis) เป็นเทคนิคหนึ่งในทางสถิติที่ใช้ในการกำหนดโครงสร้างของกลุ่มตัวแปรจำนวนมากที่มีความสัมพันธ์กัน (correlations) เพื่อลดจำนวนลงและง่ายต่อการจัดกลุ่ม (Hair et al., 2010) กัลยา (2551) สรุปว่า เป็นการวิเคราะห์หลายตัวแปรเทคนิคหนึ่งเพื่อการสรุป รายละเอียดของตัว

แปรหลายตัว หรือเรียกว่าเป็นเทคนิคที่ใช้ในการลดจำนวนตัวแปรเทคนิคหนึ่งโดย การศึกษาถึงโครงสร้างความสัมพันธ์ของตัวแปร และสร้างตัวแปรใหม่เรียกว่า องค์ประกอบ โดย องค์ประกอบที่สร้างขึ้นจะเป็นการนำตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันหรือมีความร่วมกันสูงมารวมกันเป็น องค์ประกอบเดียวกัน ส่วนตัวแปรที่อยู่คนละองค์ประกอบมีความร่วมกันน้อย หรือไม่มีความสัมพันธ์กันเลย ตัวอย่างงานที่ใช้ factor analysis ในงานวิจัย เช่น Kline and Wichelns (1996) ใช้เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบ ในการประเมินการรับรู้ของชุมชนในการอนุรักษ์พื้นที่ทำการเกษตร โดยวิเคราะห์องค์ประกอบของวัตถุประสงค์เป็น 4 กลุ่ม คือ เพื่ออนุรักษ์สิ่งแวดล้อม เพื่อความสวยงาม เพื่อกิจกรรมทางการเกษตร และเพื่อต่อต้านการเจริญของเมือง ซึ่งนำไปสู่การวัดทุนทางสังคมและทุนสาธารณะ โดยใช้องค์ประกอบตัวแปรเหล่านี้ Onyx and Bullen (2000) ได้ใช้ตัวแปร 36 ตัวแปรของทุนทางสังคม วิเคราะห์องค์ประกอบของตัวแปรได้ 8 องค์ประกอบจากชุมชนของออสเตรเลีย 5 ชุมชน ซึ่งรวมถึงการมีส่วนร่วมของชุมชน องค์การ และการไว้วางใจ ซึ่งการวิเคราะห์องค์ประกอบ ช่วยให้เข้าใจความหมายและองค์ประกอบของตัวแปร Winters *et al.* (2002) ใช้เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบ ในการจัดองค์ประกอบของตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับทุนทางสังคมและทุนสาธารณะ (social and public capital) ของครัวเรือนชนบทในเม็กซิโก พบว่า การจำแนกทรัพย์สิน (assets) เป็นกลุ่มต่าง ๆ ได้แก่ กลุ่มของทรัพยากรธรรมชาติ (natural: land) ด้านกายภาพ (physical: livestock, equipment) ด้านมนุษยชาติ (human: education, gender, labour, labour experience and ethnicity) ด้านการเงิน (credit) และกลุ่มของชุมชนที่เข้ามาอยู่อาศัย (migration: US and Mexico migration networks) ซึ่งมีผลกระทบต่อการมีส่วนร่วมของครัวเรือนในการทำกิจกรรมต่าง ๆ และผลตอบแทนจากการดำเนินกิจกรรมนั้น ๆ ผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบทำให้ได้กลุ่มของตัวแปรที่มีความสำคัญต่อรายได้ของครัวเรือนชนบทในเม็กซิโก นอกจากนั้น ในงานของ Ansoms and McKay (2010) ได้มีการใช้กระบวนการวิเคราะห์เชิงปริมาณในการจำแนกความยากจนของครัวเรือนในชนบทของประเทศ Rwanda

โดยใช้วิธี factor analysis และ cluster analysis โดยใช้ตัวแปรในด้านธรรมชาติ ด้านกายภาพ มนุษยวิทยา การเงิน และสังคม เพื่อจำแนกกลุ่มของครัวเรือนในชนบท ผลของการจำแนกพบว่ามีความแตกต่างของกลุ่มในด้าน ความยากจน วิธีการดำรงชีวิต และความชอบในการปลูกพืช งานวิจัยได้เสนอในด้านนโยบายในการพัฒนาชนบทของประเทศ Rwanda ในการที่จะคำนึงถึงความแตกต่างของกลุ่มครัวเรือนในชนบท และพัฒนาให้เหมาะสมต่อลักษณะของกลุ่มต่าง ๆ

Cluster analysis เป็นเทคนิคที่ใช้ในการจำแนกกลุ่มของประชากร ที่มีลักษณะเหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกันเรียกว่า cluster โดยการพิจารณาจากตัวแปร ที่นำมาใช้ในการจัดกลุ่มและมีน้ำหนักแตกต่างกัน (Mooi and Sarstedt, 2011) สมโภชน์ (2553) กล่าวว่า cluster analysis เป็นเทคนิคที่ใช้จำแนกหรือแบ่งกรณี (หมายถึง คน สัตว์ สิ่งของ หรือ องค์การ ฯลฯ) หรือแบ่งตัวแปรออกเป็นกลุ่มย่อย ๆ ตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป กรณีที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันจะมีลักษณะที่เหมือนกันหรือคล้ายกัน ส่วนกรณีที่อยู่ต่างกลุ่มกันจะมีลักษณะที่แตกต่างกัน ดังนั้นการพิจารณาเลือกลักษณะหรือตัวแปรที่จะนำมาใช้ในการแบ่งกลุ่ม จึงมีความสำคัญ นอกจากนั้น กรณีใดกรณีหนึ่งจะต้องอยู่ในกลุ่มหนึ่งเพียงกลุ่มเดียว การวิเคราะห์กลุ่มสามารถช่วยให้ผู้กำหนดนโยบายเข้าใจความซับซ้อนของชีวิตของแต่ละบุคคลและครัวเรือนและสามารถให้คำแนะนำพวกเขาด้วยการออกแบบของกลยุทธ์ เช่น Babu *et al.* (2014) ได้ใช้ในการวางแผนการแก้ปัญหาความยากจน Zorom *et al.* (2013) ใช้ในการวางแผนกลยุทธ์ในการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศ ในกรณีศึกษาฟาร์มตัวอย่างในประเทศอินเดีย และได้จำแนกกลุ่มเกษตรกรตามทรัพย์สินของเกษตรกรและกลยุทธ์ที่ใช้ พบว่า ปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดความแตกต่างกันคือ ขนาดของครัวเรือน การเข้าถึงแหล่งน้ำชลประทาน และจำนวนของสัตว์เลี้ยง ซึ่งก่อให้เกิดผลในการปรับตัวของเกษตรกรที่แตกต่างตามภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นการขาดแคลนอาหารยังคงอยู่ในระดับสูง เกษตรกรยังมีทัศนคติที่คิดว่าการจัดการภัยแล้งในอนาคตไม่สามารถทำได้ เกษตรกรเชื่อว่า นโยบายการให้สินเชื่อและการพัฒนาแหล่งน้ำชลประทานเป็นกลยุทธ์ที่ควรทำมาก

ที่สุด Petrovici and Gorton (2005) ได้ทำการประเมินความยากจนของครัวเรือนในโรมาเนีย มีการแบ่งกลุ่มของครัวเรือนที่ศึกษาโดยใช้ การวิเคราะห์องค์ประกอบ และการแบ่งกลุ่มด้วย cluster analysis ผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบได้กลุ่มตัวแปร 3 กลุ่มที่สำคัญคือความเป็นชนบท ทรัพย์สินทางการเงิน และการใช้เวลาในการทำกิจกรรมต่าง ๆ ผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวแปร นำมาสู่การจำแนกกลุ่มเกษตรกร ได้ 4 กลุ่มครัวเรือน 2 กลุ่มครัวเรือนจะมีลักษณะที่ยากจนและผลิตอาหารเพื่อการดำรงชีวิต (subsistence production) และนำมาสู่การใช้กลยุทธ์ต่าง ๆ ในการปัญหาความยากจน ในแต่ละกลุ่มย่อยอีกทีหนึ่ง Nie *et al.* (2010) ใช้เทคนิคของการจัดกลุ่ม cluster analysis ในการศึกษาสถานะความมั่นคงด้านอาหารของประเทศจีน ใช้ตัวชี้วัด 11 ตัว สามารถจำแนกกลุ่มครัวเรือนได้ 5 กลุ่ม ตามลำดับของความยากจน การจำแนกกลุ่มนี้ทำให้ทราบถึงลักษณะของกลุ่มและสามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิดความยากจนด้วย ในประเทศไทย สำนักงานสถิติแห่งชาติ (2547) ศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อความยากจนของครัวเรือนเกษตร ใช้วิธีการแบ่งครัวเรือนเป็นกลุ่มต่าง ๆ ตามฐานะทางเศรษฐกิจและสังคม โดยพิจารณาจากแหล่งรายได้ส่วนใหญ่ของครัวเรือน สถานภาพการทำงาน ประเภทของกิจกรรมในเชิงเศรษฐกิจและอาชีพเป็นหลัก โดยแบ่งออกเป็น 9 กลุ่ม และนำมาหาความสัมพันธ์ของตัวแปรเพื่อพิจารณาในการกำหนดตัวแปรที่สำคัญที่เป็นปัญหาความยากจนของแต่ละกลุ่ม พหลและสุรัชย์ (2559) ศึกษาการจัดกลุ่มหมู่บ้าน เพื่อส่งเสริมเกษตรอินทรีย์ในจังหวัดเชียงใหม่ ด้วยวิธี cluster analysis ทำให้ทราบถึงระดับของความเหมาะสมของหมู่บ้านเกษตรอินทรีย์ จากงานวิจัยข้างต้น จะเห็นได้ว่า การจำแนกกลุ่มของปัจจัย และ กลุ่มของเกษตรกรมีประโยชน์อย่างมากในการเป็นจุดเริ่มต้นของการมองปัญหาและสาเหตุที่ชัดเจนยิ่งขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการดำเนินการสำรวจครัวเรือนเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดกำแพงเพชรที่มีการปลูกข้าวเป็นหลัก โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อ ต้องการจำแนกกลุ่มของปัจจัยที่มีผลต่อครัวเรือนของเกษตรกรตามลักษณะของตัวแปรที่สำคัญทางด้านกายภาพ ชีวภาพ เศรษฐกิจและสังคม และนำเข้าสู่กระบวนการจำแนกกลุ่ม

ครัวเรือนเกษตรกรเพื่อได้ข้อมูลอันเป็นประโยชน์ของหลายฝ่ายในการสร้างกลยุทธ์เพื่อจัดการฟาร์มให้ยั่งยืน มีประสิทธิภาพและประสิทธิผลต่อไป

วิธีการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย เป็นครัวเรือนเกษตรกรในจังหวัดกำแพงเพชรที่มีการปลูกข้าวเป็นหลัก กำหนดเกณฑ์ในการเลือกพื้นที่เป้าหมายเพื่อการศึกษา ในจังหวัดกำแพงเพชรที่มีจำนวนครัวเรือนที่มีการปลูกข้าวมากกว่าร้อยละ 60 ของครัวเรือนเกษตรกร ทั้งอำเภอและอยู่ในเขตนิเวศน์เกษตรที่มีความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวทั้งในเขตน้ำฝนและชลประทาน ใช้แบบสอบถามในการเก็บข้อมูล และสกัดตัวแปรจาก แบบสอบถาม อันประกอบด้วยตัวแปรทางด้านกายภาพ ด้านชีวภาพ ด้านเศรษฐกิจ ด้านสังคม และ ด้านการเงิน การวิเคราะห์ข้อมูลในการวิจัยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อศึกษาว่าองค์ประกอบร่วมที่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างตัวแปรต่าง ๆ โดยจำนวนองค์ประกอบร่วมที่หาได้จะมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนตัวแปรนั้น ทำให้ทราบว่า มีองค์ประกอบร่วมอะไรบ้าง (exploratory factor analysis) ตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีการด้วย Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) และ วิธีทดสอบของ Barlett ใช้วิธีสกัดองค์ประกอบหลัก (principal component analysis: PCA) โดยการใช้หลักความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างตัวแปรที่ใช้เป็นข้อมูลองค์ประกอบหลักตัวแปรคือการผสมเชิงเส้นตรง (linear combination) ของตัวแปรที่อธิบายการผันแปรของข้อมูลได้มากที่สุดซึ่งองค์ประกอบหลักจะอธิบายการผันแปรได้น้อยลงตามลำดับและทุกองค์ประกอบไม่สัมพันธ์กัน ทำการแยกตัวแปรให้เด่นชัดด้วย การหมุนแกนองค์ประกอบ (factor rotation) โดยใช้วิธีการหมุนแกนแบบมุมฉาก (orthogonal rotation) แบบ varimax เพื่อลดจำนวนตัวแปรที่มีน้ำหนักปัจจัยมากบนแต่ละปัจจัยให้เหลือน้อยที่สุด พิจารณาองค์ประกอบที่มีค่าไอเกน (eigenvalue) มากกว่า 1 จากนั้นคัดเลือกตัวแปรที่มีน้ำหนักองค์ประกอบ (loading) เกิน 0.40 ขึ้นไป (Hair *et al.*, 2010) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ส่วนตัวแปรที่มีน้ำหนักน้อยกว่า

0.40 ไม่นำมาพิจารณา นำผลการวิเคราะห์องค์ประกอบแต่ละด้านไปแปรผลและกำหนดชื่อองค์ประกอบที่มีความสอดคล้องกับโครงสร้างขององค์ประกอบ จากนั้นจะนำองค์ประกอบที่สำคัญ นำมาจัดกลุ่มของครัวเรือนเกษตรกรโดยวิธี cluster analysis การจัดกลุ่มโดยพยายามให้สิ่งที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันมีความคล้ายคลึงกันมากที่สุด (minimize intra-cluster distances) และพยายามให้แต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันมากที่สุด (maximize inter-cluster distances) เลือกวิธีการรวมกลุ่มแบบ between-group linkage วัดระยะทางด้วยค่า squared Euclidean distance ในขั้นตอนของการใช้วิธี hierarchical clustering เพื่อพิจารณาจำนวนกลุ่มที่เหมาะสม และใช้วิธี Euclidean distance ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูลกลุ่มด้วย K-means (Kaufman and Rousseeuw, 2005)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการคัดเลือกอำเภอในจังหวัดกำแพงเพชรที่มีจำนวนครัวเรือนที่มีการปลูกข้าวมากกว่าร้อยละ 60 ของจำนวนครัวเรือนเกษตรกรทั้งหมด และอยู่ในเขตนิเวศน์เกษตรที่มีความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวทั้งในเขตน้ำฝนและชลประทาน ได้แก่ อำเภอพรานกระต่าย อำเภอลานกระบือ และอำเภอไทรงาม คัดเลือกครัวเรือนเกษตรกรจำนวน 822 ครัวเรือน ประกอบด้วยครัวเรือนในอำเภoprานกระต่าย จำนวน 348 ครัวเรือน อำเภอลานกระบือ 202 ครัวเรือน และอำเภอไทรงาม 272 ครัวเรือน สกัดตัวแปรด้วย factor analysis ตรวจสอบความเหมาะสมของการวิเคราะห์ด้วย KMO (Kaiser-Meyer-Olkin measure of sampling adequacy) เท่ากับ 0.798 แสดงถึงความเหมาะสมของข้อมูลทั้งหมดในการที่จะวิเคราะห์ด้วยเทคนิค factor analysis ได้ในระดับดี และจากการทดสอบ Bartlett's test of sphericity พบว่า ตัวแปรต่างๆ มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($\chi^2 = 11438.177$, $df = 378$, $P\text{-value} < 0.05$) แสดงว่า matrix สหสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ มีความสัมพันธ์กัน มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบ

จากแบบสอบถาม 49 ตัวแปร ได้จำนวนตัวแปรที่นำมาจัดองค์ประกอบได้ 28 ตัวแปร ประกอบด้วย ตัวแปรทางด้านกายภาพ จำนวน 8 ตัวแปร ได้แก่ เนื้อที่ทำการเกษตร (agricultural area) เนื้อที่ถือครอง (holding area) เนื้อที่ปลูกข้าว (paddy area) เนื้อที่เช่า (rent in area) แหล่งน้ำเพื่อการเกษตร (water for agriculture) แหล่งน้ำชลประทาน (irrigation for agriculture) ความใกล้เมือง (distance from market) ภัยแล้ง (drought) ด้านชีวภาพ 11 ตัวแปร ได้แก่ ปัญหาโรคพืชครั้งที่ 1 (1st disease damage) ปัญหาแมลงศัตรูพืชครั้งที่ 1 (1st insect damage) ปัญหาแมลงศัตรูพืช ครั้งที่ 2 (2nd insect damage) ปัญหาวัชพืชครั้งที่ 1 (1st weed damage) ปัญหาวัชพืชครั้งที่ 2 (2nd weed damage) ปัญหาหนู (rat damage) ปัญหาหอยเชอรี่ (golden apple snail damage) ผลผลิตข้าว (yield of rice) ข้าวที่เก็บเป็นพันธุ์ (rice seed) จำนวนของชนิดพืช (number of plant species) จำนวนของชนิดสัตว์ (number of animal species)

ด้านเศรษฐกิจ 2 ตัวแปร ได้แก่ รายได้จากการปลูกข้าว (income from rice) รายได้ทั้งหมดของฟาร์ม (total income) ด้านสังคม 4 ตัวแปร ได้แก่ จำนวนสมาชิกในครัวเรือน (number of members in household) จำนวนสมาชิกในครัวเรือนที่เรียนรู้จากภูมิปัญญาท้องถิ่น (number of member learning from local knowledge source) จำนวนสมาชิกในครัวเรือนที่มีการศึกษาสูงกว่าระดับมัธยมศึกษา (number of member having secondary school education) ระดับการศึกษาสูงสุดของสมาชิกในครัวเรือน (maximum education of members) และด้านการเงิน 2 ตัวแปร ได้แก่ การกู้ยืม (loans) และการออม (savings) นำมาจำแนกองค์ประกอบของตัวแปรที่มี

อิทธิพลต่อครัวเรือนเกษตรกรที่มีระบบการปลูกข้าวเป็นหลักในจังหวัดกำแพงเพชร จำแนกได้ 10 องค์ประกอบที่สามารถอธิบาย ความแปรปรวนรวมของตัวแปรได้ประมาณ ร้อยละ 68 (ตารางที่ 1)

จากตารางที่ 2 พบว่าในแต่ละองค์ประกอบมีตัวแปรที่มีค่าน้ำหนักปัจจัย (factor loading) ตั้งแต่ 0.414-0.930 และเมื่อพิจารณารายตัวแปร พบว่า พื้นที่ถือครองเป็นองค์ประกอบร่วมขององค์ประกอบที่ 1 และ 10

Table 1. Variance explained by 10 factors extracted in the final solution

Component	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings			Rotation Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	5.914	21.122	21.122	5.914	21.122	21.122	5.228	18.671	18.671
2	2.851	10.183	31.304	2.851	10.183	31.304	2.483	8.867	27.538
3	1.885	6.731	38.035	1.885	6.731	38.035	2.085	7.446	34.984
4	1.482	5.293	43.328	1.482	5.293	43.328	1.551	5.538	40.522
5	1.334	4.764	48.092	1.334	4.764	48.092	1.483	5.296	45.818
6	1.212	4.329	52.422	1.212	4.329	52.422	1.359	4.855	50.673
7	1.165	4.161	56.582	1.165	4.161	56.582	1.254	4.478	55.151
8	1.091	3.895	60.478	1.091	3.895	60.478	1.219	4.352	59.503
9	1.069	3.817	64.295	1.069	3.817	64.295	1.215	4.341	63.844
10	1.012	3.613	67.908	1.012	3.613	67.908	1.138	4.064	67.908

Extraction Method: Principal Component Analysis

ปัญหาวัชพืชครั้งที่ 1 เป็นองค์ประกอบร่วมขององค์ประกอบที่ 2 และ 8 การกู้ยืมเป็นองค์ประกอบร่วมขององค์ประกอบที่ 6 และ 9 หลังจากการสกัดตัวแปรด้วยวิธี varimax orthogonal rotation พบว่า ในกลุ่มตัวแปรที่ 1 และกลุ่มตัวแปรที่ 2 มีความสัมพันธ์กันสูงมากกว่ากลุ่มตัวแปรอื่น ๆ และมีจำนวนของตัวแปรมากกว่า ต่อจากนั้นจึงนำความสัมพันธ์ของตัวแปรมาให้อีกกลุ่มของปัจจัยตามลักษณะของการจัดกลุ่มที่ได้ และมีลำดับความสำคัญ (rank) ตามค่าของ eigenvalue และ percent of variance (ตารางที่ 3)

จากตารางที่ 2 และ 3 พบว่า องค์ประกอบที่ 1 ซึ่งใช้ชื่อว่า “พื้นที่ถือครอง (Holding area)” มีตัวแปรสำคัญจำนวน 7 ตัว มีค่าน้ำหนักตัวแปรในองค์ประกอบระหว่าง 0.686-0.930 มีค่าความแปรปรวนของตัวแปร (eigenvalues) เท่ากับ 5.23 ค่าร้อยละของความแปรปรวน (percent of variance) เท่ากับ 18.67 เป็นองค์ประกอบที่สามารถอธิบายความแปรปรวนของปัจจัยได้ร้อยละ 18.67 เมื่อเปรียบเทียบกับค่าความแปรปรวนขององค์ประกอบอื่น ๆ แล้ว องค์ประกอบนี้มีความสำคัญเป็นอันดับ 1 องค์ประกอบที่ 2 ใช้ชื่อว่า “โรคและแมลง (pest and disease)” อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 8.87 ประกอบด้วย 5 ตัวแปรย่อย องค์ประกอบที่ 3 ใช้ชื่อว่า “การมีปัญหามานูและหอยเชอร์รี่ (Incidence of rodent/Golden apple snail infestation)” อธิบายความ

แปรปรวนได้ร้อยละ 7.45 องค์ประกอบที่ 4 ใช้ชื่อว่า “การลงทุนในทรัพยากรน้ำ (investment in water resources)” อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 5.54 องค์ประกอบที่ 5 ใช้ชื่อว่า “ความรู้ (knowledge)” อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 5.30 องค์ประกอบที่ 6 ใช้ชื่อว่า “รูปแบบฟาร์ม (farming enterprises)” อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 4.86 องค์ประกอบที่ 7 ใช้ชื่อว่า “การพึ่งพาตนเองด้านเมล็ดพันธุ์ข้าว (self-reliance in rice seed)” อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 4.47 องค์ประกอบที่ 8 ใช้ชื่อว่า “ภาวะแล้ง (drought incidence)” อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 4.35 องค์ประกอบที่ 9 ใช้ชื่อว่า “ขนาดของครัวเรือนและการศึกษา (Household size and education)” อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 4.34 และ องค์ประกอบที่ 10 ใช้ชื่อว่า “พื้นที่เช่า (Rented in area)” อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 4.06 (ตารางที่ 1-3) การวิเคราะห์องค์ประกอบนี้สามารถลดจำนวนตัวแปรจาก 49 ตัวแปรเหลือ 10 กลุ่มตัวแปร ทำให้มีความง่ายในการวิเคราะห์ต่อไป และลดความซ้ำซ้อน เนื่องจากได้รวมเอาตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันไว้ในกลุ่มเดียวกัน

จากนั้น มีการนำผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวแปรที่สำคัญสู่กระบวนการจำแนกครัวเรือนเกษตรกรด้วย cluster analysis ตามวิธีการของ Kaufman and Rousseeuw (2005)

Table 2. Factor loading from rotated component matrix and communality of positives effects variables

Positive effects variables	Factors										
	Holding area	Pest and disease	Incidence of rodent/Golden	Investment in water resources	Knowledge	Farming enterprises	Self-reliance in rice seed	Drought incidence	Household size and education	Rented in area	
1. Total income from planting	0.93										
2. Income from rice	0.918										
3. Total income	0.905										
4. Yield of rice	0.885										
5. Paddy area	0.789										
6. Agricultural area	0.757										
7. Holding area	0.686									-0.428	
8. 1 st insect damage		0.754									
9. 1 st disease damage		0.723									
10. 2 nd insect damage		0.642									
11. 1 st weed damage		0.599						0.417			
12. 2 nd weed damage		0.523									
13. Golden apple snail damage			0.824								
14. Rat damage			0.821								
15. Distance from home to market			-0.595								
16. Water for agriculture				0.752							
17. Irrigation for agriculture				0.655							
18. Saving				-0.452							
19. Number of members learning from learning center in village.					0.792						
20. Number of member having secondary school education					0.706						
21. Number of plant species						0.641					
22. Number of animal species						0.535					
23. Rice seed							0.844				
24. Drought								-0.851			
25. Number of members in household									0.796		
26. Maximum education of members									0.514		
27. Loans						0.414			0.463		
28. Rent in land										0.824	

Extraction Method: Principal Component Analysis and Rotation Method: Varimax with Kaiser Normalization (12 iterations)

Table 3. Value of Eigenvalues and Percent of variance

Rank	Factor variable groups	Eigenvalues	Percent of variance
1	Holding area	5.230	18.670
2	Pest and disease	2.480	8.870
3	Incidence of rodent/Golden apple snail infestation	2.090	7.450
4	Investment in water resources	1.550	5.540
5	Knowledge	1.480	5.300
6	Farming enterprises	1.360	4.860
7	Self - reliance in rice seed	1.254	4.478
8	Drought incidence	1.219	4.352
9	Household size and education	1.215	4.341
10	Rented-in area	1.138	4.064

ผลของการวิเคราะห์การแบ่งกลุ่มด้วย cluster analysis จำแนกกลุ่มเกษตรกรออกเป็น 6 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มตัวแปรที่เป็นค่า standardized Z scores (Z scores มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1) ในแต่ละกลุ่มเกษตรกรซึ่งแยกได้เป็น 6 กลุ่มโดยวิธี cluster analysis พบว่าค่าเฉลี่ยของ Z scores ของกลุ่มตัวแปรต่าง ๆ ในกลุ่มเกษตรกรที่ 1 สูงกว่ากลุ่มเกษตรกรที่ 2 และ ทั้งกลุ่มเกษตรกรที่ 1 และ 2 มีค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวแปรต่าง ๆ สูงกว่า กลุ่มเกษตรกรที่ 3, 4 และ 5 เป็นอันมาก กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 6 เป็นกลุ่มที่มีกลุ่มของตัวแปรส่วนใหญ่ที่มีค่าเฉลี่ยของกลุ่มสูงกว่า ค่าเฉลี่ยทั้งหมด ยกเว้นเรื่องของปัจจัยภัยธรรมชาติอื่น ๆ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ยของทั้งหมด (มีค่าเป็นบวก) ขณะที่ กลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มที่มีกลุ่มของตัวแปรส่วนใหญ่มีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ยทั้งหมด (มีค่าเป็นลบ) ในขณะที่กลุ่มที่ 4 มีค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวแปรในระดับใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของทุกกลุ่ม ในการแบ่งกลุ่มของเกษตรกรด้วยกลุ่มของปัจจัยกลุ่มของตัวแปรที่นำมาวิเคราะห์ในการจัดกลุ่มทำให้กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 5 มีความแตกต่างกันมากที่สุด ในขณะที่เดียวกัน ค่า average mean ของค่า Standardized Z-value ของกลุ่มที่ 1 สูงกว่ากลุ่มที่ 2 เกือบสองเท่า ซึ่งจะใช้ในการเปรียบเทียบลักษณะของกลุ่มต่อไป การจำแนกกลุ่มของเกษตรกร ทั้ง 6 กลุ่มสามารถนำมาอธิบายคุณลักษณะของแต่ละกลุ่มดังนี้ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 และ 2 เป็นกลุ่มเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นสูงมากและสูงตามลำดับ ซึ่งมีองค์ประกอบของปัจจัยที่สูงกว่าค่าเฉลี่ยรวม (มีค่า Z scores ระหว่าง 0.35-2.50) ได้แก่ ความหลากหลายทางการเกษตร ขนาดของครัวเรือนและการศึกษา (จำนวนสมาชิกในครัวเรือน ระดับการศึกษา การกู้ยืม) พื้นที่ถือครอง การมีแหล่งน้ำเพื่อการเกษตร ความใกล้ชิดเมือง การพึ่งพาตนเองด้านพันธุกรรม ความรู้ พื้นที่เช่า และมีภัยธรรมชาติอื่น ๆ น้อยกว่าค่าเฉลี่ยรวม

กลุ่มที่ 6 และกลุ่มที่ 4 ซึ่งเป็นกลุ่มเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นปานกลางอันดับ 1 และ อันดับ 2 ตามลำดับ มีองค์ประกอบของปัจจัยที่สูงรองจากกลุ่มที่ 1 และ 2 ได้แก่ โดยกลุ่มที่ 6 มีองค์ประกอบของปัจจัยต่าง ๆ สูงกว่าค่า Z scores ระหว่าง 0.2-0.7 ในขณะที่กลุ่มที่ 4 อยู่ระหว่าง 0-0.2 แสดงว่า กลุ่ม 6 มีทรัพยากรต่าง ๆ มากกว่า กลุ่ม 4 ในขณะเดียวกัน โรค แมลง ศัตรูพืช และขนาดของครัวเรือนและการศึกษามากกว่ากลุ่ม 4

กลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 5 กลุ่มเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นต่ำและต่ำมาก ตามลำดับ ซึ่งมีองค์ประกอบของปัจจัยที่ต่ำสุด ได้แก่ กลุ่ม โดยที่กลุ่มที่ 5 จะมีค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบของปัจจัยต่ำที่สุดและต่ำกว่ากลุ่มที่ 3 อย่างไรก็ตาม ในเรื่องโรค แมลงและขนาดของครัวเรือนและการศึกษาก็มีต่ำด้วย

ผลของการจำแนกกลุ่มครัวเรือนเกษตรกรจำนวน 822 ราย ครัวเรือนเกษตรกรส่วนใหญ่ที่ปลูกข้าวในจังหวัดกำแพงเพชร เป็นกลุ่มที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่น

Table 4. Average Z values of main components

Main component	Cluster					
	1	2	3	4	5	6
Holding area	1.15	0.64	-0.17	0.04	-0.40	0.30
Pest and diseases (Less)	1.23	0.69	-0.18	0.04	-0.43	0.32
Incidence of rat/Golden apple snail infestation	1.06	0.59	-0.16	0.04	-0.37	0.28
Investment in water resources	1.10	0.61	-0.16	0.04	-0.38	0.28
Knowledge	1.02	0.57	-0.15	0.03	-0.36	0.27
Farming enterprises	2.33	1.31	-0.35	0.08	-0.82	0.61
Self-reliance in rice seed	1.05	0.59	-0.16	0.04	-0.37	0.27
Drought incidence	-0.41	-0.23	0.06	-0.01	0.14	-0.11
Household size and education	1.66	0.93	-0.25	0.06	-0.58	0.43
Rented in area	0.63	0.35	-0.09	0.02	-0.22	0.16

Table 5. Farming household membership in each cluster and each district

Land and Other Assets	Cluster	Total households		% households in		
		N	%	Lan Krabue	Phran Kratai	Sai Ngam
Very high	1	11	1.34	1.5	9	1.8
High	2	48	5.84	6.4	2.3	9.9
Moderate 1	6	138	16.79	15.8	11.5	24.3
Moderate 2	4	256	31.14	25.2	33	33.1
Low	3	233	28.35	32.7	33	19.1
Very low	5	136	16.55	18.3	19.3	11.8
Total		822	100	100	100	100

ต่ำร้อยละ 28 ของครัวเรือนตัวอย่าง ในพื้นที่อำเภอพรานกระต่าย รองลงมา คือ พื้นที่อำเภอลานกระบือ สัดส่วนของครัวเรือนเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นต่ำสุดมีถึงร้อยละ 17 (ตารางที่ 5)

กลุ่มเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพย์สินสูงมากและสูงจะมีค่าเฉลี่ยของ พื้นที่ทำการเกษตร พื้นที่ปลูกข้าว พื้นที่ถือครอง ประมาณ 57-77 ไร่ต่อครัวเรือน และพื้นที่เช่าเฉลี่ยประมาณ 24-93 ไร่ต่อครัวเรือน มากกว่า กลุ่มเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นปานกลางอันดับ 1 และอันดับ 2 ที่มีพื้นที่ทำเกษตร พื้นที่ปลูกข้าวและพื้นที่ถือครอง รว 23-44 ไร่ต่อครัวเรือน มีพื้นที่เช่าราว 10-17 ไร่ต่อครัวเรือน และ มากกว่ากลุ่มเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นต่ำและต่ำสุด ที่มีพื้นที่ทำเกษตร พื้นที่ปลูกข้าวและพื้นที่ถือครอง รว 11-22 ไร่ต่อครัวเรือน มีพื้นที่เช่าราว 4-6 ไร่ต่อครัวเรือน (ดังตารางที่ 6) ในขณะที่

ผลผลิตข้าวของครัวเรือนเกษตรกร ที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นสูงมีมากกว่ากลุ่มครัวเรือนที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นต่ำประมาณ 10 เท่าตัว และมากกว่ากลุ่มที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่น สองถึงสามเท่าตัว คือ กลุ่มมีที่ดินและทรัพย์สินอื่นสูงถึงสูงมาก มีผลผลิตข้าว 110-187 ตันต่อครัวเรือน กลุ่มมีที่ดินและทรัพย์สินอื่นปานกลางอันดับ 1 และอันดับ 2 มีผลผลิตข้าวราว 30-53 ตันต่อครัวเรือน และ กลุ่มมีที่ดินและทรัพย์สินอื่นต่ำ ถึงต่ำมาก มีผลผลิตข้าวเพียง 12-18 ตันต่อครัวเรือน (ตารางที่ 7)

เมื่อพิจารณาในด้านค่าเฉลี่ยของทรัพย์สินรายได้ รายจ่าย การกู้ยืมและการออม พบว่ามีความแตกต่างกันชัดเจน ครัวเรือนเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นต่ำสุด จะมีทรัพย์สินเพียง 2.2 ล้านบาท มีค่าเฉลี่ยรายได้รวมต่ำสุดเท่ากับ 155,440 บาทต่อครัวเรือนต่อปี และมีรายได้เฉลี่ยจากฟาร์ม เพียง 121,944

Table 6. Means (maximum and minimum) of different land area in each cluster (unit: rai)

Potential		Agricultural land	Rice cultivation area	Holding area	Rented in area	Field crop area
Very high	Mean	77.73	76.82	65.18	93.18	0.91
	Maximum	105.00	105.00	101.00	700.00	10.00
	Minimum	10.00	10.00	10.00	0.00	0.00
High	Mean	66.59	62.13	57.26	23.91	6.19
	Maximum	158.00	143.00	143.00	95.00	70.00
	Minimum	26.25	19.00	0.00	0.00	0.00
Moderate 1	Mean	44.04	38.03	33.74	17.68	5.64
	Maximum	140.00	105.00	140.00	130.00	110.00
	Minimum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Moderate 2	Mean	30.79	28.06	23.49	9.60	2.50
	Maximum	77.00	77.00	75.00	55.00	36.00
	Minimum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Low	Mean	22.62	19.51	18.48	6.39	2.24
	Maximum	67.00	67.00	80.00	54.00	50.00
	Minimum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Very low	Mean	14.51	13.92	11.35	4.05	0.60
	Maximum	49.00	40.00	32.00	50.00	28.00
	Minimum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	Mean	30.72	27.61	24.31	11.08	2.83
	Maximum	158.00	143.00	143.00	700.00	110.00
	Minimum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Table 7. Average paddy output and output utilization of farming households in each cluster (unit: tons per household)

Potential	Cluster	Paddy output		
		Mean	Maximum	Minimum
Very high	1	187.64	272	90.00
High	2	110.38	224	6.70
Moderate 1	6	53.17	166	0.86
Moderate 2	4	29.86	102	1.00
Low	3	17.77	90	0.50
Very low	5	11.88	76.5	0.70
Total		34.18	272	0.5

บาทต่อครัวเรือนต่อปี เทียบกับทรัพยากรดินเฉลี่ย 3.5-8.9 ล้านบาท รายได้เฉลี่ยรวม 374,000-2,501,000 บาท และ รายได้เฉลี่ยจากฟาร์ม 341,239-2,459,193 บาทในกลุ่มที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นปานกลางและสูง อย่างไรก็ตาม

พบว่าในกลุ่มที่ดินและทรัพยากรอื่นต่ำสุดนี้ ครัวเรือนเกษตรกรที่มีรายได้สูงสุดจากฟาร์ม ถึง 462,600 บาทต่อครัวเรือนต่อปี แสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ในการพัฒนาศักยภาพการผลิตของครัวเรือนกลุ่มนี้ (ตารางที่ 8)

การจำแนกครัวเรือนเกษตรกรที่มีระบบการทำฟาร์มแบบปลูกข้าวเป็นพืชหลัก
ในจังหวัดกำแพงเพชร

Table 8. Average of Total asset, Income, expenditure, Loaning and saving of household in each cluster

Land and other asset	Mean/Max/Min	Total other assets	Total income	Farm income	Hired farm labor	Non-farm employment	Household expenditure	Loaning	Saving	Average education (years)
Very high	Mean	8,894,000	2,501,011	2,459,193	36,364	-	85,154	163,730	47,018	2.18
	Maximum	56,200,000	4,366,500	4,306,500	400,000	-	151,000	340,000	200,000	Primary vocational
	Minimum	1,180,000	968,000	968,000	-	-	41,000	15,000	-	Prathom
High	Mean	4,498,900	1,314,577	1,244,771	48,708	4,875	103,031	196,710	38,627	2.58
	Maximum	21,400,000	5,175,000	5,175,000	2,000,000	100,000	715,000	850,000	500,000	master
	Minimum	180,640	133,400	133,400	-	-	-	-	-	no education
Moderate 1	Mean	5,020,900	699,203	642,653	29,965	11,734	88,475	166,510	64,630	2.41
	Maximum	166,000,000	3,991,500	1,898,000	3,650,000	192,000	483,000	1,030,000	1,500,000	8
	Minimum	255,000	35,800	10,000	-	-	-	-	-	Prathom
Moderate 2	Mean	3,526,200	374,689	341,239	2,721	10,370	62,790	128,800	44,666	2.34
	Maximum	30,100,000	1,322,400	1,322,400	91,250	348,000	732,000	740,000	1,000,000	master
	Minimum	42,822	10,000	10,000	-	-	-	-	-	no education
Low	Mean	3,157,800	228,261	187,704	2,178	-	-	115,920	28,415	2.2
	Maximum	29,100,000	816,000	666,000	60,000	720,000	265,500	550,000	401,000	master
	Minimum	30,000	6,400	-	-	-	-	-	-	no education
Very low	Mean	2,192,800	155,440	121,944	2,854	8,849	39,227	79,673	15,935	2.24
	Maximum	16,700,000	505,600	462,600	120,000	168,000	275,400	600,000	200,000	graduate
	Minimum	54,048	-	-	-	-	-	-	-	no education
Total	Mean	3,580,700	434,727	393,142	10,298	11,850	62,670	127,780	38,336	2.31
	Maximum	166,000,000	5,175,000	5,175,000	3,650,000	720,000	732,000	1,030,000	1,500,000	8
	Minimum	30,000	-	-	-	-	-	-	-	no education

การใช้ เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวแปร ทำให้สามารถลดจำนวนตัวแปรจำนวนมากได้ และเป็นการเลือกกลุ่มของตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันสูง ในขณะที่กลุ่มของตัวแปรแต่ละกลุ่มเป็นอิสระจากกัน กลุ่มขององค์ประกอบของตัวแปรทำให้สามารถจำแนกกลุ่มครัวเรือนเกษตรกรที่มีจำนวนมากได้ชัดเจนและมีความแตกต่างกันด้วยน้ำหนักของกลุ่มของตัวแปรและตัวแปรที่มีความสำคัญในองค์ประกอบนั้น ๆ ทำให้สามารถอธิบายลักษณะของกลุ่มได้ง่ายขึ้น

ผลของการศึกษาด้วยการจำแนกกลุ่มครัวเรือนเกษตรกรนี้ ทำให้มองภาพของการแก้ปัญหาความแตกต่างของกลุ่มครัวเรือนเกษตรกรได้ชัดเจน และทราบถึงตัวแปรอันสำคัญ ผลการศึกษาการจัดกลุ่มเกษตรกร สามารถระบุได้ว่ากลุ่มเกษตรกรกลุ่มที่ 5 ที่มีที่ดินและทรัพย์สินอื่นต่ำมาก เป็นเกษตรกรที่ต้องได้รับการดูแลเป็นพิเศษ เนื่องจากมีที่ดินและทรัพย์สินอื่นต่ำ อย่างไรก็ตาม มีแนวทางในการเพิ่มรายได้ของฟาร์ม การวิเคราะห์การจำแนกกลุ่มทั้งด้านตัวแปรและกลุ่มเกษตรกรนี้สามารถนำไปกำหนดกลยุทธ์ในการวางแผนพัฒนาการลดความแตกต่างของรายได้และแนวทางในการช่วยเหลือและพัฒนา กลุ่มครัวเรือนเกษตรกรตามประเภทของกลุ่มได้ต่อไป

สรุป

ผลของการศึกษา การจำแนกครัวเรือนเกษตรกรที่มีระบบการทำฟาร์มแบบปลูกข้าวเป็นพืชหลักในจังหวัดกำแพงเพชร ด้วยวิธีการสกัดปัจจัยเพื่อให้ได้ตัวแปรที่สำคัญของเกษตรกรตัวอย่างจำนวน 822 ราย สามารถนำมาจัดกลุ่มของตัวแปรจาก 49 ตัวแปร เหลือเพียง 10 กลุ่มตัวแปร กลุ่มตัวแปรหลักที่สำคัญที่สุดได้แก่ กลุ่มพื้นที่ถือครอง ปัญหาศัตรูพืช และเรื่องน้ำเพื่อการเกษตรตามลำดับ และเมื่อนำกลุ่มของตัวแปรที่ได้จัดกลุ่มเกษตรกร ด้วยเทคนิค cluster analysis สามารถจำแนกครัวเรือนเกษตรกรตัวอย่าง 6 กลุ่ม ตามปัจจัยที่เป็นองค์ประกอบของเกษตรกรด้าน กายภาพ ชีวภาพ เศรษฐกิจและสังคม ทำให้เห็นความแตกต่างของครัวเรือนเกษตรกรได้ชัดเจน โดยเฉพาะในเรื่องของทรัพยากรที่ดิน ถือครอง และรายได้จากการเกษตร มีความแตกต่างกันมากสำหรับเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นสูง ปานกลางและต่ำ ผลผลิตข้าวที่ครัวเรือนเกษตรกรได้ต่อปี สำหรับกลุ่มที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นต่ำโดยอยู่ในระดับต่ำกว่ากลุ่มเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นปานกลางและสูง ประมาณ 2 ถึง 10 เท่า ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลให้กลุ่มเกษตรกรที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นต่ำต้องหารายได้นอกฟาร์มเพิ่มขึ้น ผลของการศึกษาสะท้อนให้เห็นถึงนโยบายในการช่วยเหลือเกษตรกรในกลุ่มที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นต่ำด้วยการเพิ่มความหลากหลายของกิจกรรมในการปลูกพืช ใช้แรงงานในฟาร์มให้มากขึ้น ด้วยกิจกรรมเกษตรผสมผสาน เป็นต้น ขณะเดียวกัน การใช้ฟาร์มต้นแบบของครัวเรือนที่ดีเด่นในกลุ่มจะเป็นแนวทางในการพัฒนาพื้นที่ที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นต่ำสุดได้ ในขณะที่กลุ่มที่มีที่ดินและทรัพยากรอื่นปานกลางและสูง แนวทางการพัฒนาควรเป็นไปในการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อลดต้นทุนการผลิตและลดการระบาดของศัตรูพืช พร้อมทั้งสร้างทางเลือกใหม่ในการผลิตให้เหมาะสมกับพื้นที่ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนสนับสนุนในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กัลยา วานิชย์บัญชา. 2551. การใช้ SPSS for Windows ในการวิเคราะห์ข้อมูล. ธรรมสาร, กรุงเทพฯ. 520 หน้า.
- พหล ศักดิ์คะทศน์ และ สุรัชย์ กังวล. 2559. การใช้วิธีวิเคราะห์การจัดกลุ่มหมู่บ้าน เพื่อส่งเสริมเกษตรอินทรีย์ในจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(2): 201-207.
- สมโภชน์ ศรีสมุทร. 2553. การจำแนกกลุ่มตัวแปรด้วยเทคนิค Cluster Analysis. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.saruthipong.com/port/document/299-705/299-705-10.pdf> (11 พฤศจิกายน 2555).
- สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ. 2558. รายงานการวิเคราะห์สถานการณ์ความยากจนและความเหลื่อมล้ำในประเทศไทย. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.nesdb.go.th/ewt_w3c/ewt_dl_link.php?nid=6363 (20 ตุลาคม 2560).
- สำนักงานสถิติแห่งชาติ. 2547. ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อความยากจนของครัวเรือนเกษตรกร. สำนักงานสถิติแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 15 หน้า.
- Ansoms, A. and A. McKay. 2010. A quantitative analysis of poverty and livelihood profiles: The case of rural Rwanda. Food Policy 35(6): 584-598.
- Babu, S.C., S.N. Gajanan and P. Sanyal. 2014. Food Security Poverty and Nutrition Policy Analysis: Statistical Methods and Applications. 2nd ed. Academic Press, Amsterdam. 615 p.

- Hair, J. F. Jr., W. C. Black, B. J. Babin and R. E. Anderson. 2010. *Multivariate Data Analysis*. 7th ed. Pearson Education Limited, Harlow. 816 p.
- Kaufman, L. and P. J. Rousseeuw. 2005. *Finding Groups in Data. An Introduction to Cluster Analysis*. John Wiley & Sons, Hoboken. 342 p.
- Kline, J. and D. Wichelns. 1996. Public preferences regarding the goals of farmland preservation programs. *Land Economics* 72(4): 538-549.
- Mooi, E. and M. Sarstedt. 2011. *A Concise Guide to Market Research*. Springer-Verlag, Berlin.
- Nie, F. Y., J. Y. Bi and X. B. Zhang. 2010. Study on China's food security status. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 1: 301-310.
- Petrovici, D. A. and M. Gorton. 2005. An evaluation of the importance of subsistence food production for assessments of poverty and policy targeting: evidence from Romania. *Food Policy* 30(2): 205-223.
- Winters, P., B. Davis and L. Corral. 2002. Assets, activities and income generation in rural Mexico: factoring in social and public capital. *Agricultural Economics* 27(2): 139-156.
- Zorom, M., B. Barbier, O. Mertz and E. Servat. 2013. Diversification and adaptation strategies to climate variability: A farm typology for the Sahel. *Agricultural Systems* 116: 7-15.
-

ระดับโปรตีนและพลังงานใช้ประโยชน์ที่เหมาะสมในสูตรอาหารไก่กระดูกดำ สายพันธุ์โครงการหลวง ช่วงอายุ 11-16 สัปดาห์

Optimum Protein and Metabolizable Energy Levels in Royal Project Black-bone Chicken Diets During 11-16 Weeks of Age

สุชน ตั้งทวีพัฒน์* ปฏิวัติ ผายทอง และ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล
Suchon Tangtaweewipat*, Patiwat Phaitong and Boonlom Cheva-Isarakul

ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200
Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: agani002@gmail.com

(Received: 19 September 2017; Accepted: 19 January 2018)

Abstract: A total of 336 heads 10 weeks old Royal Project Black-bone (RPBB) chicken were randomly allotted into 4 groups of 3 replicates each (12 male and 16 female/rep.) according to a 2x2 factorial arrangement in CRD. They were fed with diet containing 2 CP levels, i.e. 17% vs. 15% and 2 ME levels (3.2 vs. 2.9 kcal/g) for 6 weeks. The results showed no significant interaction between CP and ME levels ($P>0.05$). When each factor was taken into consideration, it was found that different CP level had no significant effects ($P>0.05$) on body weight gain, ADG, feed intake, FCR and mortality rate. Chickens fed low ME level (2.9 kcal/g) consumed significantly more feed ($P<0.01$; 2.72 vs. 2.60 kg) thus gave significantly ($P<0.05$) higher body weight gain (0.61 vs. 0.58 kg) and ADG (14.58 vs. 13.56 g) than the high ME level (3.2 kcal/g). However no significant effect ($P>0.05$) was found on FCR and mortality rate. When each treatment was taken into consideration, it revealed that chicken consumed diet 2 (17% CP, 2.9 kcal ME/g) had significantly better performances than diets 1, 3 and 4 ($P<0.05$), i.e. higher body weight (0.64 vs. 0.57, 0.56 and 0.59 kg); ADG 15.15 vs. 13.68, 13.44 and 14.00 g) and lower FCR (4.34 vs. 4.51, 4.65 and 4.57) as well as lower feed cost per gain (50.74 vs. 58.41, 56.84 and 50.91 Baht/kg BW gain, respectively). It might be due to the higher feed intake (65.63 vs. 61.58, 62.30 and 63.97 g/d; $P<0.05$), thus caused higher nutrient intake, i.e. CP (11.17 vs. 10.47, 9.36 and 9.59 g/d; $P<0.05$). Therefore, it can be concluded that the optimum diet for 11-16 weeks old RPBB chicken should contain 17% CP, 2.9 kcal ME/g.

Keywords: Royal Project Black-bone chicken, protein, metabolizable energy, production performance

บทคัดย่อ: ใช้ไก่กระดูกดำสายพันธุ์โครงการหลวงอายุ 10 สัปดาห์ จำนวน 336 ตัว สุ่มแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 28 ตัว (เพศผู้ 12 และเพศเมีย 16 ตัว) วางแผนการทดลองแบบ 2x2 factorial arrangement in CRD ให้ได้รับอาหารทดลองที่มี CP 2 ระดับ คือ 17 เทียบกับ 15% แต่ละระดับ CP มี ME 2 ระดับ คือ 3.2 เทียบกับ 2.9 kcal/g เลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า ค่าสหสัมพันธ์ระหว่าง CP และ ME ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงพิจารณาแต่ละปัจจัย พบว่า การให้อาหารที่มีระดับ CP ต่างกัน ไม่ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่ม ADG ปริมาณอาหารที่กิน FCR และอัตราการตายแตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่การให้ ME ระดับต่ำทำให้ไก่กินอาหารมากขึ้น (2.72 vs. 2.60 กก.; $P<0.01$) ส่งผลให้น้ำหนักตัวเพิ่ม (0.61 vs. 0.58 กก.) และ ADG (14.58 vs. 13.56 ก.) ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับ ME ระดับสูงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วน FCR และอัตราการตาย ให้ผลไม่ต่างกัน ($P>0.05$) เมื่อพิจารณารายกลุ่ม พบว่า ไก่กลุ่มที่ 2 ซึ่งได้รับอาหารที่มี 17% CP, 2.9 kcal ME/g มีสมรรถภาพการผลิตดีกว่ากลุ่มที่ 1, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) คือ มีน้ำหนักตัวเพิ่ม 0.64 vs. 0.57, 0.56 และ 0.59 กก.; ADG 15.15 vs. 13.68, 13.44 และ 14.00 ก. และ FCR 4.34 vs. 4.51, 4.65 และ 4.57 รวมทั้งมีต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักเพิ่ม 1 กก. (FCG) ต่ำกว่าด้วย (50.74 vs. 58.41, 56.84 และ 50.91 บาท/กก. น้ำหนักเพิ่ม ตามลำดับ) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไก่กลุ่มดังกล่าวกินอาหารมากกว่า (65.63 vs. 61.58, 62.30 และ 63.97 ก./วัน ตามลำดับ; $P<0.05$) ทำให้ได้รับสารอาหาร เช่น โปรตีนมากกว่า (11.17 vs. 10.47, 9.36 และ 9.59 ก./วัน ตามลำดับ; $P<0.05$) สรุปได้ว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับไก่กระดูกดำโครงการหลวงช่วงอายุ 11-16 สัปดาห์ ควรมี 17% CP, 2.9 kcal ME/g

คำสำคัญ: ไก่กระดูกดำสายพันธุ์โครงการหลวง โปรตีน พลังงานใช้ประโยชน์ สมรรถภาพการผลิต

คำนำ

ปัจจุบันไก่กระดูกดำ (Black-bone chicken) เป็นที่รู้จักกันมากขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มคนที่ใส่ใจสุขภาพ เนื่องจากเชื่อว่าเป็นยาอายุวัฒนะ และเนื้อไก่มีโปรตีนสูง แต่มีไขมันต่ำกว่าเนื้อไก่ทั่วไป (ศิริลักษณ์, 2530) โดยเนื้อไก่ดำได้หวนมีโปรตีนร้อยละ 85.35 ขณะที่เนื้อไก่ขาวมีโปรตีนร้อยละ 63.18 (บุญทิต และคณะ, 2528) มูลนิธิโครงการหลวงได้พัฒนาไก่กระดูกดำนี้ให้มีการเจริญเติบโตและมีลักษณะตรงตามพันธุ์ คือ มีสีดำ 9 แห่ง ที่ปาก ใบหน้า ลิ้น หอน เล็บ ข้างขา ผิวหนัง กระดูก และเนื้อ (สุชน และคณะ, 2557) ซึ่งความดำนี้เกิดจากกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน (melanin) ที่มีปริมาณมากกว่าปกติ อันเนื่องมาจากการแสดงออกของยีน *Fibro melanosis (Fm)* ซึ่งเป็นยีนที่กระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดสีดำสะสมในเนื้อเยื่อ กระดูกและผิวหนัง (Bateson and Punnett, 1911) นอกจากนี้ ยีน *Fm* ยังทำงานร่วมกับยีน *Id* (the sex-linked inhibitor of dermal melanin) ในกระบวนการ hyper pigmentation ด้วย (Dorshorst et al., 2010)

สุชน และคณะ (2559) ได้เลี้ยงไก่กระดูกดำสายพันธุ์โครงการหลวงแบบปล่อยพื้นในโรงเรือนเปิดด้วยอาหารที่มี CP 2 ระดับ (21 vs. 19%, 19 vs. 17% และ 17 vs. 15% ในช่วงอายุ 1-5, 6-10 และ 11-13 สัปดาห์ ตามลำดับ) โดยแต่ละระดับของ CP มี ME 2 ระดับ (3.2 vs. 2.9 kcal/g) ตลอดระยะการทดลอง 13 สัปดาห์ ผลสรุปได้ว่า ช่วงไก่อายุ 1-5 สัปดาห์ ควรให้อาหารที่มี 21% CP, 2.9 kcal ME/g ส่วนช่วงอายุ 6-10 และ 11-13 สัปดาห์ ควรให้ 19% CP, 2.9 kcal ME/g และ 17% CP, 3.2 kcal ME/g ตามลำดับ แต่เนื่องจากการศึกษาของสุชน และคณะ (2559) ข้างต้น เป็นการให้อาหารที่มี CP และ ME ระดับสูงกับระดับต่ำแบบต่อเนื่องตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุ 13 สัปดาห์ ซึ่งอาจกระทบต่อผลการทดลองในระยะต่อมา ปฏิวัติ และคณะ (2560) จึงได้ศึกษาโดยให้อาหารที่เหมาะสมในช่วงไก่อายุ 1-5 สัปดาห์ คือ 21% CP, 2.9 kcal ME/g ตามที่รายงานไว้โดยสุชน และคณะ (2559) ก่อน แล้วเริ่มทดลองต่อด้วยการให้อาหารที่มี CP และ ME ต่างกัน (19 vs. 17% CP และ 3.2 vs. 2.9 kcal/g ตามลำดับ) ในช่วงไก่อายุ 6-10 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า สูตรอาหารที่เหมาะสม คือ 19% CP, 2.9 kcal ME/g อย่างไรก็ดี เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาในช่วงไก่อายุ

11-16 สัปดาห์ ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายก่อนส่งตลาด หากทราบความต้องการโภชนาที่เหมาะสมสำหรับไก่ในช่วงนี้ ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อเกษตรกรในการผลิตไก่ให้มีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้ไก่กระดูกดำสายพันธุ์โครงการหลวงคณะแพทยศาสตร์ อายุ 1 วัน จำนวน 482 ตัว ไก่ทดลองทั้งหมดนี้เลี้ยงในโรงเรือนเปิดแบบปล่อยพื้น โดยทำที่ฟาร์มปศุสัตว์ มุลินี โครงการหลวง อ.เมือง จ.เชียงใหม่ นำมาอนุบาลรวมกัน และให้อาหารผสมเองที่มี 21% CP, 2.9 kcal ME/g จนอายุครบ 5 สัปดาห์ จากนั้นคัดไก่ที่แข็งแรงจำนวน 406 ตัว เลี้ยงต่อโดยให้อาหารผสมเองที่มี 19% CP, 2.9 kcal ME/g จนอายุครบ 10 สัปดาห์ ซึ่งน้ำหนักไก่และอาหารคงเหลือ คัดเฉพาะตัวที่แข็งแรงจำนวน 336 ตัว แล้วเริ่มทำการทดลองโดยสุ่มแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีเพศผู้ 12 ตัว และเพศเมีย 16 ตัว รวม 28 ตัว ให้ไก่ทุกตัวได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โดยให้วันละ 2 มื้อ เช้าและเย็น อาหารที่ให้ มี CP 2 ระดับ คือ 17 เทียบกับ 15% แต่ละระดับมี ME 3.2 เทียบกับ 2.9 kcal/g ตามแผนการทดลองแบบ 2x2 factorial arrangement in CRD สูตรอาหารแสดงไว้ในตารางที่ 1 บันทึกน้ำหนักตัวไก่แบบรวมทุกตัวรายเช้าเมื่อเริ่มต้นทดลอง (อายุไก่ 10 สัปดาห์) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ค่าที่ได้นำไปคำนวณน้ำหนักตัวเพิ่ม และน้ำหนักตัวเพิ่มเฉลี่ยต่อวัน (Average daily gain; ADG) ส่วนปริมาณอาหารที่กิน บันทึกทุกครั้งที่ให้ และนำมาคำนวณโดยหักอาหารเหลือออกเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่อายุ 16 สัปดาห์ จากนั้นคำนวณเป็นค่าปริมาณอาหารที่กินตลอดการทดลอง 6 สัปดาห์ (อายุไก่ 11-16 สัปดาห์) และปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (Average daily feed intake, ADFI) ส่วนอัตราการตาย พิกการ หรือความผิดปกติอื่น ๆ บันทึกทุกครั้งที่พบเห็น

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ตามความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ตามที่บ่งไว้โดย จรัญ (2549)

ผลการทดลองและวิจารณ์

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์แสดงไว้ในตารางที่ 2 ปรากฏว่าค่า CP, CF และ EE ของอาหารทดลองทุกสูตร มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่คำนวณไว้ เช่น ค่า CP ใน 2 สูตรแรก มีโปรตีนระดับ 17.73-17.76% ส่วน 2 สูตรหลังมีโปรตีน 15.26-15.89% โดยแตกต่างกันประมาณ 2% ใกล้เคียงกับสูตรที่คำนวณไว้ คือ 17 และ 15% CP ตามลำดับสำหรับค่า ME นั้น แม้ว่าจะไม่ได้ทำการวิเคราะห์โดยตรง แต่อาจสังเกตได้จากค่าของ EE ในอาหารพลังงานสูง (3.2 kcal ME/g) ซึ่งมีค่าสูงกว่า EE ของสูตรอาหารที่มีพลังงานต่ำ (2.9 kcal ME/g) การที่ผลวิเคราะห์มีค่าใกล้เคียงกับสูตรที่คำนวณไว้ แสดงว่า ผู้วิจัยได้พยายามคัดสรรวัตถุดิบที่ใช้ทดลองให้มีคุณภาพใกล้เคียงกับที่ระบุไว้ใน การสร้างสูตรอาหาร และการผสมอาหารมีความถูกต้อง

สมรรถภาพการผลิต

จากการให้อาหารทดลอง 6 สัปดาห์ ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 3 ปรากฏว่าไม่พบนัยสำคัญของค่า interaction ระหว่างปัจจัยหลัก (CP และ ME) ที่ระดับต่างกัน จึงพิจารณาแต่ละปัจจัย พบว่า ระดับ CP ในอาหารที่แตกต่างกัน (17 vs. 15%) ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ต่อสมรรถภาพการผลิต (น้ำหนักตัวเพิ่ม ADG ปริมาณอาหารที่กิน FCR และอัตราการตาย) ส่วนปัจจัยด้านพลังงาน พบว่า กลุ่มที่ได้รับ ME ระดับต่ำ (2.9 kcal/g) มีสมรรถภาพการผลิตดีกว่ากลุ่มที่ได้รับ ME ระดับสูง (3.2 kcal/g) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ มีน้ำหนักตัวเพิ่ม 0.61 vs. 0.58 กก. ($P<0.01$), ADG 14.58 vs. 13.56 ก. ($P<0.05$) และกินอาหารมากกว่า 2.72 vs. 2.60 กก. ($P<0.01$) แต่มีอัตราแลกน้ำหนัก (FCR) และอัตราการตายไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$)

สาเหตุที่ไก่กลุ่มที่ได้รับอาหาร ME ระดับต่ำ (2.9 kcal/g) กินอาหารมากกว่าและมีน้ำหนักตัวเพิ่มสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ ME สูงนั้น อาจเนื่องมาจากไก่กลุ่มนี้ได้รับพลังงานในอาหารไม่เพียงพอ จึงต้องกินอาหารเพิ่มขึ้นเพื่อให้ได้พลังงานตามความต้องการ สอดคล้องกับ

Table 1. Feed formulation and chemical composition of experimental diets during 11-16 weeks of age

CP levels in diet (%)	17		15	
ME levels in diet (kcal/g)	3.2	2.9	3.2	2.9
<i>Ingredients:</i>				
Corn	62.96	62.91	69.10	65.95
Fine rice bran	10.00	10.00	10.00	10.00
Rough rice bran	-	4.06	-	5.83
SBM (44% CP)	16.92	16.49	12.07	12.03
FM (59.5% CP)	4.50	4.50	4.00	4.00
Rice bran oil	3.59	-	2.64	-
Dicalcium-PO ₄	0.56	0.56	0.69	0.69
Oyster Shell	0.97	0.98	1.00	1.00
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25
Premix ¹	0.25	0.25	0.25	0.25
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
<i>Calculated chemical composition (% air dry basis)</i>				
CP	17.00	17.00	15.00	15.00
ME (kcal/g)	3.20	2.90	3.20	2.90
CF	3.71	5.25	3.61	5.78
EE	8.13	4.59	7.22	4.56
Ca	0.80	0.80	0.80	0.80
P available	0.35	0.35	0.35	0.35
Lys	0.88	0.88	0.74	0.74
Met	0.32	0.32	0.29	0.29
Thr	0.63	0.63	0.55	0.55
Trp	0.20	0.20	0.17	0.17
Feed price (Baht/kg) ²	12.95	11.70	12.22	11.15

¹ mg/kg feed unless otherwise noted : Vitamins; A 10,000 IU, D₃ 2,500 IU, E 10, K₃ 1, B₁ 0.81, B₂ 3.6, B₆ 0.82, B₁₂ 0.005, Nicotinic acid 15, Pantothenic acid 9, Folic acid 0.4, Biotin 0.0125, Choline chloride 65.25: Minerals; Fe 40, Cu 7, Mn 70, Zn 60, Co 0.2, I 1, Se 0.1; Antioxidant 0.675 and preservative 25

² Ingredient price (Baht/kg): Corn: 9.00, Fine rice bran: 11.00, Rough rice bran: 3.00, SBM (44% CP): 15.30, FM (59.5% CP): 42.00, Rice bran oil: 36.20, Dicalcium-PO₄: 10.50, Oyster shell: 2.00, Salt: 5.00, Premix: 125.00

Table 2. Chemical composition of Royal Project Black-bone chicken diets¹

Chemical composition (%)	DM	CP	EE	CF
Diet 17% CP 3.2 kcal ME/g	90.20	17.76	8.85	3.88
Diet 17% CP 2.9 kcal ME/g	89.70	17.73	5.40	4.67
Diet 15% CP 3.2 kcal ME/g	90.70	15.26	7.80	3.51
Diet 15% CP 2.9 kcal ME/g	90.40	15.89	5.33	5.92

¹ Analyzed at Feed Lab., Dept. of Animal and Aquatic Sciences, Fac. of Agriculture, Chiang Mai University

Table 3. Production performance of Royal Project Black-bone chicken fed diets containing varying levels of CP and ME during 11-16 weeks of age

Main factor	CP (%): A		ME (kcal/g): B		Probability			S.E.M.
CP levels in diet (%)	17	15	3.2	2.9	A	B	AxB	
Initial BW (kg)	0.84	0.82	0.83	0.84	ns	ns	ns	0.01
Final BW (kg)	1.44	1.41	1.41	1.45	ns	ns	ns	0.01
BW gain (kg)	0.60	0.59	0.58 ^b	0.61 ^a	ns	**	ns	0.01
ADG (g)	14.41	13.72	13.56 ^b	14.58 ^a	ns	*	ns	0.16
FI (kg)	2.67	2.65	2.60 ^b	2.72 ^a	ns	**	ns	0.01
ADFI (g)	63.61	63.14	61.94 ^b	64.80 ^a	ns	**	ns	0.26
FCR	4.42	4.61	4.58	4.45	ns	ns	ns	0.05
Mortality (%)	0.00	1.19	1.19	0.00	ns	ns	ns	0.60

^{a, b} Values within row with no common superscripts are significantly different, * ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$)

รายงานของ Scott (1984) ที่กล่าวว่า ไก่กินอาหารเพื่อให้ได้พลังงานตามที่ร่างกายต้องการ เมื่อได้รับพลังงานเพียงพอแล้วจึงหยุดกิน อีกทั้งยังสอดคล้องกับ สุชน และคณะ (2543) ที่พบว่าไก่ลูกผสมพื้นเมืองช่วงอายุ 1-13 สัปดาห์กินอาหารเพิ่มขึ้นตามการลดระดับ ME ในอาหาร ส่งผลให้น้ำหนักตัวเพิ่มสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานสูง นอกจากนี้ ปฏิวัติ และคณะ (2560) ที่ให้ไก่กระดูกดำอายุ 6-10 สัปดาห์ ได้รับอาหารที่มีพลังงาน 2.9 vs. 3.2 kcal/g ก็ได้ผลในทำนองเดียวกัน

เมื่อพิจารณาผลรายกลุ่ม ดังข้อมูลในตารางที่ 4 พบว่า ไก่ที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (17% CP, 2.9 kcal ME/g) มีสมรรถภาพการผลิตดีกว่ากลุ่ม 1, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ มีน้ำหนักตัวเพิ่ม 0.64 vs. 0.57, 0.56 และ 0.59 กก.; ADG 15.15 vs. 13.68, 13.44 และ 14.00 ก. และ FCR 4.34 vs. 4.51, 4.65 และ 4.57 รวมทั้งมี FCG ต่ำกว่าด้วย (50.74 vs. 58.41, 56.84 และ 50.91

บาท/น้ำหนักเพิ่ม 1 กก.) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไก่กลุ่มดังกล่าวกินอาหารมากกว่า (65.63 vs. 61.58, 62.30 และ 63.97 ก./วัน) ทำให้ได้รับสารอาหาร เช่น โปรตีนมากกว่า (11.17 vs. 10.47, 9.36 และ 9.59 ก./วัน ตามลำดับ) และได้รับกรดอะมิโนที่จำเป็นสูงกว่ากลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามไก่ที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 จะมีต้นทุนในการเพิ่มน้ำหนัก (FCG) ต่ำลง เนื่องจากต้นทุนค่าอาหารต่อตัวของไก่แปรผันตรงกับปริมาณการกินอาหารของไก่กล่าวคือ ไก่มีประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงจึงทำให้ต้นทุนค่าอาหารลดลงตามไปด้วย (มนัสนันท์ และคณะ, 2560) จึงนับว่าอาหารสูตรนี้เหมาะสมที่สุดสำหรับไก่กระดูกดำสายพันธุ์โครงการหลวง ช่วงอายุ 11-16 สัปดาห์

ผลสรุปสูตรอาหารที่เหมาะสมที่ได้ในครั้งนี้ ต่างจากรายงานของสุชน และคณะ (2559) ที่อ้างว่า ไก่กระดูกดำโครงการหลวงช่วงอายุ 11-13 สัปดาห์ ควรได้รับอาหารที่มี 17% CP, 3.2 kcal ME/g ในขณะที่ผลจาก

Table 4. Production performance and nutrient intake of Royal Project Black-bone chicken fed diets containing varying levels of CP and ME during 11-16 weeks of age (showing by treatment)

CP levels in diet (%)	17		15		S.E.M.
ME levels in diet (kcal/g)	3.2	2.9	3.2	2.9	
<i>Production performance:</i>					
Initial BW (kg)	0.85	0.84	0.83	0.83	0.01
Final BW (kg)	1.42 ^b	1.48 ^a	1.39 ^b	1.42 ^b	0.01
BW gain (kg)	0.57 ^b	0.64 ^a	0.56 ^b	0.59 ^b	0.01
ADG (g)	13.68 ^b	15.15 ^a	13.44 ^b	14.00 ^b	0.16
FI (kg)	2.59 ^c	2.76 ^a	2.62 ^{bc}	2.69 ^{ab}	0.01
ADFI (g)	61.58 ^c	65.63 ^a	62.30 ^{bc}	63.97 ^{bc}	0.26
FCR	4.51 ^a	4.34 ^b	4.65 ^a	4.57 ^a	0.05
FCG (Baht/ kg BW gain)	58.41 ^a	50.74 ^b	56.84 ^a	50.91 ^b	0.57
Mortality (%)	0.00	0.00	2.38	0.00	0.60
<i>Nutrient intake (g/day):</i>					
CP	10.47 ^b	11.17 ^a	9.36 ^c	9.59 ^c	0.04
ME (kcal/d)	197.08 ^a	190.48 ^b	199.64 ^a	185.43 ^b	0.78
Met	0.20 ^b	0.21 ^a	0.18 ^c	0.19 ^c	0.01
Lys	0.54 ^b	0.58 ^a	0.46 ^c	0.47 ^c	0.01

^{a-c} Values within row with no common superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

การศึกษาในครั้งนี้ระบุว่า ควรให้อาหารที่มี CP ระดับเดียวกัน คือ 17% CP แต่ให้ ME ในระดับต่ำกว่า คือ 2.9 kcal ME/g ทั้งนี้อาจเป็นเพราะใช้เวลาศึกษานานขึ้นจาก 3 สัปดาห์เป็น 6 สัปดาห์ รวมทั้งอาจเนื่องจากไก่กระดูกดำโครงการหลวงสายพันธุ์นี้ยังจัดเป็นประเภทไก่พื้นเมืองที่มีการเจริญเติบโตช้า จึงตอบสนองต่ออาหารที่มี ME ระดับต่ำได้ดีกว่า ME ระดับสูง ดังผลในตารางที่ 3 และสอดคล้องกับรายงานของบุญญาวดี และคณะ (2544) ที่ศึกษาในไก่ลูกผสมพื้นเมืองสามสายเลือด ด้วยการให้อาหารที่มี CP และ ME ระดับต่างกัน (15 vs. 13 vs. 11% CP และ 3.2 vs. 2.9 vs. 2.6 kcal ME/g) ในช่วงไก่อายุ 11-13 สัปดาห์ พบว่า ระดับ CP และ ME ที่เหมาะสมของไก่ทั้งสองเพศควรได้รับ 15% CP, 2.6 kcal ME/g ซึ่งเป็น ME ระดับต่ำสุด

สรุป

อาหารที่มีระดับโปรตีนต่างกัน (17 และ 15%) ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิต แต่ไก่ที่กินอาหาร ME ระดับต่ำ (2.9 kcal/g) กินอาหารมากกว่า มีน้ำหนักตัวเพิ่ม และ ADG สูงกว่ากลุ่มกินอาหาร ME ระดับสูง (3.2 kcal/g) สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับไก่กระดูกดำสายพันธุ์โครงการหลวงช่วงอายุ 11-16 สัปดาห์ ควรมี 17% CP, 2.9 kcal ME/g เพราะทำให้น้ำหนักตัวเพิ่ม ADG, FCR และ FCG ดีกว่าอีก 3 กลุ่ม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ที่สนับสนุนทุนวิจัย และมูลนิธิโครงการหลวงที่สนับสนุนสัตว์ทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- จรัญ จันทลักษณ์. 2549. สถิติการวิเคราะห์และการวางแผนการวิจัย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 476 หน้า.
- บัญญัติ ธานินทร์ธรราร ระเบียบ ราชแพทยาคม กระจำง วิสุทธธรรมณ์ สมชัย จันทรสว่าง สุภาพร อธิสริโยดม อรทัย ไตรวุฒานนท์ และ ศิริลักษณ์ พรสุขศิริ. 2528. ส่วนประกอบทางเคมีและค่าทางโลหิตวิทยาของไก่เนื้อดำบางพันธุ์เปรียบเทียบกับไก่เนื้อสีขาว. รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัยการปรับปรุงการผลิตไก่เนื้อดำเพื่อการส่งตลาด. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- บุญญวดี ธัญชัย สุขน ตั้งทวีวัฒน์ และ บุญล้อม ชีวะ-อิสระกุล. 2544. ความต้องการพลังงานและโปรตีนของไก่ลูกผสมพื้นเมืองอายุ 11-13 สัปดาห์. หน้า 161-168. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 39 สาขาสัตวและสาขาสัตวแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ปฎิวัติ ผายทอง สุขน ตั้งทวีวัฒน์ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และ ศุภมิตร เมฆฉาย. 2560. ระดับโปรตีนและพลังงานใช้ประโยชน์ที่เหมาะสมในสูตรอาหารไก่กระดูกดำโครงการหลวงช่วงอายุ 6-10 สัปดาห์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 48(Suppl. 2): 47-54.
- มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี ศักดา ประจักษ์บุญเจษฎา ทับทิมทิพย์ อินทอง ชลธิชา ดวงดี และ วรางคณา กิจพิพิธ. 2560. ผลของการเสริมบีเทนแอนไฮดรัสในน้ำดื่มของไก่เนื้อต่อสมรรถภาพการผลิตการย่อยได้ของโภชนะลักษณะเลือด ลักษณะซาก และคุณภาพเนื้อ. วารสารเกษตร 33(1): 91-107.
- ศิริลักษณ์ พรสุขศิริ. 2530. การศึกษาลักษณะบางประการของไก่เนื้อดำและลูกผสมเกี่ยวกับการเจริญเติบโต คุณค่าทางอาหาร และลักษณะของเมดสีเมลานิน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 89 หน้า.
- สุขน ตั้งทวีวัฒน์ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และ รุ่งรัตน์ ปิงเมือง. 2543. ระดับโปรตีนและพลังงานที่เหมาะสมในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมืองระยะเจริญเติบโต. หน้า 100-113. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 38 สาขาสัตว สาขาสัตวแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุขน ตั้งทวีวัฒน์ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล วิไลพร ทัดทะ-รักษ์ ญัฐกานต์ มณีทอง ของอาจ สองสี ักญญรัตน์ พวงเจริญ วิจิต สนลอย และ ศุภกฤษ นาคกิตติ-เศรษฐ์. 2557. การคัดเลือกและปรับปรุงสายพันธุ์สัตว์ปีกเพื่อเป็นสัตว์เศรษฐกิจทางเลือกใหม่อย่างยั่งยืนบนพื้นที่สูง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน), กรุงเทพฯ. 207 หน้า.
- สุขน ตั้งทวีวัฒน์ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล ศุภมิตร เมฆฉาย ปฎิวัติ ผายทอง และ วิจิต สนลอย. 2559. การวิจัยและพัฒนาสูตรอาหารสำหรับไก่กระดูกดำและระบบการผลิตลูกไก่และการเลี้ยงขุนตามระบบการผลิตที่ดี (GAPs) ที่เหมาะสมกับพื้นที่สูง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน), เชียงใหม่. 95 หน้า.
- Bateson, W. and R.C. Punnett. 1911. The inheritance of the peculiar pigmentation of the Silkie fowl. Journal of Genetics 1(3): 185-203.
- Dorshorst, B., R. Okimoto and C. Ashwell. 2010. Genomic regions associated with dermal hyperpigmentation, polydactyly and other morphological traits in the Silkie chicken. Journal of Heredity 101(3): 339-350.
- Scott, M.L. 1984. Dietary Nutrient Allowances for Chickens, Turkeys. Feedstuffs Reference Issue 56(30): 64-66.

คุณภาพซาก องค์ประกอบเคมี และค่าเสถียรภาพออกซิเดชันของเนื้อไก่ลูกผสม พื้นเมืองของไทยกับไก่ไข่ ไก่พื้นเมืองไทย ไก่ไข่ และไก่กระທ

Carcass Quality, Chemical Composition, and Oxidative Stability of Meat of Crossbreds (Thai Indigenous Chickens Layer Breed), Thai Indigenous, Layer, and Broiler Chickens

ชลธิ แก้วคต¹ เจษฎา เรืองสุริยะ² และ สันชัย จตุรสิทธา^{1*}

Chonlathee Kaewkot¹, Jetsada Ruangsuriya² and Sanchai Jaturasitha^{1*}

¹ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

¹Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: ja.sanchai@gmail.com

(Received: 28 August 2017; Accepted: 8 December 2017)

Abstract: It was investigated whether crossbreeding of Thai native chickens with a layer chicken type improves carcass and meat quality in comparison to the respective purebred types and a commercial broiler type. Two-hundred 1-day old birds, 50 each of Pradu Hang Dam (Thai indigenous; PA), Rhode Island Red (RR), crossbred (CB = PA×RR), and broiler (Ross; BR) were kept in 20 pens per ten chickens. Birds were slaughtered either after 120 days (PA, CB and RR) or 45 days (BR). Body and carcass weight and breast proportion were highest for BR and lowest for PA and RR ($P<0.05$), and intermediate with CB. The PA, CB and RR chickens had a higher leg proportion than BR ($P<0.05$). The RR had most abdominal fat ($P<0.05$). The breast meat of PA and CB chickens were highest in a^* value when compare with RR and BR chickens, but lower L^* and b^* value ($P<0.05$). The breast meat of BR had the highest ($P<0.05$) intramuscular fat content, whereas the protein content of PA, CB and RR was higher than in BR ($P<0.05$). The breast meat of BR had the highest ($P<0.05$) drip loss percentage, while the lower shear force when compare with PA, CB and RR chickens ($P<0.05$). The content of malondialdehyde was higher ($P<0.05$) in breast meat of BR when compared with RR, CB and PA from day 3 of storage onwards. In conclusion, crossbreeding was beneficial with respect to carcass traits, even though the advantage over the pure lines was small compared with the difference to the commercial broilers. In the meat quality traits, inclusive of chemical, meat color, and oxidative stability, crossbreds did not differ from the pure lines, but all extensive types were superior to broilers in this trait.

Keywords: Meat quality, malondialdehyde, Pradu Hang Dam, Rhode Island Red

บทคัดย่อ: การศึกษาผสมข้ามพันธุ์ของไก่พื้นเมืองไทยกับไก่พันธุ์ไข่เพื่อช่วยเพิ่มคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อเมื่อเทียบกับชนิดไก่พันธุ์แท้และไก่เนื้อในเชิงพาณิชย์ ใช้ไก่อายุ 1 วันทั้งหมด 200 ตัว พันธุ์ละ 50 ตัว คือ พันธุ์พื้นเมืองไทย (PA) พันธุ์โรดไอแลนด์เรด (RR) พันธุ์ลูกผสม (CB = PA × RR) และไก่เนื้อ (Ross; BR) โดยแบ่งเป็น 20 คอก คอกละ 10 ตัว ไก่จะถูกฆ่าเมื่อมีอายุครบ 120 วัน (PA, CB และ RR) หรือ 45 วันสำหรับไก่เนื้อ (BR) น้ำหนักมีชีวิต น้ำหนักซากและปริมาณกล้ามเนื้ออกมีปริมาณสูงสุดในไก่พันธุ์ BR และและมีปริมาณต่ำสุดในกลุ่ม PA และ RR ($P < 0.05$) และระดับปานกลางสำหรับไก่พันธุ์ CB ไก่พันธุ์ PA, CB และ RR มีสัดส่วนของกล้ามเนื้อขา สูงกว่าไก่พันธุ์ BR ($P < 0.05$) ไก่พันธุ์ RR มีไขมันช่องท้องที่สูงที่สุด ($P < 0.05$) กล้ามเนื้ออกไก่พันธุ์ PA และ CB มีค่า a^* สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไก่พันธุ์ RR และ BR แต่มีค่า L^* และ b^* ที่ต่ำ กล้ามเนื้ออกของไก่พันธุ์ BR มีไขมันแทรกกล้ามเนื้อสูงที่สุดขณะที่ปริมาณโปรตีนของไก่พันธุ์ PA, CB และ RR มีปริมาณมากกว่าไก่พันธุ์ BR ($P < 0.05$) กล้ามเนื้ออกไก่ BR มีค่า drip loss สูงที่สุด ($P < 0.05$) ขณะที่ค่า shear force ต่ำสุดเมื่อเทียบกับไก่พันธุ์ PA, CB และ RR ($P < 0.05$) ค่า malondialdehyde มีค่าสูงสุด ($P < 0.05$) มีค่าสูงสุดในไก่พันธุ์ BR เทียบกับไก่พันธุ์ RR, CB และ PA หลังจาก 3 วันเป็นต้นไป กล่าวสรุปได้ว่าไก่พันธุ์ลูกผสมมีประโยชน์ในด้านลักษณะซากดีกว่าพันธุ์แท้ที่มีขนาดตัวเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับไก่เนื้อเชิงพาณิชย์ ด้านคุณภาพเนื้อ เช่น องค์ประกอบทางเคมี สีของเนื้อและ ค่าความชื้นของเนื้อไก่ลูกผสมไม่มีความแตกต่างจากไก่พันธุ์แท้แต่มีคุณภาพเนื้อที่ดีกว่าไก่เนื้อเชิงพาณิชย์

คำสำคัญ: คุณภาพเนื้อ malondialdehyde ไก่ประดู่หางดำ ไก่โรดไอแลนด์เรด

คำนำ

การบริโภคเนื้อสัตว์ปีกมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีราคาต่ำกว่าเนื้อสัตว์จากแหล่งอื่นและมีปริมาณพอเหมาะสำหรับบริโภคภายในครัวเรือน เนื้อสัตว์ปีกที่นิยมบริโภคคือ เนื้อไก่ ซึ่งได้จากการเลี้ยงในเชิงธุรกิจ การค้าและการเลี้ยงในครัวเรือน การเลี้ยงไก่พื้นเมืองถือเป็นอีกอาชีพหนึ่งที่เกษตรกรให้ความสนใจเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากราคาจำหน่ายเนื้อไก่พื้นเมืองในท้องตลาดสูงกว่าไก่เนื้อทั่วไปและได้รับความนิยมในการบริโภคเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากเนื้อไก่พื้นเมืองมีส่วนประกอบของโปรตีนและไขมันที่เหมาะสม รสชาติอร่อย มีไขมันสะสมน้อย ไม่ยุ่ยเหมือนเนื้อไก่กระທงที่มีขายในท้องตลาดทำให้ไก่พื้นเมืองมีราคาแพงกว่าไก่เนื้อประมาณ 1 เท่า (Wattanachant *et al.*, 2004) ไก่ประดู่หางดำจัดเป็นไก่พื้นเมืองสายพันธุ์หนึ่งของไทย และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากกว่าไก่กระທง (Pripwai *et al.*, 2014) แต่ข้อด้อยของไก่พื้นเมืองคือ การเจริญเติบโตช้าและให้ผลผลิตต่ำ (Wang *et al.*, 2009) เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค ไก่พื้นเมืองควรได้รับการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต โดยการผสมข้ามไก่พันธุ์

ระหว่างพ่อไก่พื้นเมืองกับแม่พันธุ์ไข่กึ่งไข่กึ่งเนื้อ เช่น ไก่โรดไอแลนด์เรด หรือแม่พันธุ์ผสมที่นำเข้าจากต่างประเทศ (อานวย และคณะ, 2552) ไก่สายพันธุ์ลูกผสมเกิดจากการผสมข้าม 2 พันธุ์ (two-ways crossbred) เป็นการเอาข้อดีของไก่แต่ละพันธุ์ของรุ่นพ่อแม่มาไว้ในตัวลูกผสมที่เกิดขึ้น (F1) มาจากอิทธิพลของยีนตำแหน่งต่าง ๆ อยู่ในรูป heterozygous และทำให้ลูกผสมที่ได้เกิดลักษณะ hybrid vigor คือลูกผสมที่ได้มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี ให้ผลผลิตสูง (ศุภมิตร, 2548) วัตถุประสงค์ในการผสมข้ามเพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตด้านการเจริญเติบโต (growth rate) ที่ดีขึ้นและรวดเร็วขึ้น โดยใช้น้ำหนักตัวและจำนวนวันในการเลี้ยงเป็นมาตรฐานในการคัดเลือก ซึ่งลักษณะรูปร่าง (body conformation) เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความเป็นกล้ามเนื้อ (Hunton, 1990)

ลักษณะซาก นับเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์อย่างหนึ่ง ต่อการปรับปรุงการผลิตสัตว์ให้ตรงตามเป้าหมาย ข้อมูลลักษณะซากที่สำคัญ เช่น เปอร์เซ็นต์ซาก (dressing percentage) เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตัดแต่ง (retail cut) ประกอบด้วยเนื้ออก เนื้อสะโพก เนื้อน่อง ปีก และเปอร์เซ็นต์ต่อวัยระยะภายใน ปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพซาก

ประกอบด้วย ปัจจัยอันเนื่องมาจากตัวสัตว์โดยเฉพาะลักษณะทางพันธุกรรม และลักษณะเฉพาะตัวของสัตว์ เช่น เพศ อายุ ตำแหน่งของเนื้อ รวมทั้ง การเลี้ยงดูและการจัดการ ก็ส่งผลต่อคุณภาพซากด้วยเช่นกัน (สัญญาชัย, 2550) อายุเข้าฆ่า พันธุ์ และระดับอัตราพันธุกรรมมีผลต่อลักษณะซาก ซึ่งอุดมศรี และคณะ (2539) รายงานว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักหลังฆ่าของ ไก่ลูกผสมพื้นเมือง x โรดไอแลนด์เรด เท่ากับ 89.05% และเปอร์เซ็นต์ซากที่บริโภคได้คิดจากน้ำหนักมีชีวิต เท่ากับ 75.04 ส่วนคุณภาพเนื้อเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคให้ความสำคัญ คุณภาพเนื้อของไก่สามารถวิเคราะห์ได้จากลักษณะทางกายภาพ เช่น สีของเนื้อ ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ รวมทั้งความยาวของซาร์โคเมอร์ และค่าองค์ประกอบเคมีของเนื้อ เช่น ปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้น อีกทั้งยังรวมถึงการประเมินค่าการหืนของเนื้อ (thiobarbituric acid, TBA) เกิดจากปฏิกิริยา oxidation ของกรดไขมันและระยะเวลาในการเก็บเนื้อที่ส่งผลให้เนื้อและไขมันมีกลิ่นเหม็นหืน ซึ่งมีผลต่อคุณภาพเนื้อด้านอื่น ๆ เช่น กลิ่นและรสชาติ รวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการ ความแตกต่างของพันธุ์ น้ำหนักเข้าฆ่า ชนิดของกล้ามเนื้อ และอาหารที่มีผลต่อการสะสมไขมันของสัตว์ ปริมาณของไขมันมีผลต่อการหืนของเนื้อนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวในเนื้อ (Sims and Fioriti, 1991) ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และค่า oxidation ของเนื้อของไก่ลูกผสมพื้นเมืองของไทยกับไก่ไข่ เปรียบเทียบกับ ไก่พื้นเมืองของไทย ไก่ไข่ และไก่กระທး เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

แผนการทดลอง

การทดลองนี้ใช้ไก่โคลเพศจำนวน 200 ตัว อายุแรกเกิด แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ ไก่ประดู่หางดำ(PA) ไก่ลูกผสม (ระหว่างไก่ประดู่หางดำ และไก่โรดไอแลนด์เรด; CB) ไก่โรดไอแลนด์เรด (RR) และไก่กระທးสายพันธุ์อรุส 308 (BR) โดยใช้ไก่พันธุ์ละ 50 ตัวโดยแบ่งเป็น 5 ซ้ำ ๆ ละ

10 ตัว เลี้ยงไก่ทดลองที่ฟาร์มภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 วัน สำหรับไก่ประดู่หางดำ ไก่ลูกผสม และไก่โรดไอแลนด์เรด แต่สำหรับไก่กระທะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 45 วัน เพื่อไก่ทั้งหมดได้น้ำหนักตลาด (market size) ช่วงน้ำหนัก 1.50-2.00 กิโลกรัม ไก่ได้รับน้ำและอาหารเต็มที่ตามความต้องการ (*ad libitum*) โปรแกรมการให้อาหารสำหรับไก่พันธุ์ประดู่หางดำ ไก่ลูกผสม และไก่โรดไอแลนด์เรด แบ่งออกเป็น 3 ระยะคือ ระยะแรกเกิด ช่วง 0-3 สัปดาห์ให้อาหารที่มีโปรตีน 20 เปอร์เซ็นต์ พลังงานไม่น้อยกว่า 3,000 kcal/kg ระยะที่ 2 ช่วง 3-10 สัปดาห์ให้อาหารที่มีโปรตีน 18 เปอร์เซ็นต์ พลังงานไม่น้อยกว่า 3,000 kcal/kg ระยะที่ 3 ช่วง 10-16 สัปดาห์ให้อาหารที่มีโปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์ พลังงานไม่น้อยกว่า 2,800 kcal/kg สำหรับอาหารของไก่กระທะพันธุ์อรุส 308 แบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือระยะแรกเกิดช่วง 0-18 วันให้อาหารที่มีโปรตีน 23 เปอร์เซ็นต์ พลังงานไม่น้อยกว่า 3,180 kcal/kg ระยะที่ 2 ช่วง 19-30 วันให้อาหารที่มีโปรตีน 20 เปอร์เซ็นต์ พลังงานไม่น้อยกว่า 3,180 kcal/kg ระยะช่วง 30-45 สัปดาห์ให้อาหารที่มีโปรตีน 18 เปอร์เซ็นต์ พลังงานไม่น้อยกว่า 3,200 kcal/kg ไก่ทดลองทุกตัวได้รับอาหารสำเร็จรูปตามคำแนะนำของ NRC (1994)

การศึกษาคุณลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ

นำไก่ทดลองทั้งหมด เข้ามาเพื่อศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลด้านลักษณะซาก โดยทำการถอดอาหารก่อนฆ่าเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนักมีชีวิตรายตัว (slaughter weight) ก่อนฆ่าและหลังฆ่าบ่มซากที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตัดแต่งชิ้นส่วนซาก โดยจะชั่งน้ำหนักชิ้นส่วนซากได้แก่ กล้ามเนื้ออก สะโพก และไขมันช่องท้อง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของแต่ละชิ้นส่วนต่อน้ำหนักซากเย็น ตามหลักการฆ่าไก่ของ สัญชัย (2550) วัดค่าพีเอชของเนื้อ (pH) ด้วย pH-meter (Model 191, Knick, D-Berlin, Germany) โดยใช้ pH electrode แทะเข้าไปในเนื้ออก (*Pectoralis major*) ลึกประมาณ 0.5 เซนติเมตรและทำการวัดสีกล้ามเนื้ออกด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter

(Model CR - 300, Minolta Camera Co., Ltd., Osaka, Japan) ได้แก่ ค่าความสว่าง (lightness: L^*) ค่าความเป็นสีแดง (redness: a^*) และสีเหลือง (yellowness: b^*) ที่ 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของกล้ามเนื้ออก (water holding capacity) ประกอบด้วย thawing loss, cooking loss และ drip loss ตามวิธีการของ สัญชัย (2553), Ao *et al.* (2011) และ Liu *et al.* (2012) แล้วนำไปวัดค่าแรงตัดผ่านกล้ามเนื้ออกด้วยเครื่อง texture analyser (Model TA.XT2, Stable Micro Systems., Ltd., London, England) จากนั้นเก็บกล้ามเนื้ออกบดละเอียดแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อประกอบด้วยเปอร์เซ็นต์ความชื้น โปรตีน และไขมันตามวิธีของ AOAC (1995) และวิเคราะห์หาค่าการออกซิเดชันหรือค่าการหืน (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) ตามวิธีของ Rossell (1994)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของไก่แต่ละพันธุ์จะถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ด้วยโปรแกรม SAS 6.12 (SAS, 1997) กำหนดค่านัยสำคัญที่ใช้ในการทดสอบที่ $P < 0.05$

ผลการทดลองและวิจารณ์

ลักษณะซาก

พันธุ์ของไก่มีผลต่อน้ำหนักมีชีวิต น้ำหนักซาก และองค์ประกอบซาก (ตารางที่ 1) น้ำหนักมีชีวิต น้ำหนักซากและเปอร์เซ็นต์ของกล้ามเนื้ออกของไก่ BR มีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามด้วยไก่ CB และมีค่าต่ำสุดในไก่ PA และ RR ในทางตรงกันข้ามเปอร์เซ็นต์ไขมันของไก่ PA, CB และ RR สูงกว่าไก่ BR อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) เปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้องของไก่ RR มีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) ขณะที่ไก่ PA และไก่ CB มีค่าต่ำที่สุด สอดคล้อง Tang *et al.* (2009) รายงานว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้า (slow-growing type) มีเปอร์เซ็นต์ไขมันสูงกว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว (fast-growing type) ปริมาณไขมันช่องท้องของไก่ RR ที่เพิ่มมากขึ้นอันเนื่องมาจากอิทธิพลของพันธุ์ การปรับตัวกับสภาพแวดล้อม และการเตรียมตัวเพื่อการวางไข่ อิทธิพลของพันธุ์มีผลต่อการสร้างและการเจริญเติบโตของกล้ามเนื้อของสัตว์ที่แตกต่างกัน (Cunningham and Acker, 2001)

คุณภาพเนื้อ

ลักษณะกายภาพและคุณภาพเนื้อของกล้ามเนื้ออกไก่แต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 2) ค่า pH ที่ 24 ชั่วโมง ของไก่พันธุ์ PA, CB และ RR มีค่าต่ำกว่าไก่พันธุ์ BR อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.001$) เห็นได้ว่า ไก่พื้นเมืองไทยมีค่า pH ในกล้ามเนื้ออกและสะโพก ต่ำกว่าไก่กระพง (Wattanachant *et al.*, 2004)

Table 1. Body weight, carcass weight and carcass composition of chicken different

Criteria	Genotype				P-value
	PA	CB	RR	BR	
Body weight (g)	1,827 ± 39 ^c	1,894 ± 36 ^b	1,825 ± 33 ^c	2,136 ± 25 ^a	0.001
Carcass weight (g)	1,268 ± 30 ^c	1,376 ± 31 ^b	1,254 ± 23 ^c	1,567 ± 21 ^a	0.001
Breast yield (%)	15.1 ± 0.0 ^c	16.2 ± 0.1 ^b	15.0 ± 0.1 ^c	27.1 ± 0.8 ^a	0.001
Leg yield (%)	29.7 ± 0.2 ^a	30.3 ± 0.1 ^a	30.4 ± 0.2 ^a	27.1 ± 0.4 ^b	0.001
Abdominal fat (%)	1.76 ± 0.2 ^c	2.64 ± 0.1 ^b	3.25 ± 0.1 ^a	2.57 ± 0.1 ^b	0.001

PA, Pradu Hang Dam; CB, crossbreds; RR, Rhode Island Red; BR, broilers

^{a-c} Means ± SD within a row with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$)

Table 2. Ultimate pH, meat color, chemical composition, water holding capacity, and malondialdehyde (MDA) content of breast muscle from chicken different

Criteria	Genotype				P-value
	PA	CB	RR	BR	
Ultimate pH	6.63 ± 0.05 ^b	6.59 ± 0.03 ^b	6.54 ± 0.04 ^b	6.79 ± 0.06 ^a	0.006
Meat color					
L*(lightness)	54.09 ± 0.86 ^b	54.54 ± 0.48 ^b	59.37 ± 0.49 ^a	60.55 ± 0.54 ^a	0.001
a*(redness)	1.89 ± 0.01 ^a	1.65 ± 0.01 ^a	0.84 ± 0.09 ^b	0.95 ± 0.01 ^b	0.001
b*(yellowness)	14.85 ± 0.26 ^b	14.78 ± 0.25 ^b	16.79 ± 0.38 ^a	16.95 ± 0.20 ^a	0.001
Chemical composition %					
Moisture	74.74 ± 0.03	74.84 ± 0.03	74.89 ± 0.05	74.85 ± 0.02	0.760
Protein	23.77 ± 0.13 ^a	23.75 ± 0.09 ^a	23.56 ± 0.13 ^a	23.05 ± 0.17 ^b	0.001
Fat	1.47 ± 0.17 ^b	1.39 ± 0.11 ^b	1.53 ± 0.15 ^b	2.09 ± 0.15 ^a	0.001
Water holding capacity, %					
Thawing loss	21.07 ± 0.19 ^a	20.18±0.26 ^a	15.82 ± 0.49 ^b	16.02 ± 0.76 ^b	0.001
Cooking loss	19.10 ± 0.25	18.95±0.34	18.71 ± 0.28	18.66 ± 0.51	0.773
Drip loss 24 h	9.26 ± 0.41 ^b	9.66±0.80 ^b	10.11 ± 0.85 ^b	12.54 ± 0.64 ^a	0.003
Shear force (N)	2.59 ± 0.14 ^a	2.13±0.11 ^a	2.05 ± 0.12 ^b	1.96 ± 0.12 ^b	0.008
TBARS, µg of malondialdehyde/kg meat					
Day 0	25 ± 0	29±2	54 ± 17	63 ± 17	0.113
Day 3	155 ± 0 ^b	183±12 ^b	181 ± 13 ^b	298 ± 10 ^a	0.001
Day 6	247 ± 20 ^b	262±31 ^b	262 ± 1 ^b	448 ± 30 ^a	0.025
Day 9	403 ± 21 ^b	427±15 ^b	475 ± 15 ^b	644 ± 0 ^a	0.001

PA, Pradu Hang Dam; CB, crossbreds; RR, Rhode Island Red; BR, broilers

^{a-b} Means ± SD within a row with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$)

มีรายงานว่ากล้ามเนื้อสะโพกของไก่พื้นเมืองเกาหลี (Wangchoo) มีค่า pH ที่ลดลงเมื่อไก่มีอายุเพิ่มขึ้น (Sung *et al.*, 2000) การลดลงของค่า pH ในกล้ามเนื้ออก อาจมาจากความเครียดก่อนการฆ่าซึ่งจะมีการใช้ ไกลโคเจน ในกล้ามเนื้อทำให้เกิดการสะสมของกรดแลคติกซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่า pH ลดลง (Berri *et al.*, 2007) ค่าสีของกล้ามเนื้ออกจะแสดงโดยค่า ความสว่าง (lightness: L*) ค่าความเป็นสีแดง (redness: a*) และสีเหลือง (yellowness: b*) ไก่แต่ละพันธุ์มีการแสดงออกของค่าสีเนื้อที่แตกต่างกัน ไก่ RR และ BR มีค่า L* และค่า b* มีค่าสูงสุดแต่มีค่า a* ต่ำสุดเมื่อเทียบกับไก่พันธุ์ PA และ CB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) จากผล

การศึกษาแสดงให้เห็นว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้า (slow-growing type) จะมีค่าความเป็นสีแดงมากกว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว (fast-growing type) เพราะว่าโดยปกติไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้าจะมีอายุมากกว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว (Gordon and Charles, 2002)

จากการศึกษา Jaturasitha *et al.* (2008) รายงานว่าไก่พื้นเมืองไทยมีค่าความเป็นสีแดงเข้มสูงแต่จะมีค่าความสว่างของเนื้อต่ำเมื่อเทียบกับไก่กระທ (Chaosap and Tuntivisootikul, 2006) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ (Wattanachant *et al.*, 2004) รายงานว่ากล้ามเนื้ออกของไก่พื้นเมืองมีค่า L* และ ค่า b* สูงกว่าไก่กระທ ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการแสดงออกของค่าสี

ของเนื้อมาจาก pH ของกล้ามเนื้อที่ลดลง (Dadgar *et al.*, 2011) นอกจากนี้ ปัจจัยของพันธุ์ อาหาร และวงจรชีวิตในเม็ดเลือด (heme) มีผลต่อค่าสีของเนื้อ (Fletcher, 1999) ปัจจัยทางพันธุกรรมของไก่เป็นสาเหตุหลักที่ส่งผลต่อระดับไมโอโกลบินใน กล้ามเนื้อ (Berri *et al.*, 2001)

องค์ประกอบทางเคมีของกล้ามเนื้ออกของไก่แต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปริมาณความชื้นของกล้ามเนื้ออกไก่แต่ละพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยปกติในกล้ามเนื้ออกจะมีปริมาณความชื้นอยู่ที่ 76% (Shaarani *et al.*, 2006) กล้ามเนื้ออกไก่ BR มีเปอร์เซ็นต์ไขมันสูงที่สุดแต่มีปริมาณโปรตีนที่ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับไก่สายพันธุ์อื่น ($P<0.001$) สอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้าจะมีปริมาณโปรตีนที่สูง (Fanatico *et al.*, 2007) นอกจากนี้จากการศึกษาในไก่พื้นเมืองเกาหลีพบว่าปริมาณไขมันที่ต่ำกว่าไก่กระທ (Young and Choi, 2003) สอดคล้องกับการศึกษาที่ว่าอัตราส่วนความชื้นที่สูงจะส่งผลให้เนื้อมีปริมาณโปรตีนที่ต่ำของไก่ปลดระหว่างเมื่อเปรียบเทียบกับไก่กระທ (Nowsad *et al.*, 2000)

ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) เช่น thawing, cooking และ drip losses และค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ (shear force) ของกล้ามเนื้อไก่แต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกัน ค่า thawing loss ของไก่พันธุ์ PA และ CB มีค่าสูงกว่า ไก่พันธุ์ RR และ BR อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) และไก่พันธุ์ PA และ CB มีค่าแรงตัดผ่านของเนื้อสูงที่สุด ($P<0.001$) เมื่อเทียบกับไก่พันธุ์ RR และ BR สอดคล้องกับ Guan *et al.* (2013) ที่รายงานว่า ไก่กระທจะมีค่า drip loss สูงกว่าไก่พื้นเมืองของจีน ซึ่งเป็นไก่ที่มีการเจริญเติบโตช้า ซึ่งขัดแย้งกับการรายงานของ Tang *et al.* (2009) รายงานว่าไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว จะมีค่าการสูญเสีย น้ำต่ำ และจะมีค่าสูงสุดในไก่พื้นเมืองของจีนซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตช้า นอกจากนี้ Jaturasitha *et al.* (2008) รายงานว่าความแตกต่างของพันธุ์ ไม่ผลต่อค่าสูญเสีย น้ำ ค่า thawing และ cooking loss ของกล้ามเนื้ออก อย่างไรก็ตามค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อก็มีผลต่อ

ความชุ่มฉ่ำของเนื้อและความนุ่มของเนื้อ (Wang *et al.*, 2009)

ค่าออกซิเดชันของเนื้อโดยการตรวจค่าปริมาณของ malondialdehyde (MDA) พบว่าไก่พันธุ์ BR มีปริมาณของค่า MDA สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) เมื่อเปรียบเทียบกับไก่พันธุ์ RR, CB และ PA สอดคล้องกับการศึกษาของ Pikul and Kummerow (1990) รายงานว่าไก่กระທเป็นไก่ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว จึงมีการสะสมไขมันมากเป็นผลให้ไขมันในกล้ามเนื้อถูกออกซิเดชันได้มากเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Castellini *et al.* (2006) รายงานว่าไก่ Ross มีเปอร์เซ็นต์ไขมันในกล้ามเนื้ออกสูงกว่าไก่ Kabir ส่งผลให้ไก่ Ross มีค่า MDA สูงกว่าไก่ Kabir อย่างมีนัยสำคัญซึ่งพันธุ์มีผลต่อการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อโดยไก่ Kabir เป็นไก่ที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ช้าและมีกิจกรรมตลอดเวลาจึงทำให้มีการสะสมไขมันน้อย

สรุป

ที่น้ำหนักตลาดที่อายุ 120 วัน สามารถแสดงให้เห็นว่าไก่ลูกผสมพื้นเมืองมีลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ เทียบเท่ากับพันธุ์แท้แต่มีคุณภาพเนื้อที่ดีกว่าไก่กระທทั้งทางด้านกายภาพเช่น สี ค่าการสูญเสีย น้ำ ค่าการตัดผ่านของเนื้อ และค่าเคมี เช่น องค์ประกอบเคมี ค่าการหีนของเนื้อ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอบขอบคุณศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ เชียงใหม่ ที่สนับสนุนสัตว์ทดลอง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รวมทั้งสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช) ที่สนับสนุนงบวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ศุภมิตร เมฆฉาย. 2548. การปรับปรุงพันธุ์สัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 187 หน้า.
- สัญญาชัย จตุรสิทธา. 2550. การจัดการเนื้อสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 4. โรงพิมพ์มิ่งเมือง, เชียงใหม่. 170 หน้า.
- สัญญาชัย จตุรสิทธา. 2553. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์มิ่งเมือง, เชียงใหม่. 367 หน้า.
- อุดมศรี อินทรโชติ, รัชดาวรรณ พูนพิพัฒน์ และ กัลยา บุญญานวัตร. 2539. การเจริญเติบโตและคุณภาพซากของไก่ลูกผสมพื้นเมือง. หน้า 303-314. ใน: ประชุมทางวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 15 ประจำปี 2539. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- อำนาจ เลี้ยวธารากุล ศิริพันธ์ ไมราบ และ ชชาติ ประทุม. 2552. โครงการแนวทางสร้างการรับรู้ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ในกลุ่มผู้บริโภค. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.), กรุงเทพฯ. 83 หน้า.
- Ao, X., J.S. Yoo, T.X. Zhou, J.P. Wang, Q.W. Meng, L. Yan, J.H. Cho and I.H. Kim. 2011. Effects of fermented garlic powder supplementation on growth performance, blood profiles and breast meat quality in broilers. *Livestock Science* 141: 85-89.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 19th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Berri, C., N. Wacrenier, N. Millet and E. Le Bihan-Duval. 2001. Effect of selection for improved body composition on muscle and meat characteristics of broilers from experimental and commercial lines. *Poultry Science* 80: 833-838.
- Berri, C., E. Le Bihan-Duval, M. Debut, V. Sante-Lhoutellier, E. Baeza, V. Gigaud, Y. Jego and M.J. Duclos. 2007. Consequence of muscle hypertrophy on characteristics of pectoralis major muscle and breast meat quality of broiler chickens. *Journal of Animal Science* 85: 2005-2011.
- Castellini, C., A.D. Bosco, C. Mugnai and M. Pedrazzoli. 2006. Comparison of two chicken genotypes organically reared: oxidative stability and other qualitative traits of the meat. *Italian Journal of Animal Science* 5: 355-365.
- Chaosap, C. and K. Tuntivisoottikul. 2006. Carcass quality and some muscle properties of broiler, native, Sritong and Tanawsri chickens. pp. 230-239. In: P. Vichulta (ed.). *Proceedings of the 44th Annual Conference of the Kasetsart University, Bangkok, Thailand.* (in Thai)
- Cunningham, M. and D. Acker. 2001. *Animal Science and Industry*. Prentice-Hall, Inc., New York. 746 p.
- Dadgar, S., E.S. Lee, T. L.V. Leer, T.G. Crowe, H.L. Classen and P.J. Shand. 2011. Effect of acute cold exposure, age, sex, and lairage on broiler breast meat quality. *Poultry Science* 90: 444-457.
- Fanatico, A.C., P.B. Pillai, J.L. Emmert and C.M. Owens. 2007. Meat quality of slow-and fast-growing chickens genotypes fed low-nutrient or standard diets and raised indoors or with outdoor access. *Poultry Science* 86: 2245-2255.
- Fletcher, D.L. 1999. Broiler breast meat color variation, pH, and texture. *Poultry Science* 78: 1323-1327.
- Gordon, S.H. and D.R. Charles. 2002. *Niche and Organic Chicken Products: Their Technology and Scientific Principles*.

- Nottingham University Press, Nottingham. 320 p.
- Guan, R., F. Lyu, X. Chen, J. Ma, H. Jiang and C. Xiao. 2013. Meat quality traits of four Chinese indigenous chicken breeds and one commercial broiler stock. *Journal of Zhejiang University Science B* 14: 896-902.
- Hunton, P. 1990. Industrial breeding and selection. pp. 985-1028. *In: R.D. Crawford (ed.). Poultry Breeding and Genetics*. Elsevier, Amsterdam.
- Jaturasitha, S., T. Srikanchai, M. Kreuzer and M. Wicke. 2008. Differences in carcass and meat characteristics between chicken indigenous to northern Thailand (Black-boned and Thai native) and imported extensive breeds (Bresse and Rhode Island Red). *Poultry Science* 87: 160-169.
- Liu, X., H. Yan, L. Lv, Q. Xu, C. Yin, K. Zhang, P. Wang and J. Hu. 2012. Growth performance and meat quality of broiler chickens supplemented with *Bacillus licheniformis* in drinking water. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25: 682-689.
- Nowsad, A.A.M., S. Kanoh and E. Niwa. 2000. Thermal gelation characteristics of breast and thigh muscles of spent hen and broiler and their surimi. *Meat Science* 54: 169-175.
- NRC. 1994. Nutrient Requirement of Poultry. 9th ed. National Academy Press, Washington, D.C.
- Pikul, J. and F.A. Kummerow. 1990. Lipid oxidation in chicken muscles and skin after roasting and refrigerated storage of main broiler parts. *Journal of Food Science* 55: 30-37.
- Pripwai, N., W. Pattanawong, M. Punyatonong and T. Teltathum. 2014. Carcass characteristics and meat quality of Thai inheritance chickens. *Journal of Agricultural Science* 2: 182-188.
- Rossell, J.B. 1994. Measurement of rancidity. pp. 22-53. *In: J.C. Allen and R.J. Hamilton (eds.). Rancidity in Foods*. Blackie Academic and Professional, London.
- SAS. 1997. SAS Systems for Window. version 8.2. of SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shaarani, S.M., K.P. Nott and L.D. Hall. 2006. Combination of NMR and MRI quantitation of moisture and structure changes for convection cooking of fresh chicken meat. *Meat Science* 72: 398-403.
- Sims, R.J. and J.A. Fioriti. 1991. Antioxidant. pp. 483-505. *In: I. Goldberg and R. Williams (eds.). Biotechnology and Food Ingredients*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. MC Graw-Hill Book Company, New York. 631 p.
- Sung, S.K., T.M. Yang, Y.J. Kwon, J.D. Choi and D.G. Kim. 2000. The quality characteristics of Korean native chicken by the age. *Korean Journal of Animal Science and Technology* 42: 693-702.
- Tang, H., Y. Gong, C. Wu, J. Jiang, Y. Wang and K. Li. 2009. Variation of meat quality traits among five genotypes of chicken. *Poultry Science* 88: 2212-2218.
- Wang, G., J.X. Zheng, Z.C. Hou, L.J. Qu, N. Yang and G.Y. Xu. 2009. Comparison study on meat quality of AA broilers and Beijing fatty chickens. *China Poultry* 31: 11-18.
- Wattanachant, S., S. Benjakul and D.A. Ledward. 2004. Composition, color, and texture of Thai indigenous and broiler chicken muscles. *Poultry Science* 83: 123-128.

Young, H.T. and H.J. Choi. 2003. Studies on nutrient components between the Chungjung chicken meats and general chicken meats. Korean Journal of Food and Nutrition 16: 187-191.

ผลของเศษปลาหมักต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสารอาหารของปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*)

Effects of Fish Silage on Growth Performance, Feed and Nutrient Utilization of Red Tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*)

อนุรักษ์ เขียวขจรเขต^{1, 2*}

Anurak Khieokhajonkhet^{1, 2*}

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

¹Department of Agriculture Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources, and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

²ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

²Center for Agriculture Biotechnology, Faculty of Agriculture, Natural Resources, and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

*Corresponding author: Email: anurakk@nu.ac.th

(Received: 2 November 2017; Accepted: 15 February 2018)

Abstract: Fish silage (FS) is fish processing waste that contains a high amount of nutritional values. The remaining nutrients are important for growth development in the aquatic animals. This study was undertaken to investigate the suitability of using fish silage. A dried powder FS was used to prepare 5 experimental diets with different levels of FS inclusion (0, 25, 50, 75, and 100 percent of protein). All experimental diets were isonitrogenous and isolipidic diets. After 8 weeks of the feeding trial, the fish fed FS25 and FS50 exhibited high weight gain, average daily growth, specific growth rate, feed conversion ratio, digestibility of dry matter and protein, protein efficiency ratio, phosphorus retention, and nitrogen and phosphorus loading, but not significantly differed from the fish fed control diet ($P>0.05$). FS substitution of up to 75 percent (FS75 and 100) of the fish meal protein in control diet was negatively depressed growth performance. In addition, low protein digestibility leads to reduce growth performance, nutrients utilization resulting high nitrogen and phosphorus loaded. The feeding cost of fish fed FS25 and FS50 had the lowest value than the control diet. The results of the present study suggest that 50 percent of fish silage can potentially substitute protein in the fish meal without depressing growth performance and reduce nutrient loading into the water body.

Keywords: Fish silage, fish meal, protein replacement, red tilapia, nitrogen, phosphorus

บทคัดย่อ: เศษปลาหมัก (fish silage, FS) จากกระบวนการแปรรูปสัตว์น้ำเป็นเศษเหลือทิ้งที่ยังคงสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ จึงเป็นที่มาของศึกษานี้โดยกำหนดให้อาหารทดลองผสมด้วยเศษปลาหมักที่ระดับต่างๆ จำนวน 5 ระดับประกอบด้วย สูตรควบคุม (FS0) ไม่ผสมเศษปลาหมัก และมีแหล่งโปรตีนที่มาจากปลาป่นเป็นหลัก สูตรที่ 2-5 (FS25-FS100) ผสมเศษปลาหมักที่ระดับ 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของระดับโปรตีนในปลาป่นในสูตรควบคุมตามลำดับ โดยกำหนดให้มีโปรตีน และไขมันในระดับใกล้เคียงกัน จากการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตร FS25 และ FS50 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูง การเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบและโปรตีน ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การสะสมฟอสฟอรัส และการขับไนโตรเจนและฟอสฟอรัสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับสูตรควบคุม (FS0) ในขณะที่ปลานิลแดงที่ได้รับอาหาร FS75 และ 100 มีผลเชิงลบต่อการเจริญเติบโต และเมื่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำจะส่งผลต่อการเจริญเติบโต การนำสารอาหารไปประโยชน์ส่งผลต่อการขับไนโตรเจน และฟอสฟอรัสสูงอีกด้วย ด้านต้นทุนค่าอาหารพบว่าเมื่อใช้เศษปลาหมักที่ 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์มีผลให้อาหารมีต้นทุนที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม การทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเศษปลาหมักเป็นวัตถุดิบที่ศักยภาพต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และสามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้มากถึง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและสามารถลดการขับสารอาหารลงสู่แหล่งน้ำได้

คำสำคัญ: เศษปลาหมัก ปลาป่น การทดแทนโปรตีน ปลานิลแดง ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส

คำนำ

ปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่มีความสำคัญต่อการผลิตอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพ มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนครบถ้วน นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีการใช้ปลาป่นมากถึง 68 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณปลาป่นทั้งหมด (Brinker and Reiter, 2011) และมีความต้องการอย่างไม่จำกัด ส่งผลให้ปลาป่นมีราคาเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้มีการศึกษาแหล่งโปรตีนที่มีศักยภาพเทียบเท่าปลาป่น (Naylor et al., 2000) เศษปลาหมัก (FS) เป็นเศษเหลือจากการชำแหละปลาในท้องตลาด และรวมถึงเศษปลาจากโรงงานแปรรูปปลาเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ (วรวิทย์ และ ปรีดา, 2558) โดยพบว่าอุตสาหกรรมการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากปลามีเศษปลาหมักจำนวนมากถึง 65 เปอร์เซ็นต์ (อัจริ และคณะ, 2558) ซึ่งยังคงเป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำจึงเหมาะสำหรับการผลิตอาหารสัตว์น้ำเชิงอุตสาหกรรม (Olsen and Toppe, 2017) นพวรรณ และคณะ (2548) พบว่าเศษปลาหมักจากอุตสาหกรรมการแปรรูปปลา มีองค์ประกอบของโปรตีนมากถึง 74.05 เปอร์เซ็นต์ซึ่งสูงกว่าปลาป่นคุณภาพดี (Premium grade) ที่มีโปรตีน

60.39 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาของ Lapie และ Bigueras-Benitez (1992) พบว่าปลานิล (*Oreochromis* sp.) ที่ได้รับอาหารผสมเศษปลาหมักและปลาป่นในอัตราส่วน 1:1 และผ่านกระบวนการหมักด้วยกรดฟอร์มิกให้ผลการเจริญเติบโตเทียบเท่ากับปลาที่ได้รับอาหารจากปลาป่นเป็นหลัก ในขณะที่เมื่อเพิ่มสัดส่วนเศษปลาหมักต่อปลาป่นเป็น 3:1 พบว่าปลามีการเจริญเติบโตลดลง ทั้งนี้เนื่องจากค่าความเป็นกรดของอาหาร และปริมาณของเศษปลาหมักที่มากเกินไปส่งผลต่อความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหาร ส่วนในปลาแอทแลนติกแซลมอน (Atlantic salmon, *Salmo salar*) สามารถใช้เศษปลาหมักได้เพียง 15 เปอร์เซ็นต์โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต (Berge and Storebakken, 1996)

ปลานิลแดง (red tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจ และเป็นที่นิยมเพื่อการเพาะเลี้ยง (คณนา, 2559) โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือตอนล่าง เนื่องจากปลานิลแดงเป็นสัตว์น้ำที่เลี้ยงง่าย ด้านทานโรค และทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี (จาตุรนต์ และชนกันต์, 2560) นอกจากนี้ปลานิลแดงยังเป็นสัตว์น้ำที่กินอาหารได้หลากหลายชนิด หรืออยู่ในกลุ่มที่กินได้ทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous fish) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์จากเศษปลาหมักต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การใช้โปรตีน การใช้ประโยชน์จากไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในปลานิลแดง

วิธีการศึกษา

อนุบาลลูกปลานิลแดง (ขนาดประมาณ 1 กรัม ต่อตัว) ในถังขนาดความจุ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปชนิดปลากินพืชที่มีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมันไม่ต่ำกว่า 7 เปอร์เซ็นต์ วันละ 2 ครั้งคือ เวลา 09.00 และ 16.00 นาฬิกา จนกว่าจะอิ่ม (fed-satiation) เมื่อลูกปลาได้ขนาดเริ่มต้นสำหรับการทดลองที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 3-4 กรัมต่อตัว ทำการชั่งน้ำหนักและย้ายลูกปลาลงตู้ทดลอง โดยกำหนดให้แต่ละชุดการทดลองมีปลาจำนวน 20 ตัวต่อตู้ ชุดการทดลองละ 3 ตู้

รวบรวมเศษปลาหมักจากกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรศรีมหาโพธิ์ จังหวัดสุโขทัย นำไปอบแห้งตามวิธีการของ นพวรรณ และคณะ (2548) จากนั้นผสมวัตถุดิบอาหารทดลองทั้งหมดที่วิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการแล้ว (ไม่ได้แสดงข้อมูล) เพื่อสร้างอาหารทดลองที่ผสมด้วยเศษปลาหมักจำนวนทั้งหมด 5 ระดับคือสูตรควบคุม (สูตรที่ 1; FS0) เป็นสูตรที่ไม่ผสมเศษปลาหมัก และมีแหล่งโปรตีนที่ได้จากปลาป่นเป็นหลัก (fish silage 0; FS0) สูตรที่ 2-5 (FS25-100) ให้ผสมเศษปลาหมักที่ระดับ 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของระดับโปรตีนในปลาป่นในอาหารสูตรควบคุม (FS0) ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และกำหนดให้อาหารทุกสูตรมีโปรตีนและไขมัน (isonitrogenous and isolipidic diets) ในระดับที่ใกล้เคียงกัน

การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

กำหนดให้ติดตามน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักอาหารที่ปลากิน และนับจำนวนปลาที่เหลือในทุก ๆ 2 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาการทดลองทั้งหมด 8 สัปดาห์ เพื่อติดตามการเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) อัตราการกินอาหาร (rate of feed

intake) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (feed conversion ratio) และอัตราการรอดตาย (survival rate) โดยมีสูตรคำนวณดังต่อไปนี้

การเจริญเติบโตหรือน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain)

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย (g)} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (g)}}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (g)}} \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate)

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (\%)} = \frac{(\ln \text{น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \ln \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น})}{\text{ระยะเวลา (วัน)}} \times 100$$

อัตราการกินอาหาร (feed intake)

$$\text{อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน)} = \frac{F \times 100}{\frac{Wo + Wt}{2} \times \frac{No + Nt}{2} \times t}$$

โดยที่

F = น้ำหนักอาหารแห้งที่ปลากิน (กรัม)

No = จำนวนปลาเริ่มต้น (ตัว)

Wo = น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)

Nt = จำนวนปลาสุดท้าย (ตัว)

Wt = น้ำหนักปลาเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม)

t = ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (ตัว)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (feed conversion ratio)

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (g)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (g)}}$$

อัตราการรอดตาย (survival rate)

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้น}} \times 100$$

Table 1. Composition of experimental diets formulated to provide approximately 30% crude protein and 7% crude lipid and chemical composition of experimental diets (on dry matter basis)

	Varying levels of fish silage in experimental diet (%)				
	FS0	FS25	FS50	FS75	FS100
Ingredients (%)					
Fish meal	16	13	9	4	0
Fish silage	0	3	9	14	19
Soybean meal	34	34	34	34	34
Corn meal	19	19	19	19	19
Rice bran	24.5	24.5	22.5	22.5	21.5
Fish oil	2	2	2	2	2
Chromic oxide	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitamin mixture ¹	1	1	1	1	1
Mineral mixture ²	3	3	3	3	3
Chemical composition (%)					
Crude protein	30.66 ± 0.69	30.40 ± 0.44	30.32 ± 0.04	30.78 ± 0.69	30.35 ± 0.09
Crude fat	7.55 ± 0.50	7.45 ± 0.89	7.67 ± 0.34	7.32 ± 0.98	7.89 ± 0.27
Ash	8.12 ± 0.05	8.99 ± 0.12	9.08 ± 0.21	10.44 ± 0.52	11.92 ± 0.27
Crude fiber	2.89 ± 0.32	2.89 ± 0.75	2.86 ± 0.08	2.71 ± 0.05	2.57 ± 0.23
Moisture	2.60 ± 0.32	2.40 ± 0.34	2.30 ± 0.68	2.60 ± 0.98	2.70 ± 0.99
Phosphorus content (%)					
Total P	1.19 ± 0.08	1.22 ± 0.06	1.49 ± 0.04	1.58 ± 0.08	1.73 ± 0.09
Estimated available P ³	0.79	0.76	0.51	0.37	0.29

¹ Vitamin mixture (mg or IU/kg diet): A, 5,000 IU; D3, 1,000 IU; E, 5,000 mg; K, 2,000; B1, 2,500 mg; B2, 1,000 mg; B6, 1,000 mg; B12, 10 mg; inositol, 1000 mg; pantothenic acid, 3,000 mg; niacin acid, 3,000 mg; C, 10,000 mg; folic acid, 300 mg; biotin, 10 mg

² Mineral mixture (g/kg feed); calcium phosphate, 80; calcium lactate, 100; ferrous sulphate, 1.24; potassium chloride, 0.23; potassium iodine, 0.23; copper sulphate, 1.2; manganese oxide, 1.2; cobalt carbonate, 0.2; zinc oxide, 1.6; Magnesium chloride, 2.16; sodium selenite, 0.10

³ Estimated available phosphorus = total phosphorus x ADC phosphorus

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของซากปลาทั้งตัว และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

สุ่มปลาก่อนการทดลอง (initial fish) จำนวน 15 ตัว และหลังการทดลองจำนวน 2 ตัวต่อตู้สำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีการของ AOAC (1990) เพื่อคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีนประกอบด้วยสูตรคำนวณต่อไปนี้คือ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (protein productive value) โดยมีสูตรคำนวณดังต่อไปนี้

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio)

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (g)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (g)}} \times 100$$

โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (productive protein value)

$$\text{โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์} = \frac{\text{โปรตีนปลาสุดท้าย (g)} - \text{โปรตีนเริ่มต้น (g)}}{\text{น.น.โปรตีนตลอดการทดลอง (g)}}$$

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสารอาหาร

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสารอาหารด้วยการผสมโครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) กำหนดให้ผสมลงในอาหารทดลองที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร แล้วเก็บมูลหลังจากเปลี่ยนถ่ายน้ำด้วยวิธีกาลักน้ำ (siphoning) นำมูลที่ได้มารวม (pool) และแยกในแต่ละชุดการทดลอง จนได้ปริมาณที่ต้องการ อบรมที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนได้น้ำหนักคงที่ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณโครมิกออกไซด์ในอาหาร เพื่อคำนวณประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบ (apparent digestibility coefficient of dry matter; ADC dry matter) ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (ADC protein) และฟอสฟอรัส (ADC phosphorus) โดยมีสูตรคำนวณดังต่อไปนี้

สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุดิบแห้ง (dry matter digestibility or total digestibility)

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุดิบแห้ง} = 100 - 100 \times \left(\frac{\% \text{โครมิกออกไซด์ในอาหาร}}{\% \text{โครมิกออกไซด์ในมูล}} \right)$$

สัมประสิทธิ์ในการย่อยสารอาหาร (apparent digestibility coefficient of nutrients, (%))

$$\text{ADC สารอาหาร} = 100 - 100 \times \left(\frac{\% \text{โครมิกออกไซด์ในอาหาร}}{\% \text{โครมิกออกไซด์ในมูล}} \right) \times \left(\frac{\% \text{สารอาหารในมูล}}{\% \text{สารอาหารในอาหาร}} \right)$$

การศึกษาประสิทธิภาพการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์

วิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีน และฟอสฟอรัสในปลาหลังการทดลอง (final whole body carcass) เพื่อคำนวณประสิทธิภาพการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ (nutrients retention) ประกอบด้วย การสะสมโปรตีน (protein retention) และฟอสฟอรัส (phosphorus retention) และการขับสารอาหารทิ้ง (nutrients load) ประกอบด้วย การขับไนโตรเจน (nitrogen load) และฟอสฟอรัส (phosphorus load) โดยมีสูตรคำนวณดังต่อไปนี้

การเก็บสะสมสารอาหารในร่างกาย (nutrient retention)

$$\text{การเก็บสะสมสารอาหารในร่างกาย} = \frac{100 \times (\text{FICN} - \text{INCN})}{\text{Nutrient intake}}$$

โดยที่

FICN คือ ปริมาณสารอาหารที่คงเหลือในซากหลังการทดลอง (กรัม)

INCN คือ ปริมาณสารอาหารที่คงเหลือในซากก่อนการทดลอง (กรัม)

Nutrient intake คือ ปริมาณของสารอาหารที่ใช้ทั้งหมด

การขับสารอาหารทิ้ง (Nutrient load)

$$\text{การขับสารอาหารทิ้ง} = \frac{\text{ปริมาณสารอาหารที่ได้รับ (g)} - \text{ปริมาณสารอาหารที่เหลือ (g)}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (kg)}}$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ANOVA ด้วย CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารทดแทนเศษปลาหมักที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์พบว่าปลาที่ได้รับอาหาร FS25 และ 50 มีการเจริญเติบโตที่ดี (ตารางที่ 2) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดควบคุม และมีแนวโน้มเดียวกับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (ตารางที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลานิลแดง (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus* × *O. aureus*) ขนาดปลานิ้ว (fingerling) และปลาตุ๊กแอฟริกา (*Clarias gariepinus*) ระยะ juvenile พบว่าปลาสามารถใช้เศษปลาหมักทดแทนปลาป่นได้ 50 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในปลาป่น (Fagbenro and Jauncey, 1995; Madage *et al.*, 2015) ในขณะที่การใช้เศษปลาหมักในปลาแอตแลนติกแซลมอนพบว่าไม่มีผลในเชิงลบต่อการเจริญเติบโต (Heras *et al.*, 1994; Parrish *et al.*, 1991) แต่ระดับเศษปลาหมักที่เหมาะสมสำหรับปลาแซลมอนคือ 25 เปอร์เซ็นต์ (Hardy *et al.*, 1984) อย่างไรก็ตามการศึกษาในปลานิลระยะ juvenile ที่ผสมด้วยเศษปลาหมักปลาทราย (*Chitala ornata*) ที่ผ่านกระบวนการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีและแยกน้ำมันออกจากเศษปลาหมัก พบว่าปลานิลสามารถ

ใช้เศษปลาหมักทดแทนโปรตีนจากปลาป่นใช้ได้มากถึง 75 เปอร์เซ็นต์ (Abarra *et al.*, 2017) ส่วนปลานิลแดงที่ได้รับอาหารทดลองสูตร FS75 และ 100 มีการเจริญเติบโตต่ำ ($P<0.05$) ทั้งนี้เมื่อระดับของเศษปลาหมักเพิ่มมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์จะมีผลต่อการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว การใช้ประโยชน์จากโปรตีน (PER) และการใช้โปรตีนสุทธิ (net protein utilization value) มีค่าลดลง (Hardy *et al.*, 1984)

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของซากปลาที่ได้รับอาหารผสมเศษปลาหมักที่ระดับต่าง ๆ พบว่าความชื้นซากปลาลงการทดลอง (ตารางที่ 3) ไม่มีความแตกต่างกันสถิติ ($P>0.05$) โปรตีนในซากปลาลงการทดลองพบว่าเมื่อระดับของเศษปลาหมักเพิ่มขึ้นมีผลทำให้องค์ประกอบของโปรตีนในซากปลาทั้งตัวลดลง โดยปลาที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุมมีโปรตีนสูงที่สุดแต่ไม่แตกต่างกับ FS25 ($P>0.05$) ในขณะที่องค์ประกอบของเถ้าและฟอสฟอรัสในตัวปลาเพิ่มสูงขึ้น (ตารางที่ 3) เมื่อระดับของเศษปลาหมักเพิ่มขึ้น Al-Abri *et al.* (2014) พบว่าเศษปลาหมักเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีฟอสฟอรัสแคลเซียมในปริมาณสูง ทำให้ผลต่อการนำแร่ธาตุดังกล่าวไปใช้ประโยชน์เพื่อการสะสมในร่างกาย จึงทำให้มีปริมาณเถ้าในปลาทั้งตัวเพิ่มขึ้น (Toppe *et al.*, 2006; Vielma and Lall, 1998)

Table 2. Growth parameters of red tilapia fed diets containing different levels of fish silage

Growth performance of red tilapia fed diets containing various levels of fish silage ¹								
Diets	Initial weight	Final weight	Weight gain ²	ADG ³	SGR ⁴	Feed intake ⁵	FCR ⁶	Survival Rate ⁷
FS0	3.49 ± 0.04	9.28 ± 0.98 ^a	265.97 ± 19.69 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	1.83 ± 0.20 ^a	0.15 ± 0.18 ^a	1.61 ± 0.37 ^b	90.00 ± 5.00
FS25	3.48 ± 0.01	8.59 ± 0.48 ^a	246.83 ± 13.85 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	1.61 ± 0.12 ^a	0.13 ± 0.03 ^{ab}	1.62 ± 0.35 ^b	90.00 ± 8.66
FS50	3.50 ± 0.03	8.61 ± 0.55 ^a	246.02 ± 14.24 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	1.61 ± 0.10 ^a	0.14 ± 0.01 ^b	1.80 ± 0.06 ^b	91.67 ± 2.89
FS75	3.51 ± 0.03	7.00 ± 0.27 ^b	199.43 ± 7.31 ^b	0.06 ± 0.00 ^b	1.23 ± 0.07 ^b	0.12 ± 0.01 ^b	1.88 ± 0.21 ^{ab}	93.33 ± 7.64
FS100	3.51 ± 0.03	6.88 ± 0.45 ^b	196.01 ± 13.76 ^b	0.06 ± 0.01 ^b	1.20 ± 0.12 ^b	0.14 ± 0.01 ^b	2.26 ± 0.20 ^a	88.33 ± 10.33

¹ Values are means ± S.D. of three replicates and values within the same column with different letters are significant difference ($P<0.05$, n=3)

² Weight gain = (Final weight-Initial weight)/Initial weight×100

³ ADG, Average daily gain = Final weight – Initial weight/days

⁴ SGR, Specific growth rate = $(\ln W_2 - \ln W_1) / (T_2 - T_1) \times 100$, W_1 = Initial weight, W_2 = Final weight, $T_2 - T_1$ = Cultured period

⁵ Feed intake = (feed consumed × 100) / [(Initial weight + Final weight)/2] × [(Number of initial fish + Number of final fish)] × Cultured period

⁶ FCR, Feed conversion ratio = Feed intake / Weight gain

⁷ Survival rate = Number of final fish / Number of initial fish × 100

ปลาที่ได้รับอาหารผสมเศษปลาหมักที่ระดับ FS25 - FS50 พบว่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีน (PER) และประสิทธิภาพการย่อยสารอาหาร (ADC dry matter, ADC protein) อยู่ในระดับสูงแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่าปลานิลแดงสามารถใช้เศษปลาหมักได้ถึงระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ไม่มีผลกระทบต่อการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และประสิทธิภาพการย่อยสารอาหาร ในขณะที่เมื่อระดับของเศษปลาหมักที่เพิ่มขึ้นมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้ปลาลดความอยากอาหารลง (Fagbenro *et al.*, 1994) และมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนที่ลดลง (ADC protein) เนื่องจากเมื่อผสมเศษปลาหมักในปริมาณมากจะส่งผลต่อความไม่สมดุลของกรดอะมิโนในอาหาร ซึ่งส่งผลกระทบต่อการใช้โปรตีนของปลานิลแดง (Haylor, 1992) ในขณะที่การสะสมไนโตรเจนในร่างกาย

(N retention) และไนโตรเจนที่ถูกขับทิ้ง (N loaded) มีค่าแปรผกผัน เมื่อระดับเศษปลาหมักเพิ่มขึ้นในอาหาร (ตารางที่ 5) มีผลทำให้การสะสมไนโตรเจนในตัวปลาลดลง แต่มีปริมาณไนโตรเจนที่ถูกขับทิ้ง (N loaded) เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับค่าการสะสมฟอสฟอรัส และฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง เนื่องจากเศษปลาหมักมีองค์ประกอบของกระดูก ก้านครีบซึ่งเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Tricalcium phosphate) หรือแคลเซียมอะพาไทต์ (calcium apatite) ที่มีคุณสมบัติการแตกตัว และละลายได้ในน้ำต่ำ (วุฒิพร และคณะ, 2551) จึงส่งผลกระทบต่อกระบวนการย่อยได้และการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ (nutrient availability and utilization)

การคำนวณราคาอาหาร และราคาอาหารต่อน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัมในแต่ละสูตร (ตารางที่ 6)

Table 3. The whole-body composition of red tilapia fed the experimental diets for 8 weeks (dry-weight basis)

	Moisture	Proximate analysis (%) ¹			
		Crude protein	Crude fat	Ash	Phosphorus
Initial fish	76.98 ± 0.23	50.14 ± 0.46	23.43 ± 0.24	13.19 ± 0.49	2.16 ± 0.01
FS0	73.09 ± 0.34	64.26 ± 0.98 ^a	23.48 ± 0.63 ^b	13.20 ± 0.44 ^c	2.12 ± 0.11 ^c
FS25	73.87 ± 0.54	62.80 ± 1.19 ^a	23.04 ± 0.43 ^c	14.43 ± 0.35 ^b	2.18 ± 0.03 ^c
FS50	73.67 ± 0.78	53.31 ± 0.18 ^b	24.72 ± 0.57 ^a	14.56 ± 0.34 ^b	2.45 ± 0.10 ^b
FS75	73.60 ± 0.87	50.39 ± 1.53 ^b	24.93 ± 0.03 ^a	15.18 ± 0.03 ^b	2.55 ± 0.12 ^{ab}
FS100	73.83 ± 0.18	49.68 ± 3.17 ^b	24.86 ± 0.34 ^a	16.78 ± 0.48 ^a	2.69 ± 0.02 ^a

¹ Values are means ± S.D. of three replicates and values within the same column with different letters are significant difference ($P < 0.05$, $n = 3$)

Table 4. Feed utilization efficiency of red tilapia fed diets containing different levels of fish silage for 8 weeks¹

Diets	PER ²	PPV ³	ADC dry matter ⁴	ADC protein ⁵	ADC P ⁶
FS0	2.03 ± 0.12 ^a	42.75 ± 1.74 ^a	73.01 ± 2.14 ^a	81.19 ± 4.88 ^a	66.75 ± 2.18 ^a
FS25	2.02 ± 0.30 ^a	40.19 ± 7.21 ^a	71.69 ± 2.50 ^a	76.60 ± 3.56 ^a	62.70 ± 0.07 ^a
FS50	1.83 ± 0.07 ^{ab}	28.97 ± 0.89 ^b	72.21 ± 0.91 ^a	74.25 ± 0.10 ^a	34.26 ± 5.93 ^b
FS75	1.75 ± 0.19 ^{ab}	26.26 ± 2.83 ^{bc}	66.00 ± 1.27 ^b	65.35 ± 4.04 ^b	23.40 ± 2.72 ^b
FS100	1.47 ± 0.13 ^b	21.26 ± 1.71 ^c	65.37 ± 1.82 ^b	63.41 ± 1.53 ^b	16.87 ± 6.67 ^c

¹ Values are means ± S.D. of three replicates and values within the same column with different letters are significant difference ($P < 0.05$, $n = 3$)

² PER, Protein efficiency ratio = Weight gain / Protein intake

³ PPV, Productive protein value = (Protein gain / Protein intake × 100)

⁴ ADC dry matter, Apparent digestibility coefficient of dry matter = $100 - 100 \times (\%Cr_2O_3 \text{ in diet} / \%Cr_2O_3 \text{ in feces})$

^{5,6} ADC nutrient, Apparent digestibility coefficient of nutrient = $100 - 100 \times ((\%Cr_2O_3 \text{ in diet} / \%Cr_2O_3 \text{ in feces}) \times (\% \text{nutrient in feces} / \% \text{nutrient in diet}))$

Table 5. Nitrogen and phosphorus utilization of red tilapia fed different levels of fish silage for 8 weeks¹

Treatments	Retention (%) ²		Loading (g/kg diet) ³	
	Nitrogen	Phosphorus	Nitrogen	Phosphorus
FS0	42.73 ± 1.72 ^a	32.82 ± 1.71 ^a	18.55 ± 2.01 ^c	0.83 ± 0.09 ^c
FS25	40.21 ± 7.19 ^a	32.31 ± 6.03 ^{ab}	20.98 ± 7.53 ^c	0.92 ± 0.30 ^c
FS50	28.98 ± 0.87 ^b	28.00 ± 0.80 ^{ab}	26.15 ± 1.77 ^{bc}	1.22 ± 0.09 ^{bc}
FS75	26.05 ± 2.69 ^{bc}	28.88 ± 3.01 ^b	29.74 ± 4.67 ^{ab}	1.47 ± 0.24 ^b
FS100	21.26 ± 1.71 ^c	23.87 ± 1.68 ^b	37.31 ± 4.33 ^a	2.06 ± 0.24 ^a

¹ Values are means ± S.D. of three replicates and values within the same column with different letters are significant difference ($P < 0.05$, $n=3$).

² Retention (%) = $100 \times (\text{Final nutrient content in carcass} - \text{Initial nutrient content in carcass}) / \text{Nutrient intake}$

³ Loading = $\text{Total nutrient intake} - \text{Nutrient in carcass} / \text{Weight gain}$

Table 6. Economic analysis of red tilapia diets containing different levels of fish silages

Diets	Feeding cost (Baht/kg diet) ¹	Feeding cost (Baht/kg fish gain) ²
FS0	27.05	44.85
FS25	25.64	40.72
FS50	23.64	41.56
FS75	21.29	42.12
FS100	19.35	43.37

¹ Cost of feed ingredients (Baht/kg): fish meal 38; soybean meal 24.5; broken rice 15.5; rice bran 9

² Feeding cost (Baht/kg gain) = $(\text{feeding cost/kg} \times \text{total eaten feed}) / \text{weight gain}$

พบว่าราคาอาหารในชุดควบคุมมีราคาอาหารสูงที่สุด และมีราคาลดลงตามลำดับ เนื่องจากปริมาณการผสมเศษปลาหมักในอาหารเพิ่มขึ้น ส่วนราคาอาหารต่อน้ำหนักปลาเพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัมพบว่าอาหารชุดควบคุมมีราคาสูงสุด ลดลงในสูตรที่ 2 และพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในอาหารสูตรที่ 3 ถึงสูตรที่ 5 เนื่องจากประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และประสิทธิภาพการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ลดลง ปลาจึงนำสารอาหารไปใช้เพื่อสร้างน้ำหนัก และเพื่อการสร้างโปรตีนได้ต่ำกว่าสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2

สรุป

ปลานิลแดงสามารถใช้เศษปลาหมักทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้มากถึง 50 เปอร์เซ็นต์โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต (Weight gain, ADG และ SGR) ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (FCR) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (ADC dry

matter และ ADC protein) และประสิทธิภาพการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ (Phosphorus retention, Nitrogen และ phosphorus loaded) นอกจากนี้ยังเป็นระดับที่สามารถลดปริมาณการขับไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลงสู่แหล่งน้ำ และมีต้นทุนการผลิตปลา 1 กิโลกรัมน้อยกว่าอาหารที่ใช้แหล่งโปรตีนจากปลาป่นเป็นหลัก

กิตติกรรมประกาศ

โครงการเรื่อง “ผลของการใช้เศษปลาหมักต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศ” ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- คณนา อาจสูงเนิน. 2559. การสำรวจรูปแบบการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ในหมู่บ้านปงหลวง อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย. วารสารเกษตร 32(3): 409-419.
- จาตุรนต์ บัองน้ำไผ่ และ ชนกนัต จิตมนัส. 2560. การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ระบาดในฟาร์มปลานิลโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี. วารสารเกษตร 33(3) 427-345.
- นพวรรณ ฉิมสังข์ อาริรัตน์ บุญมี วัชรีย์ ส่งศรีอ่อน สตรีไทยท่าบวกร และ ปิยะพงศ์ โชติพันธุ์. 2548. การใช้เศษปลาจากการแปรรูปเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*). วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 27(ฉบับพิเศษ 1): 141-149.
- วรุณิ เกิดปราง และ ปรีดา ภูมิ. 2558. สัดส่วนเศษปลาหมักทดแทนปลาป่นที่เหมาะสมในสูตรอาหารปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 2: 34-42.
- วุฒิพร พรหมขุนทอง อนุรักษ์ เขียวขจรเขต และ กิจการศุภมาตย์. 2551. ผลของโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารปลาที่มีปลาป่นระดับต่ำต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการให้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 2(2): 9-32.
- อัครี เรืองเดช นงนุช เลหาะวิสุทธิ และบุปผา จงพัฒน์. 2558. การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากเศษเครื่องในปลานิลเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่นในอาหารปลาดุกกลมผสม. เกษตร 43(ฉบับพิเศษ 2): 603-608.
- Abarra, S.T., S.F. Valasques, K.D.D.C. Guzman, J.L.F. Felipe, M.M. Tayamem, and J.A. Ragaza. 2017. Replacement of fishmeal with processed meal from knife fish *Chitala ornata* in diets of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture Reports 5: 76-83.
- Al-Abri, A.S., O. Mahgoub, I.T. Kadim, W. Al-Marzooqi, S.J. Goddard and M. Al-Farsi. 2014. Processing and evaluation of nutritive value of fish silage for feeding Omani sheep. Journal of Applied Animal Research 42: 406-413.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 1990. Official Methods of Analysis, AOAC, Washington, D.C.
- Berge, G.M. and T. Storebakken. 1996. Fish protein hydrolysate in starter diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. Aquaculture 145: 205-212.
- Brinker, A. and R. Reiter. 2011. Fish meal replacement by plant protein substitution and guar gum addition in trout feed, Part I: Effects on feed utilization and fish quality. Aquaculture 310: 350-360.
- Fagbenro, O.A. and K. Jauncey. 1995. Growth and protein utilization by juvenile catfish (*Clarias gariepinus*) fed dry diets containing co-dried lactic-acid-fermented fish-silage and protein feedstuffs. Bioresource Technology 51: 29-35.
- Fagbenro, O.A., K. Jauncey and G. Haylor. 1994. Nutritive value of diets containing dried lactic acid fermented fish silage and soybean meal for juvenile *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus*. Aquatic Living Resources 7: 79-85.
- Hardy, R.W., K.D. Shearer and J. Spinelli. 1984. The nutritional properties of co-dried fish silage in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) dry diets. Aquaculture 38: 35-44.

- Haylor, G.S. 1992. African Catfish Hatchery Manual. Stirling Aquaculture, University of Stirling, Scotland. 86 p.
- Heras, H., C.A. McLeod and R.G. Ackman. 1994. Atlantic dogfish silage vs herring silage in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*): growth and sensory evaluation of fillets. Aquaculture 125: 93-106.
- Madage, S.S.K., W.U.D. Medis and Y. Sultanbawa. 2015. Fish silage as replacement of fishmeal in red tilapia feeds. Journal of Applied Aquaculture 27: 95-106.
- Naylor, R.L., R.J. Goldburg, J.H. Primavera, N. Kautsky, M.C.M. Beveridge, J. Clay, C. Folke, J. Lubchenco, H. Mooney and M. Troell. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature 405: 1017-1024.
- Olsen, R.L., and J. Toppe. 2017. Fish silage hydrolysates: Not only a feed nutrient, but also a useful feed additive. Trends in Food Science and Technology 66: 93-97.
- Parrish, C.C., H. Li, W.M. Indrasena and R.G. Ackman. 1991. Silage feeds in Atlantic salmon farming: flavor volatiles and lipid composition, feeding trials, and taste panels. Bulletin of the Aquaculture Association of Canada 91: 75-84.
- Toppe, J., A. Aksnes, B. Hope and S. Albrektsen. 2006. Inclusion of fish bone and crab by-products in diets for Atlantic cod, *Gadus morhua*. Aquaculture 253: 636-645.
- Vielma, S.P. and S.P. Lall. 1998. Phosphorus utilization by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. Aquaculture 160: 117-128.
-

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการงอกของข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ข้าวอบพอง

Optimal Condition for Glutinous Brown Rice 'RD6' Germination and Application in Puffed Rice Snack Products

ณัฐณา เหล่ากุลดิลก^{1*} สุวนันท์ คำปัน¹ ธัญเรศ พรหมอินทร์¹ นภาพันธ์ โชคอำนายพร²
และ นันทินา ดำรงวัฒนกุล¹

Natcha Laokuldilok^{1*}, Suwanan Khumpan¹, Thanyaras Prom-in¹, Napapan Chokumnoyporn²
and Nanthina Damrongwattanagool¹

¹สาขาวิชานวัตกรรมและธุรกิจอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง จ.ลำปาง 52100

¹Division of Food Innovation and Business, Faculty of Agricultural Technology, Lampang Rajabhat University, Lampang 52100, Thailand

²สาขาวิชาเทคโนโลยีการพัฒนามลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50100

²Division of Product Development Technology, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100, Thailand

*Corresponding author: Email: nutch@lpru.ac.th

(Received: 30 October 2017; Accepted: 22 January 2018)

Abstract: This research studied the optimal conditions for glutinous brown rice germination (RD6 cultivar) in order to develop healthy puffed rice snack. Brown rice was soaked in solution with different pH values *i.e.* pH 4, 5, 6 and 7 for 6 hours. The results showed that brown rice soaked in solution with pH 6 had the highest content of gamma aminobutyric acid (GABA). The optimal soaking and incubation time were then studied. The 3x2 factorial in CRD was employed with 3 levels of soaking time *i.e.* 3, 6 and 9 hours and 2 levels of incubation times *i.e.* 12 and 24 hours. The optimal condition for soaking and incubation rice was 9 and 24 hours, respectively which provided the highest content of reducing sugar and GABA. For puffed rice snack production, the germinated glutinous brown rice was ground before gelatinization under steam. The gelatinized rice was then made as a flat sheet before chilling at 5 °C. The chilling time was studied by varying between 36 - 72 hours. The results showed that expansion ratio and degree determined by volume ratio were decreased when the chilling time increased ($P \leq 0.05$). However, the sensory scores (9-point hedonic scale) for appearance, hardness, crispness and overall liking were not significantly different ($P > 0.05$). Thus, the chilling time for 36 hours was selected as it provided the shortest processing time. The developed puffed rice was tested for the consumer acceptance (n=60) using 9-point hedonic scale. The results showed that the liking scores for all attributes were in the range of 6.4 - 7.4 with 322.05 mg of GABA content /kg sample.

Keywords: Germinated glutinous brown rice, GABA, puffed rice

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้ ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับออกข้าวเหนียวกลิ้งพันธุ์ กข6 เพื่อนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมอบพองจากข้าวเหนียวกลิ้งงอก ทำการแช่ข้าวเหนียวกลิ้งลงในน้ำที่ควบคุมความเป็นกรด-ด่าง 4 ระดับ ได้แก่ pH 4, 5, 6 และ 7 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า ข้าวที่ผ่านการแช่ในน้ำที่มีค่า pH เท่ากับ 6 มีปริมาณสารกาบา (GABA) สูงสุด จากนั้นทำการศึกษาระยะเวลาในการแช่และบ่มข้าว โดยวางแผนการทดลองแบบ 3x2 factorial in CRD กำหนดให้ระยะเวลาในการแช่ข้าวเท่ากับ 3, 6 และ 9 ชั่วโมง ระยะเวลาในการบ่มข้าวเท่ากับ 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ การแช่ข้าวกลิ้งเป็นเวลา 9 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยข้าวกลิ้งที่ได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และสารกาบาสูงสุด ในขั้นตอนการผลิตข้าวอบพอง ทำการบดข้าวกลิ้งงอกให้เป็นผงแล้วนำไปนึ่งด้วยไอน้ำให้เกิดการเจลาติไนเซชัน จากนั้นจึงนำไปรีดให้เป็นแผ่นแล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยผันแปรระยะเวลาในการแช่เย็นระหว่าง 36 ถึง 72 ชั่วโมง จากผลการทดลอง พบว่า อัตราการพองตัวและการขยายตัวเชิงปริมาตรมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการแช่เย็นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส (9-point hedonic) ด้านลักษณะปรากฏ ความแข็ง ความกรอบ และความชอบโดยรวม มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) จึงเลือกใช้ระยะเวลาในการแช่เย็นเท่ากับ 36 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะเวลาที่สั้นที่สุดสำหรับการผลิต เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้ไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 60 คน พบว่า มีคะแนนความชอบสำหรับทุกคุณลักษณะอยู่ระหว่าง 6.4-7.4 และมีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 322.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

คำสำคัญ: ข้าวเหนียวกลิ้งงอก สารกาบา ขนมอบพองจากข้าว

คำนำ

ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวเหนียวมากที่สุด ในอาเซียนหรือคิดเป็นเนื้อที่ประมาณ 16 ล้านไร่ โดยผลิตข้าวเหนียวประมาณร้อยละ 94 ใช้สำหรับบริโภคภายในประเทศ ส่วนที่เหลือประมาณร้อยละ 6 ของผลผลิตทั้งหมดหรือ ประมาณสองแสนตันต่อปีจะถูกส่งออกไปขายตลาดต่างประเทศ เช่น จีน เกาหลี มาเลเซีย ไต้หวัน และสหรัฐอเมริกา (อรรถวรรณ และ ทัดพิชา, 2557) นับเป็นประเทศที่ส่งออกข้าวเหนียวมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก อย่างไรก็ตาม สถานการณ์ข้าวในตลาดโลกมีการแข่งขันกันอย่างรุนแรง ทั้งด้านราคาและคุณภาพ โดยเฉพาะการส่งออกข้าวของประเทศเพื่อนบ้าน ได้แก่ เวียดนามที่มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งยังมีราคาจำหน่ายต่ำกว่า ประกอบกับการเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียนที่ทำให้มาตรการด้านภาษีถูกขจัดไป ส่งผลกระทบต่อส่งออกของไทยและการไหลเข้าของข้าวเหนียวราคาถูกจากประเทศเพื่อนบ้าน โดยเฉพาะสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ด้วยสาเหตุดังกล่าวจึงเป็นแรงผลักดันให้ประเทศไทยต้องปรับปรุงและพัฒนาทั้งด้านคุณภาพและกระบวนการผลิต รวมทั้งการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าข้าว

ในภาคของการเกษตรแปรรูป ซึ่งนับเป็นภาคส่วนสำคัญที่สามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลผลิตทางการเกษตร ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น รวมถึงเกิดการสร้างงานให้แก่ประชาชนในท้องถิ่น ตลอดจนการส่งออกผลิตภัณฑ์ไปจำหน่ายยังต่างประเทศ และนำเงินตราเข้าสู่ประเทศ จากการสำรวจมูลค่าตลาดของผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป พบว่า ผลิตภัณฑ์ประเภทขนมขบเคี้ยว เป็นสินค้าที่มีศักยภาพในการเติบโตค่อนข้างสูง มีรายงานว่าคนไทยบริโภคขนมขบเคี้ยวเฉลี่ย 1.39 กิโลกรัม/คน/ปี โดยในปี พ.ศ. 2560 คาดว่ามูลค่าตลาดภายในประเทศสูงกว่า 42,000 ล้านบาท ซึ่งเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2559 ที่มีมูลค่าตลาดเท่ากับ 39,587 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยระยะเพื่ออุตสาหกรรม, 2560) อย่างไรก็ตาม กระแสการบริโภคอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายก็มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งของผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพ

ข้าวเหนียวได้ถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวหลายชนิด อาทิเช่น ข้าวแต่นี้อร่อย เคียว ซึ่งในกระบวนการผลิตขนมขบเคี้ยวจากข้าวประเภทอบพองพบว่า ชนิดและสายพันธุ์ข้าวมีผลต่อการพองตัว รูปร่าง

และลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ การใช้ข้าวเจ้าหอมมะลิทดแทนการใช้ข้าวเหนียวในผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบมีผลทำให้การพองตัวลดลง เนื่องจากการผสมข้าวเจ้าหอมมะลิมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้น โดยโปรตีนขัดขวางการเกิดเจลลาตินในซีสของสตาร์ชและทำให้ได้เจลที่มีความเหนียวต่ำ อีกทั้งทำให้ยากต่อการขึ้นรูปแผ่นแข็งเนื่องจากการเกาะตัวของแป้งลดลง (จิตติมณฑน์ และคณะ, 2556) สำหรับผลผลิตข้าว เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติของข้าวขัดขาวและข้าวกล้องพบว่า ข้าวกล้องมีเยื่อหุ้มเมล็ด (bran layer) และเอ็มบริโอ (embryo) ซึ่งประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญ ได้แก่ โยอาหาร (dietary fibre) แกมมา-อริซานอล (γ-oryzanol) วิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ และยังสามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้สูงขึ้นด้วยการเพาะงอก โดยกระบวนการเพาะงอก (germination) เป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีโดยการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ภายในเมล็ดข้าว ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ทำให้เอนไซม์แอมิเลส (amylase) ทำงาน ซึ่งสารที่โมเลกุลใหญ่ ได้แก่ สตาร์ช (starch) จะถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลง นอกจากนี้ยังทำให้เกิดสารสำคัญชนิดใหม่ คือ สารกาบา (gamma-aminobutyric acid; GABA) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein amino acid) เป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้ง (inhibitor neurotransmitter) ในระบบประสาทส่วนกลาง ช่วยรักษาสมดุลในสมองที่ได้รับการกระตุ้น ทำให้สมองเกิดการผ่อนคลายนอนหลับสบาย (Petroff, 2002) อีกทั้งยังช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็ง (Oh and Oh, 2004) รวมถึงป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Mamiya *et al.*, 2004)

อย่างไรก็ตาม พบว่า มีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการงอกของข้าว ได้แก่ สายพันธุ์ (รัชนี และสุรพงษ์, 2555) ระยะเวลาในการงอก (จักรพงษ์ และคณะ, 2554) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิในการงอก (อรพิน และคณะ, 2556) สำหรับงานวิจัยนี้ ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการงอกข้าว ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่ใช้แช่ข้าว ระยะเวลาที่ใช้ในการแช่และระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มข้าว ซึ่งเมื่อได้วัตถุดิบข้าวกล้องงอกแล้ว จึงนำไปผลิตขนมขบเคี้ยวชนิดแผ่นโดยใช้กรรมวิธีการอบ

ด้วยความร้อนสูงในการทำให้พองแทนกรรมวิธีการทอดซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้าวเหนียวที่ใช้ในการทดลองนี้ เพาะปลูกในพื้นที่อำเภอแม่ทะ จังหวัดลำปาง ทำการเก็บเกี่ยวในปี พ.ศ. 2559 โดยข้าวกล้องที่นำมาเพาะงอกจะต้องผ่านการกะเทาะเปลือกไม่เกิน 2 สัปดาห์ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการงอกข้าวเหนียวกล้องพันธุ์ กข6

ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้แช่ข้าว โดยดัดแปลงตามวิธีการของชนินฐา (2553) นำข้าวกล้องที่ผ่านการกะเทาะเปลือกมาคัดเลือกเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์และแตกหักออกไป ล้างและทำความสะอาดโดยนำไปแช่ใน peroxyacetic acid เข้มข้น 500 ppm เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วแช่ข้าวในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4, 5 และ 6 และในสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 ภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนข้าว 200 กรัมต่อสารละลาย 1 ลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำข้าวเหนียวกล้องที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ในสภาวะสุญญากาศ สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพของข้าวกล้องงอก จะนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการอบแห้งไปบดละเอียด แล้วนำมาวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

- วิเคราะห์ปริมาณกาบา (gamma aminobutyric acid; GABA) ตามวิธีของศุภานุ (2554) โดยนำสารสกัดไปปฏิกิริยากับ 9-fluorenylmethyl chloroformate (FMOC) และวิเคราะห์ปริมาณกาบาคด้วย HPLC โดยใช้คอลัมน์ symmetry reverse-phase C18 (5 μ m; 4.6 x 250 mm) ใช้ฟลูออเรสเซนต์เป็นตัวตรวจวัด ความยาวคลื่นกระตุ้น ($\lambda_{excited}$) 263 นาโนเมตร และความยาวคลื่นกระจาย ($\lambda_{emission}$) 313 นาโนเมตร วัดตัวอย่างอนุพันธ์ของกรด

อะมิโนที่สกัดได้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร สภาวะในการวิเคราะห์มีการปรับเปลี่ยนปริมาณของสารตัวพาตลอดเวลา (gradient elution) โดยใช้สารตัวพา 2 ชนิด คือ 20 mM ammonium dihydrogen orthophosphate in 15% (v/v) methanol และ 90% (v/v) acetonitrile in water สารภาพาที่แยกได้จาก HPLC เปรียบเทียบจากค่า retention time (RT) และหาปริมาณโดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟกับสารละลายภาพามาตรฐาน

- วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส โดยการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีการของ Nelson (1944)
- วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ค่าสี L^* , a^* และ b^* (Konica Minolta, CR300, Japan)
- ค่า water activity (a_w) (AquaLab 4TE, USA)

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และหากสิ่งทดลองมีความแตกต่าง ทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ตอนที่ 2 การศึกษาระยะเวลาในการแช่และระยะเวลาในการบ่มที่เหมาะสมต่อการออกข้าวกล้องพันธุ์ กข6

เมื่อได้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการออกข้าวจากตอนที่ 1 แล้ว จากนั้นจึงศึกษาระยะเวลาในการแช่และระยะเวลาในการบ่มที่เหมาะสม โดยจัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial) 3×2 ในแผนการแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ปัจจัยที่ทำการศึกษาคือ ระยะเวลาในการแช่ข้าว 3 ระดับคือ 3, 6 และ 9 ชั่วโมง และระยะเวลาในการบ่ม 2 ระดับคือ 12 และ 24 ชั่วโมง โดยให้ข้าวเหนียวกล้องที่ไม่ได้งอกเป็นตัวอย่างควบคุม ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยเมื่อแช่ข้าวเหนียวกล้องตามระยะเวลาที่กำหนดแล้ว จึงนำข้าวเหนียวกล้องมาบ่มโดยใช้ผ้าขาวบางห่อเก็บในกล่องพลาสติก เพาะในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส ทำการล้างน้ำสะอาดทุก 6 ชั่วโมง เพื่อลดกลิ่นหมักที่เกิดจากจุลินทรีย์ในระหว่างการบ่มข้าว เมื่อ

บ่มข้าวตามระยะเวลาที่กำหนดแล้วจึงนำข้าวเหนียวกล้องที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ในสภาวะสุญญากาศ สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพของข้าวกล้องงอก จะนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการอบแห้งไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดหยาบ โดยตัวอย่างจะนำไปวิเคราะห์คุณภาพเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1

ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวจากข้าวเหนียวกล้องงอก

3.1 การศึกษาปริมาณความชื้นของแผ่นข้าวแห้งที่เหมาะสมต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

นำข้าวกล้องงอกที่ได้จากตอนที่ 2 มาผลิตขนมขบเคี้ยว โดยมีกระบวนการผลิตดังนี้ บดข้าวกล้องงอกด้วยเครื่องบดแบบค้อน (hammer mill) ผ่านรูตะแกรงขนาด 0.1 มิลลิเมตร นำแป้งข้าวกล้องงอกมาผสมกับน้ำสะอาดในอัตราส่วน 100 กรัมต่อน้ำ 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วนำไปนึ่งด้วยไอน้ำเป็นเวลา 15 นาที นำเจลแป้งสุกที่ได้มารีดเป็นแผ่นหนา 2 มิลลิเมตรด้วยเครื่องรีดบะหมี่ จากนั้นจึงนำไปแช่เย็น (อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส) โดยผันแปรระยะเวลาที่ใช้ในการแช่เท่ากับ 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาตัดเป็นแผ่นขนาด 2×2 เซนติเมตร แล้วนำไปอบพองโดยควบคุมสภาวะที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ค่า water activity (a_w) (AquaLab 4TE, USA)
- อัตราการพอง (expansion degree) โดยการนำแผ่นข้าวก่อนและหลังอบพองมาวัดความหนาเฉลี่ยด้วยไมโครมิเตอร์ (ผลิตภัณฑ์ 1 แผ่นจะทำการวัด 4 ตำแหน่งระหว่างเท่า ๆ กัน) แล้วรายงานผลในรูปของอัตราส่วนระหว่างความหนาของแผ่นข้าวหลังอบพองต่อความหนาของแผ่นข้าวก่อนอบพอง
- ค่าการขยายตัวเชิงปริมาตร (volume expansion ratio) โดยการนำแผ่นแป้งก่อนและหลังอบพองมาหาปริมาตรด้วยการแทนที่ด้วยเมล็ดงา แล้วรายงานผลในรูปของอัตราส่วนระหว่างปริมาตรของแผ่นข้าวหลังและก่อนอบพอง

- ค่าความหนาแน่น (bulk density) ตามวิธีของ Mir *et al.* (2016) โดยคำนวณตามความสัมพันธ์ระหว่างมวล (m) ต่อปริมาตร (ml) โดยวิธีการชั่งน้ำหนักและการแทนที่ปริมาตรด้วยเมล็ดงา

- วัดค่าความแข็ง (hardness) และความกรอบ (crispness) โดยใช้เครื่อง texture analyzer (TAXT2)

- การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ ความแข็ง ความกรอบ และความชอบโดยรวม โดยใช้วิธีให้คะแนนความชอบ 1 ถึง 9 (9-point hedonic scale) ด้วยผู้ทดสอบจำนวน 30 คน

3.2 การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวจากข้าวเหนียวกลัองงอก

นำผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวจากข้าวเหนียวกลัองงอกที่เหมาะสมมาศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 60 คน โดยใช้วิธีให้คะแนนความชอบ 1 ถึง 9 ด้านลักษณะปรากฏ ความแข็ง ความกรอบ และความชอบโดยรวม และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี (โดยประมาณ) และปริมาณกาบาด้วยเครื่อง HPLC

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตารางที่ 1 แสดงค่าสี ปริมาณความชื้น ค่า a_w ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง และปริมาณกาบาของข้าวกลัองงอกที่ผ่านการแช่ในสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4, 5, 6 และ 7

ค่าสี L^* a^* และ b^* ของข้าวเหนียวกลัองงอกที่ผ่านการแช่ในสารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 4, 5, 6 และ 7 แสดงในตารางที่ 1 โดยเมื่อแช่ข้าวเหนียวกลัองงอกใน

สารละลายที่มีค่า pH แตกต่างกัน ค่าความสว่าง (L^*) และค่าความเป็นสีแดงถึงสีเขียว (a^*) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 75.06-75.72 และ 2.12-2.35 ตามลำดับ คือ มีทิศทางเป็นสีแดงเล็กน้อยและค่อนข้างไปทางสว่าง อย่างไรก็ตาม ระดับ pH ของสารละลายที่ใช้แช่ข้าวส่งผลต่อค่าความเป็นสีเหลืองถึงสีน้ำเงิน (b^*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) โดยเมื่อแช่ข้าวในสารละลายที่มีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น (pH ลดลง) ส่งผลให้ข้าวกลัองงอกที่ได้มีค่าความเป็นสีเหลืองลดลง ทั้งนี้ ในระหว่างการแช่ข้าวในน้ำ จะเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ระหว่างกรดอะมิโนกับน้ำตาลรีดิวซิง (reducing sugar) เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องจนได้สารสีน้ำตาลที่เรียกว่า เมลานอยดิน (melanoidins) โดยปฏิกิริยาเมลลาร์ดสามารถยับยั้งได้เมื่อลดค่า pH ให้ต่ำลง เช่น ที่ค่า pH เท่ากับ 3 น้ำตาลจะมีคงตัวมากที่สุดในรูปแบบ pyranose hemiacetal ring และเมื่อ pH สูงขึ้น น้ำตาลจะเปลี่ยนเป็นรูป reactive acyclic aldehyde ซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยารวมตัวกันระหว่างน้ำตาลและเอมีนได้อย่างรวดเร็ว (นิธิยา, 2558) ดังนั้น การที่ค่า pH ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าวลดลง จะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดช้าลง ความเข้มของสีเหลืองในเมล็ดข้าวก็จะมีค่าลดลง

ข้าวเหนียวกลัองงอกหลังจากผ่านการทำแห้งมีปริมาณความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 9.02-10.32 และมีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.407-0.466 นอกจากนี้ การแช่ข้าวในสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงในข้าวกลัองงอกมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) จากตารางที่ 1 พบว่า

Table 1. Physical and chemical properties¹ of germinated brown rice at different pH values

pH level	Colour value			Moisture content (% on wet basis)	Water activity (a_w)	Reducing sugar content (mg/kg)	GABA content (mg/kg)
	L^*	a^*	b^*				
pH 4	75.54 ± 0.87 ^{ns}	2.12 ± 0.28 ^{ns}	14.19 ± 0.21 ^b	9.02 ± 0.95 ^b	0.407 ± 0.000 ^{ns}	164.22 ± 7.80 ^a	23.25 ± 0.36 ^b
pH 5	75.86 ± 0.18	2.16 ± 0.01	14.43 ± 0.11 ^{ab}	9.38 ± 0.48 ^b	0.415 ± 0.030	94.74 ± 0.77 ^b	19.21 ± 0.67 ^b
pH 6	75.06 ± 0.48	2.18 ± 0.12	14.75 ± 0.03 ^a	9.43 ± 0.99 ^b	0.419 ± 0.000	85.57 ± 6.38 ^b	28.70 ± 0.05 ^a
pH 7	75.72 ± 0.07	2.35 ± 0.13	14.80 ± 0.19 ^a	10.32 ± 0.28 ^a	0.466 ± 0.030	73.10 ± 9.33 ^b	21.33 ± 3.05 ^b

¹ Two replications

Mean values ± SD followed by different letters in each column were significantly different ($P\leq 0.05$)

ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการแช่ในสารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 4 จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 164.22 ppm และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่า ลดลงเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ในระหว่างกระบวนการงอก จะเกิดการย่อยสลายสารอาหารต่าง ๆ ที่สะสมอยู่ภายใน เมล็ดข้าวเพื่อใช้เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ในระหว่างการงอกเป็นผล มาจากการทำงานของเอนไซม์ภายในเมล็ดหลังจากได้รับ ความชื้นและมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม โดยการทำงาน เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (alpha-amylase) จะทำให้เกิด การย่อยสลายแป้งเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล (Saman *et al.*, 2008) เช่น กลูโคส มอลโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ โดยผล ของการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวยังทำให้ปริมาณ แอมิโลสในข้าวกล้องลดลง ซึ่งหากรับประทานในรูปแบบ ของข้าวหุงสุกจะมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มและมีการเกาะติดกัน ระหว่างเมล็ดมากกว่าข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการงอก อีกทั้งยัง ช่วยลดระยะเวลาการหุงต้มลงได้ (Jiamyangyuen and Oraikul, 2008) Tian *et al.* (2010) รายงานว่า การงอก ในสภาวะที่เป็นกรดจะสามารถเร่งการย่อยสลายให้ เป็น น้ำตาลได้ดีกว่าเนื่องจากปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด และจากงานวิจัยของ Charoenthakij *et al.* (2009) ได้ เปรียบเทียบการงอกข้าวเหนียวกล้องพันธุ์ กข6 ใน สารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 3.5 และ 7 พบว่า ข้าวกล้อง งอกที่ผ่านการแช่ในสารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 3 เป็น เวลา 48 ชั่วโมง จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเท่ากับ 755.42 มิลลิกรัม/100 กรัม

เมื่อพิจารณาผลของความเป็นกรด-ด่างของ สารละลายที่ใช้แช่ข้าวกล้องต่อปริมาณกาบาพบว่า ข้าว กล้องงอกที่ผ่านการแช่ในสารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 6 จะมีปริมาณกาบาสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 28.70 ppm สอดคล้องกับการ ทดลองของอรพิน และคณะ (2556) ที่รายงานไว้ว่า เมื่อแช่ ข้าวดอกมะลิ 105 ในสารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 6 จะ ให้ปริมาณกาบาสูงกว่าเมื่อแช่ในสารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 4 โดยในสภาวะที่ปรับให้เป็นกรดเล็กน้อยจะไป กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ glutamate decarboxylase (GAD) ทำให้เปลี่ยนกรดกลูตามิกไปเป็นกาบา Satyanarayan and Nair (1985) รายงานว่า ค่า pH ที่

เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ GAD มีค่าอยู่ ระหว่าง 3.8-7.0 ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับแหล่งของเอนไซม์ จาก งานวิจัยของ Saikusa *et al.* (1994) พบว่า ค่า pH ของ สารละลายที่เหมาะสมที่ใช้แช่ข้าวมีค่าเท่ากับ 5.6 โดยเมื่อ ค่า pH ของสารละลายเพิ่มขึ้นเท่ากับ 8 จะส่งผลให้ ปริมาณกาบาลดลง เนื่องจากที่ค่า pH ดังกล่าว เป็นระดับ ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ transaminase ที่ เร่งให้กาบาเปลี่ยนไปเป็น succinic semialdehyde (Bouché and Fromm, 2004) อย่างไรก็ตาม การแช่ข้าว กล้องในสารละลายเป็นเวลานาน อาจส่งผลให้ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกที่สามารถละลายได้ (soluble phenolic compounds) มีค่าน้อยลง Tian *et al.* (2004) รายงานว่า สารประกอบฟีนอลิกที่สามารถละลายได้ที่ พบในข้าวประกอบด้วยกรดฟีนอลิกอิสระและ hydroxycinnamate sucrose esters โดยมี ferulic acid, feruloylsucrose และ sinapoylsucrose เป็นสารประกอบ ฟีนอลิกที่พบมากที่สุดในกลุ่มนี้ เมื่อทำการวิเคราะห์ ปริมาณสารดังกล่าวในข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก พบว่า feruloylsucrose และ sinapoylsucrose มีปริมาณลดลง ประมาณร้อยละ 70 หลังจากนำข้าวกล้องไปผ่าน กระบวนการงอก แต่ปริมาณ ferulic acid มีค่าเพิ่มขึ้น เท่ากับ 0.48 มิลลิกรัม/แป้งข้าว 100 กรัม เปรียบเทียบกับ ข้าวกล้องธรรมดาที่มีค่าเท่ากับ 0.32 มิลลิกรัม/แป้ง ข้าว 100 กรัม อย่างไรก็ตาม พบว่า ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกที่ไม่สามารถละลายได้ (insoluble phenolic compounds) ที่เกาะตรึงอยู่บริเวณผนังเซลล์ของพืชมีค่า เพิ่มขึ้นหลังจากนำข้าวไปผ่านกระบวนการงอก ทั้งนี้อาจ เนื่องมาจากในระหว่างการงอกข้าวจะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ด้วยกรดหรือด่างขึ้นอยู่กับชนิดของสารละลายที่ใช้แช่ ข้าว ทำให้ผนังเซลล์บางส่วนถูกย่อยและส่งผลให้ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกในรูปอิสระเพิ่มมากขึ้น สำหรับการ ทดลองนี้ ได้พิจารณาปริมาณสารกาบาที่วิเคราะห์ได้เป็น ปัจจัยหลัก จึงเลือกระดับ pH เท่ากับ 6 เป็นสภาวะที่ เหมาะสมในการแช่ข้าวเหนียวกล้องพันธุ์ กข6 เนื่องจาก ให้ปริมาณสารกาบาสูงสุด

เมื่อได้ค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับแช่ข้าวแล้ว จึง ทำการศึกษาระยะเวลาในการแช่ข้าวและบ่มข้าวที่ เหมาะสม จากการวางแผนการทดลองแบบ 3x2 Factorial

ได้ทั้งหมด 6 สิ่งทดลอง ตารางที่ 2 แสดงอิทธิพลของปัจจัยหลัก (main effect) คือ ระยะเวลาในการแช่ข้าวต่อคุณภาพด้านต่าง ๆ ของข้าวกล้องงอก จากตารางพบว่า เมื่อก้าวในสารละลายที่มีค่า pH เท่ากับ 6 เป็นเวลา 3 6 และ 9 ชั่วโมง ไม่ส่งผลต่อค่าสี L^* , a^* และ b^* รวมถึงปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอกติวิตีและปริมาณสารกาบาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาในการแช่ข้าวส่งผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการแช่ข้าวมากขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Charoenthaikij *et al.* (2009) โดยก่อนกระบวนการงอก เมล็ดธัญพืชมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงเพียงเล็กน้อย เนื่องจากน้ำตาลที่ถูกกล้างู่มูลัดจะเปลี่ยนเป็นสตาร์ชเพื่อทำหน้าที่สะสมอาหาร แต่ในระหว่างการงอก สตาร์ชและกลุ่มน้ำตาลเชิงซ้อน (พอลิแซคคาไรด์) จะถูกย่อยให้มีโมเลกุลเล็กลง ซึ่งกระบวนการแช่เมล็ดข้าวในน้ำจะกระตุ้นให้เอนไซม์ทำงาน โดยเอนไซม์หลักที่สำคัญ คือ เอนไซม์แอลฟา-แอมิเลส ที่เข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของแป้งตรงตำแหน่งพันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคสิติกแบบสุ่มจากภายใน โดยในช่วงแรกของกระบวนการงอก เอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ไฮโดรไลซิสโมเลกุลของสตาร์ชคือ เอนไซม์เบต้า-แอมิเลส ซึ่งจะย่อย

ตรงตำแหน่งพันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคสิติกจากตำแหน่ง non-reducing end เข้ามาที่ละ 2 โมเลกุล ทำให้ได้น้ำตาลมอลโตส ส่วนเอนไซม์แอลฟา-แอมิเลสจะทำงานในช่วงท้ายของกระบวนการงอก (Cho and Lim, 2016)

ตารางที่ 3 แสดงอิทธิพลของปัจจัยหลัก คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มข้าวต่อคุณภาพของข้าวกล้องงอก จากตารางพบว่า ระยะเวลาการบ่มข้าวหลังจากแช่น้ำไม่มีผลต่อค่าสี L^* , a^* , b^* และปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เมื่อบ่มข้าวเป็นระยะเวลานานขึ้นส่งผลให้ปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีของข้าวกล้องงอกหลังทำแห้งมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) โดยปริมาณความชื้นมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 8.69 ถึง 12.08 สอดคล้องกับมาตรฐานสินค้าเกษตรข้าวกล้องงอก (มกษ. 4003-2555) ที่กำหนดความชื้นไม่เกินร้อยละ 14 (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2555) จากผลการทดลองยังพบว่า การบ่มข้าวที่ระยะเวลานานขึ้นส่งผลให้มีปริมาณกาบาสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Komatsuzaki *et al.* (2007) ได้ทำการแช่ข้าวสายพันธุ์ Haiminori ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มในกล่องพลาสติกเป็นเวลา 21 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณกรดกลูตามิก

Table 2. Physical and chemical properties¹ of germinated brown rice at different soaking time

Soaking time (h)	Colour value			Moisture content (% on wet basis)	Water activity (a_w)	Reducing sugar content (mg/kg)	GABA content (mg/kg)
	L^*	a^*	b^*				
3	73.88 ± 0.77 ^{ns}	2.28 ± 0.38 ^{ns}	15.99 ± 0.27 ^{ns}	10.91 ± 2.93 ^{ns}	0.565 ± 0.040 ^{ns}	91.91 ± 11.11 ^b	196.36 ± 13.28 ^{ns}
6	72.89 ± 0.58	2.39 ± 0.44	16.02 ± 0.30	10.27 ± 2.16	0.553 ± 0.020	128.29 ± 46.07 ^{ab}	220.14 ± 130.78
9	73.16 ± 0.00	2.33 ± 0.12	16.58 ± 0.33	10.16 ± 1.83	0.561 ± 0.020	178.11 ± 46.56 ^a	274.46 ± 126.13

¹ Two replications

Mean values ± SD followed by different letters in each column were significantly different ($P\leq 0.05$)

Table 3. Physical and chemical properties¹ of germinated brown rice at different incubation time

Incubation time (h)	Colour value			Moisture content (%) on wet basis)	Water activity (a_w)	Reducing sugar content (mg/kg)	GABA content (mg/kg)
	L^*	a^*	b^*				
12	73.35 ± 0.98 ^{ns}	2.38 ± 0.35 ^{ns}	16.14 ± 0.58 ^{ns}	8.69 ± 0.18 ^b	0.540 ± 0.010 ^b	107.11 ± 37.22 ^{ns}	140.72 ± 42.67 ^b
24	73.27 ± 0.08 ^{ns}	2.29 ± 0.23 ^{ns}	16.26 ± 0.08 ^{ns}	12.08 ± 0.80 ^a	0.589 ± 0.010 ^a	158.44 ± 51.75 ^{ns}	320.41 ± 83.97 ^a

¹ Two replications

Mean values ± SD followed by different letters in each column were significantly different ($P\leq 0.05$)

และสารกาบาที่มีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ เนื่องมาจากกรดกลูตามิกสังเคราะห์จากกระบวนการทำงานของเอนไซม์ glutamate synthase-glutamine synthetase (GOGAT-GS pathway) ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ซึ่งกรดกลูตามิกมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสะสมสารกาบาและอะมิโนซินโดลานิน และยังมีรายงานว่า สารกาบามีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อพืชตอบสนองต่อความเครียด เช่น สภาวะที่มีออกซิเจนน้อย (Roberts *et al.*, 1984) สภาวะเย็นจัด และในความมืด (Servaites *et al.*, 1979)

ตารางที่ 4 แสดงค่าคุณภาพข้าวกล้องงอกทั้ง 6 สิ่งทดสอบจากอิทธิพลร่วม (interaction effect) ระหว่างระยะเวลาในการแช่และบ่มข้าว โดยพบว่า ตัวอย่างข้าวกล้องงอกที่ผ่านการแช่น้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มต่อเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง จะมีค่าความสว่าง (L^*) สูง แต่จะมีค่าความเป็นสีแดงถึงสีเขียว (a^*) และค่าความเป็นสีเหลืองถึงสีน้ำเงิน (b^*) ต่ำกว่าสิ่งทดสอบอื่น ๆ ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับปฏิกิริยาเมลลาร์ดมีน้อยกว่าสิ่งทดสอบอื่น ๆ ทำให้การเกิดสีน้ำตาลลดลง

เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 6 สิ่งทดสอบ พบว่า ตัวอย่างข้าวกล้องงอกที่ผ่านการแช่น้ำเป็นเวลา 9 ชั่วโมง แล้วนำไปบ่มต่อเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงและสารกาบาสูงที่สุด ($P \leq 0.05$) ดังนั้น จึงเลือกสภาวะดังกล่าวสำหรับเพาะงอกข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 และใช้ในการพัฒนาขนมขบเคี้ยวต่อไป

กระบวนการผลิตข้าวพองประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ ได้แก่ 1) การเจลาติไนซ์เซชันของสตาร์ช 2) การทำให้สตาร์ชเย็นตัวลง 3) การทำแห้ง และ 4) การทำให้พอง โดยในกระบวนการเจลาติไนซ์เซชันเป็นกระบวนการให้ความร้อนแก่สารละลายสตาร์ช ทำให้เม็ดสตาร์ชค่อย ๆ ดูดน้ำและพองตัวออก (swell) และมีเอมิโลสส่วนที่ละลายได้ในน้ำหลุดออกมา ทำให้ได้สารละลายที่มีลักษณะข้น (paste) ต่อมาในขั้นตอนการทำให้เย็นตัวลง จะทำให้เกิดกระบวนการรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) หรือเกิดการเคลื่อนที่กลับมารวมตัวกันของโมเลกุลของเอมิโลสและเอมิโลเพคติน และขับน้ำออกจากโมเลกุล ทำให้แผ่นแป้งมีลักษณะเป็นเจลแข็ง ทงรูป จากนั้นจึงทำการลดปริมาณความชื้นของแผ่นข้าว โดยหากแผ่นข้าวแห้งมีปริมาณความชื้นไม่เหมาะสมจะส่งผลต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ เช่น มีลักษณะแข็ง ไม่กรอบ ดังนั้น ค่าปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีของแผ่นข้าวแห้งจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ข้าวพองในการทดลองนี้ หลังจากนี้สารละลายน้ำแป้งด้วยไอน้ำจนได้เจลแป้งแล้ว จะทำการคนให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้เกิดโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นโพรงอากาศในผลิตภัณฑ์ จากนั้นจึงนำมารีดเป็นแผ่นบาง 2 มิลลิเมตร ตัดเป็นแผ่น (2x2 เซนติเมตร) แล้วนำไปแช่เย็น (อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส) ซึ่งจะให้เกิดการคืนตัว (set back) ที่อุณหภูมิต่ำ สามารถชะลอการแยกตัวของน้ำออกจากโมเลกุลของสตาร์ช โดยน้ำจะถูกเอมิโลสและ

Table 4. Physical and chemical properties¹ of germinated brown rice at different interaction effect of soaking time and incubation time

Soaking time (h)	Incubation time (h)	Colour value			Moisture content (% on wet basis)	Water activity (a_w)	Reducing sugar content (mg/kg)	GABA content (mg/kg)
		L^*	a^*	b^*				
3	12	74.43 ± 0.12 ^a	2.01 ± 0.19 ^d	15.80 ± 0.14 ^b	8.49 ± 0.70 ^c	0.53 ± 0.02 ^c	86.77 ± 11.19 ^d	143.78 ± 1.91 ^b
3	24	72.48 ± 0.00 ^c	2.71 ± 0.00 ^a	15.81 ± 0.24 ^b	12.99 ± 0.18 ^a	0.59 ± 0.03 ^{ab}	97.06 ± 11.79 ^{cd}	209.48 ± 4.00 ^b
6	12	73.16 ± 0.01 ^b	2.42 ± 0.26 ^{bc}	16.82 ± 0.14 ^a	8.74 ± 0.01 ^c	0.54 ± 0.00 ^{ab}	88.84 ± 4.94 ^d	89.96 ± 5.48 ^d
6	24	73.33 ± 0.01 ^b	2.55 ± 0.07 ^{ab}	16.19 ± 0.28 ^{ab}	11.80 ± 0.20 ^{ab}	0.57 ± 0.02 ^{abc}	167.74 ± 10.80 ^{ab}	351.46 ± 6.80 ^a
9	12	73.31 ± 0.06 ^b	2.08 ± 0.14 ^{cd}	16.24 ± 0.77 ^{ab}	8.86 ± 0.31 ^c	0.55 ± 0.01 ^{abc}	145.71 ± 47.99 ^{bc}	148.41 ± 5.91 ^{bc}
9	24	73.17 ± 0.45 ^b	2.25 ± 0.08 ^{bc}	16.35 ± 0.04 ^{ab}	11.46 ± 1.43 ^{ab}	0.58 ± 0.01 ^{abc}	210.51 ± 1.76 ^a	400.27 ± 16.10 ^a

¹ Two replications

Mean values ± SD followed by different letters in each column were significantly different ($P \leq 0.05$)

แอมิโลเพกตินอุ้มไว้ในโครงสร้าง ทำให้ได้เจลที่มีความคงตัว จากตารางที่ 5 พบว่า เมื่อระยะเวลาที่ใช้ในการแช่เย็นแผ่นแป้งข้าวเหนียวขึ้น ส่งผลให้ปริมาณความชื้นของแผ่นข้าวมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการระเหยของน้ำจากผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ โดยเมื่อนำแผ่นแป้งไปทำให้พองด้วยวิธีการอบที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที พบว่า สิ่งทดลองที่มีปริมาณความชื้นหลังแช่เย็นสูง จะส่งผลให้มีปริมาณความชื้นหลงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์หลังอบสูงตามไปด้วย เมื่อพิจารณาอัตราการพองและอัตราการขยายตัวเชิงปริมาตร พบว่า แผ่นแป้งที่ผ่านการแช่เย็นเป็นเวลานานขึ้น อัตราการพองตัวของผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มลดลง เช่นเดียวกับอัตราการขยายตัวเชิงปริมาตรซึ่งจะมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จากการทดลอง พบว่า เมื่อแช่เย็นเป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง ส่งผลให้แผ่นแป้งมีปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 11.84 ในขณะที่การแช่เย็นแผ่นแป้งเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แผ่นแป้งจะมีความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 16.91 ถึง 17.26 ทั้งนี้ ในขั้นตอนการพองตัว ความร้อนจะทำให้ น้ำในผลิตภัณฑ์ระเหยกลายเป็นไอ ส่งผลให้เกิดการขยายตัวของช่องอากาศ และโครงสร้างมีการขยายตัวขึ้น หากปริมาณความชื้นของแผ่นแป้งก่อนอบมีค่าสูงเกินไป จะทำให้การเกิดช่องอากาศที่มีลักษณะไม่สม่ำเสมอ และยังเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม หากความชื้นของแผ่นแป้งมีปริมาณน้อยเกินไปก็จะลดการเกิดโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นรูพรุน ทำให้การพองตัวลดลง (Lim and Han, 2016)

จากการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง texture analyzer ด้านความแข็ง (hardness) และความกรอบ (crispness) พบว่า ระยะเวลาการแช่เย็นแผ่นแป้งก่อนอบไม่ส่งผลต่อค่าความแข็งของผลิตภัณฑ์ ($P > 0.05$) โดยค่าความแข็งของทั้ง 4 สิ่งทดลอง มีค่าเท่ากับ 18.16 ถึง 22.90 นิวตัน อย่างไรก็ตาม ความกรอบของผลิตภัณฑ์จากแผ่นแป้งที่ผ่านการแช่เย็นที่ระยะเวลาต่าง ๆ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยค่าความกรอบของผลิตภัณฑ์จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการแช่เย็นแผ่นแป้งนานขึ้น (ปริมาณความชื้นแผ่นแป้งต่ำ) ทั้งนี้ คุณลักษณะด้านความกรอบและความแข็งเป็นลักษณะทางประสาทสัมผัสที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยว โดยผลิตภัณฑ์ที่มีค่าความแข็งต่ำและค่าความกรอบสูงจะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Kayacier and Singh, 2003) เช่นเดียวกับงานวิจัยของพัชรี และสุภาณี (2560) รายงานว่า คะแนนความชอบด้านเนื้อสัมผัสมีความสัมพันธ์กับคุณลักษณะด้านความแข็งของผลิตภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์ที่มีค่าความแข็งต่ำจะได้รับคะแนนความชอบมากกว่า สำหรับงานวิจัยนี้ เมื่อพิจารณาคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale พบว่า คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ ความแข็ง ความกรอบ และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 สิ่งทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังนั้น จึงเลือกใช้ระยะเวลาการแช่เย็น เท่ากับ 36 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่น้อยที่สุด และลดระยะเวลารวมในการผลิตผลิตภัณฑ์

Table 5. Physical¹ and sensory² properties of puffed rice snacks at different chilling time

Chill time (h)	Moisture content before puffing (% on wet basis)	Moisture content after puffing (% on wet basis)	Expansion degree	Volume expansion ratio	Hardness (N)	Crispness (kg.sec)	Sensory score			
							Appearance	Hardness	Crispness	Overall liking
36	17.26 ± 1.52 ^a	5.76 ± 1.30 ^{ns}	1.59 ± 0.17 ^{ns}	2.47 ± 0.13 ^a	18.16 ± 4.21 ^{ns}	38.57 ± 11.27 ^c	6.5 ± 1.10 ^{ns}	6.9 ± 1.02 ^{ns}	6.8 ± 0.86 ^{ns}	6.8 ± 0.96 ^{ns}
48	17.06 ± 1.52 ^a	5.14 ± 0.95	1.52 ± 0.17	2.16 ± 0.20 ^{ab}	22.90 ± 8.29	72.87 ± 12.02 ^b	6.6 ± 1.21	6.9 ± 1.08	7.0 ± 0.94	6.8 ± 0.99
60	16.91 ± 0.41 ^a	5.00 ± 0.72	1.51 ± 0.18	2.02 ± 0.46 ^c	21.02 ± 10.92	79.52 ± 8.70 ^b	6.1 ± 1.26	6.5 ± 1.04	6.6 ± 1.03	6.4 ± 0.93
72	11.84 ± 1.02 ^b	4.77 ± 0.12	1.46 ± 0.38	1.98 ± 0.34 ^c	19.73 ± 3.94	109.52 ± 13.72 ^a	6.6 ± 1.06	6.9 ± 0.84	6.9 ± 0.73	6.6 ± 0.84

¹ Mean ± standard deviation based on two replications; ² Mean ± standard deviation based on 30 panels and on a 9-point hedonic scale

Means within each column followed by a different letter are significantly different ($P \leq 0.05$)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ข้าวอบพองจากข้าวกล้องงอกที่พัฒนาได้ไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 60 คน พบว่า คะแนนความชอบของผู้บริโภคด้านลักษณะปรากฏ ความแข็ง ความกรอบ และความชอบโดยรวม มีค่าเท่ากับ 6.7 ± 1.0 , 6.4 ± 1.2 , 7.4 ± 0.9 และ 7.2 ± 0.9 ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหารโดยประมาณ พบว่า มีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน โยอาหารหยาบ เถ้า และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับร้อยละ 3.76 ± 0.80 , 9.76 ± 0.89 , 1.25 ± 0.47 , 3.12 ± 0.14 , 0.60 ± 0.01 และ 81.51 ± 2.36 ตามลำดับ ทำการตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ พบว่า มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^2 cfu/g และไม่พบยีสต์และรา ซึ่งสอดคล้องกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนข้าวพอง (มพช.723/2548) ที่กำหนดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^3 cfu/g และราต้องไม่เกิน 100 cfu/g และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารกาบาด้วยวิธี HPLC พบว่า มีค่าเท่ากับ 322.05 ± 22.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีปริมาณสารกาบาสูงกว่าในผลิตภัณฑ์น้ำข้าวกล้องงอกผสมกากมะเขือเทศที่อยู่ในช่วง 0.77-22.95 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (วัฒนา, 2555) และในผลิตภัณฑ์เจ๊กข้าวกล้องงอกกึ่งสำเร็จรูปที่พบว่ามีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 60.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ธวัชชัย, 2554) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากความแตกต่างในขั้นตอนการเพาะงอก สายพันธุ์ข้าว รวมถึงกระบวนการที่ใช้ในแต่ละผลิตภัณฑ์ สำหรับข้อเสนอแนะด้านบรรจุภัณฑ์สำหรับการจัดหน่ายในเชิงพาณิชย์ เนื่องด้วยผลิตภัณฑ์ข้าวอบพองเป็นผลิตภัณฑ์ที่อาจเสียคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสได้เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน ดังนั้น ควรเลือกบรรจุภัณฑ์ที่สามารถกันอากาศ ความชื้น และแสง หรืออาจจะมีการใช้ก๊าซไนโตรเจนเพื่อลดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ก่อให้เกิดการเหม็นหืน (rancidity) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ให้นานกว่าปกติ รวมถึงควรคำนึงถึงการออกแบบบรรจุภัณฑ์ให้มีความสวยงาม และดึงดูดใจผู้บริโภค

สรุป

สำหรับการทดลองนี้ สภาวะที่เหมาะสมในการงอกข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 คือ การแช่ข้าวกล้องในน้ำที่มีค่า

pH เท่ากับ 6 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 ชั่วโมง จากนั้นล้างให้สะอาดแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปทำแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยข้าวกล้องงอกที่ได้มีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 400.27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อนำข้าวกล้องงอกที่ได้ไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวพองอบกรอบ โดยบดเป็นผง ผสมน้ำ นึ่ง และรีดเป็นแผ่น และนำไปลดความชื้นโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง แล้วนำมาอบพองที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคะแนนความชอบของผู้บริโภคในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก มีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน โยอาหารหยาบ เถ้า และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับร้อยละ 3.76, 9.76, 1.25, 3.12, 0.60 และ 81.51 ตามลำดับ และมีปริมาณสารกาบาเท่ากับ 322.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ประจำปีงบประมาณ 2559

เอกสารอ้างอิง

- จักรพงษ์ ไชยะพันธ์ กมลวรรณ แจ่มชัด และ พัทรี ตั้งตระกูล. 2554. ผลของสภาพการงอกต่อสมบัติความหนืดและปริมาณ GABA ของแป้งข้าวกล้องงอกที่ผลิตจากข้าวเปลือก. หน้า 210-217. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จิตติมนพาน์ วงศ์ษา สมบูรณ์ศักดิ์ ศิลาเป็เรือง รพีพร เขียมสะอาด และ เบญจวรรณ ธรรมธนารักษ์. 2556. ผลของข้าวเจ้าหอมมะลิที่มีต่อการพองตัวของผลิตภัณฑ์ข้าวอบกรอบได้ปลา น้ำพริกเผา. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 44(2) (พิเศษ): 329-332.

- ชนิษฐา วงศ์บาสก์. 2553. การพัฒนาอาหารว่างประเภท
หนึ่งจากแป้งข้าวเหนียวกลึงออกไส้ถั่วกวนผสม
สตอเบอรี่กวน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ. 141 หน้า.
- ธวัชชัย ศุภวิทิตพัฒนา. 2554. ผลของสารก่อโพรที่มีต่อ
สมบัติของโจ๊กข้าวกลึงออกกึ่งสำเร็จรูปที่ผลิต
ด้วยวิธีโพร-เมท. สักทอง: วารสารมนุษยศาสตร์
และสังคมศาสตร์ 17(1): 1-12.
- นิธิยา รัตนพานนท์. 2558. เคมีอาหาร. โอเดียนสโตร์,
กรุงเทพฯ. 487 หน้า.
- ประชาชาติธุรกิจออนไลน์. 2560. ส่งออกข้าว ปี 60 แข่ง
เดือด ไทยหันราคาหนีเวียดนาม-อินเดีย. (ระบบ
ออนไลน์). แหล่งข้อมูล : https://www.prachachat.net/news_detail.php?newsid=1486548257 (1 สิงหาคม 2560).
- พัชรี แดงดวง และ สุภาณี ด้านวิริยะกุล. 2560. การใช้แป้ง
ข้าวกลึงพรีเจลาติไนซ์ทดแทนแป้งสาลีในขนม
ปังแผ่นอบกรอบ. วารสารเกษตร 33(2): 291-298.
- รัชณี ไสยประจักษ์ และ สุพวงษ์ พินิจกลาง. 2555. การศึกษา
การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนและ
ส่วนประกอบกรดอะมิโนในข้าวหลายสายพันธุ์
จากประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร
43(2) (พิเศษ): 277-280.
- วัฒนา วิรุฒิกกร. 2555. ผลของอัตราส่วนกากมะเขือเทศ
ผงและข้าวกลึงผงที่มีต่อการผลิตเครื่องดื่ม
กากมะเขือเทศผงผสมข้าวกลึงผง. รายงานการ
วิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี,
ปทุมธานี. 54 หน้า.
- ศุภนุช ไส้แบ่ง. 2554. การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเข้า
ธัญพืชจากข้าวกลึงออกด้วยกระบวนการเอกซ์
ทราซัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 133 หน้า.
- ศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรม. 2560. ส่วนแบ่งตลาดขนม
ขบเคี้ยว ปี 2559. (ระบบออนไลน์).
แหล่งข้อมูล : <http://fic.nfi.or.th/MarketOverviewDomesticDetail.php?id=138>
(1 มกราคม 2561).
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ.
2555. การปฏิบัติที่ดีสำหรับการผลิตข้าวกลึง
งอก (Good Manufacturing Practices for
Germinated Brown Rice). สำนักงาน
มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ,
กรุงเทพฯ. 16 หน้า.
- อรพิน เกิดชูชื่น ญัฐรา เลหากุลจิตต์ และ อรทัย โกกิลก
นิษฐ. 2556. ผลของพีเอชและอุณหภูมิของน้ำที่
ใช้แช่เมล็ดข้าวต่อคุณค่าทางอาหารของข้าว
กลึงออกพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105. SDU
Research Journal Sciences and
Technology 6(1): 171-186.
- อรรณพ ศรีโสมพันธ์ และ ทัดพิชา เจริญรัตน์. 2557. ข้าว
เหนียวในประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน: โอกาสหรือ
ข้อจำกัดของไทย. แก่นเกษตร 42(1): 119-128.
- อุบลรัตน์ ลีกำจร กมลวรรณ แจ่มชัด ดวงมล ฉายะศิริ-
พันธ์ และ พัชรี ตั้งตระกูล. 2556. ผลของการแช่
ข้าวกลึงพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ในสารละลาย
ไคโตซานร่วมกับกรดต่อคุณภาพของแป้งข้าว
กลึงออก. หน้า 368-375. ใน: การประชุมทาง
วิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่
51, มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC
International. (17th ed). AOAC International,
Washington, D.C.
- Bouche, N. and H. Fromm. 2004. GABA in plants:
Just a metabolite? Trends in Plant Science
9(3): 110-115.
- Charoenthakij, P., K. Jangchud, A. Jangchud, K.
Piyachomkwan, P. Tungtrakul and W.
Prinyawiwatkul. 2009. Germination
conditions affect physicochemical
properties of germinated brown rice flour.
Journal of Food Science 74(9): 658-665.
- Cho, D.H. and S.T. Lim. 2016. Germinated brown
rice and its bio-functional compounds. Food
Chemistry 196: 259-271.

- Jiamyangyuen, S. and B. Ooraiikul. 2008. The physico-chemical, eating and sensorial properties of germinated brown rice. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 6: 119-124.
- Kayacier, A. and R.K. Singh. 2003. Textural properties of baked tortilla chips. *LWT- Food Science and Technology* 36(5): 463-466.
- Komatsuzaki, N., K. Tsukahara, H. Toyoshima, T. Suzuki, N. Shimizu and T. Kimura. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. *Journal of Food Engineering* 78(2): 556-560.
- Lim, S.T. and J.A. Han. 2016. Improvement in antioxidant functionality and shelf life of yukwa (fried rice snack) by turmeric (*Curcuma longa* L.) powder addition. *Food Chemistry* 199: 590-596.
- Maetens, E., N. Hettiarachchy, K. Dewettinck, R. Horax, K. Moens and D.O. Moseley. 2017. Physicochemical and nutritional properties of a healthy snack chip developed from germinated soybeans. *LWT-Food Science and Technology* 84: 505-510.
- Mamiya, T., T. Asanuma, M. Kise, Y. Ito, A. Mizukuchi, H. Aoto and M. Ukai. 2004. Effects of pre-germinated brown rice on beta-amyloid protein-induced learning and memory deficits in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 27(7): 1041-1045.
- Mir, S.A., S.J.D. Bosco, M.A. Shah and M.M. Mir. 2016. Effect of puffing on physical and antioxidant properties of brown rice. *Food Chemistry* 191: 139-146.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry* 153(3): 376-380.
- Oh, C.H. and S.H. Oh. 2004. Effects of germinated brown rice extracts with enhanced levels of GABA on cancer cell proliferation and apoptosis. *Journal of Medicinal Food* 7(1): 19-23.
- Petroff, O.A. 2002. GABA and glutamate in human brain. *Neuroscientist* 8(6): 562-573.
- Roberts, J.K.M., J. Callis, D. Wemmer, V. Walbot and O. Jardetzky. 1984. Mechanism of cytoplasmic pH regulation in hypoxic maize root tips and its role in survival under hypoxia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81: 3379-3383.
- Saikusa, T., T. Horino and Y. Mori. 1994. Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(5): 1122-1125.
- Saman, P., J.A. Vazquez and S.S. Pandiella. 2008. Controlled germination to enhance the functional properties of rice. *Process Biochemistry* 43(12): 1377-1382.
- Satyanarayan, V. and P.M. Nair. 1985. Purification and characterization of glutamate decarboxylase from *Solanum tuberosum*. *European Journal of Biochemistry* 150(1): 53-60.
- Servaites, J.C., L.E. Schrader and D.M. Jung. 1979. Energy-dependent loading of amino acids and sucrose into the phloem of soybean. *Plant Physiology* 64(4): 546-550.
- Tian, S., K. Nakamura and H. Kayahara. 2004. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4808-4813.

Tian, B., B. Xie, J. Shi, J. Wu, Y. Cai, T. Xu, S. Xue
and Q. Deng. 2010. Physicochemical
changes of oat seeds during germination.
Food Chemistry 119: 1195-1200.

ผลของสายพันธุ์และสูตรอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิตลิพิด ในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสกุล *Chlorella*

Effects of Algal Strains and Culture Media on Lipid Productivity in Green Microalgae, Genus *Chlorella*

ปติรุจ จิรกาลวงศ์^{1, 2} วีระพันธุ์ สรียอดจันทร³ และ อรอุมา ตนะคุลย์^{1, 2, 3*}

Patiruj Jirakranwong^{1, 2}, Weeraphan Sridokchan³ and Orn-u-ma Tanadul^{1, 2, 3*}

¹ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

¹Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

²ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

²Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand

³ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

³Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Nakhon Pathom 73140, Thailand

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

(Received: 1 August 2017; Accepted: 4 December 2017)

Abstract: The effects of microalgae strains, culture media and interaction of microalgae strain and culture media were investigated on their specific growth rate, biomass yield, biomass productivity, lipid content and lipid productivity. Three strains of microalgae named 6-4, 208 and 209 were enriched in three different growth media (TAP, BG11 and N8 medium). The result showed that microalgae strain had statistically significant effect on lipid content and productivity. Microalgae strain 6-4 showed the highest lipid content 8.33% and lipid productivity 1.39 g/L/d. Culture media had significant effect on all parameter (specific growth rate, biomass, biomass productivity, lipid content and lipid productivity). TAP culture medium showed the highest specific growth rate, biomass yield and biomass productivity at 0.17 /d, 1.11 g/L and 0.12 g/L/d, respectively. However, the lipid content and lipid productivity from microalgae culturing by TAP and BG11 were not statistically significant difference. The interaction of microalgae strain and culture media were statistically significant effect on specific growth rate, lipid content and lipid productivity. Microalgae strain 6-4 culturing in TAP media showed the highest lipid content 10.55% and lipid productivity 1.76 g/L/d. Due to the fact that lipid productivity is a key factor for biofuel production therefore microalgae strain 6-4 culturing in TAP medium should be considered.

Keywords: Culture media, microalgae, lipid productivity

บทคัดย่อ: การทดสอบอิทธิพลของสายพันธุ์สาหร่าย สูตรอาหารเพาะเลี้ยง และปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารเพาะเลี้ยงต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ผลผลิตชีวมวล ประสิทธิภาพการผลิตชีวมวล ปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิด โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ 6-4, 208 และ 209 ในอาหาร 3 สูตร ได้แก่ TAP, BG11 และ N8 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์สาหร่ายมีผลต่อปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 ผลผลิตลิพิดได้สูงสุดที่ 8.33 เปอร์เซ็นต์ และมีประสิทธิภาพการผลิตลิพิด 1.39 กรัมต่อลิตรต่อวัน สูตรอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อทุกตัวแปร (อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ผลผลิตชีวมวล ประสิทธิภาพการผลิตชีวมวล ปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิด) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอาหารสูตร TAP ทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโต ผลผลิตชีวมวล และประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลสูงที่สุดเท่ากับ 0.17 ต่อวัน 1.11 กรัมต่อลิตร และ 0.12 กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม ปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดของสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร TAP และ BG11 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร TAP มีปริมาณลิพิดสูงที่สุดเท่ากับ 10.5 เปอร์เซ็นต์ และมีประสิทธิภาพการผลิตลิพิด 1.76 กรัมต่อลิตรต่อวัน เนื่องจากประสิทธิภาพการผลิตลิพิดเป็นปัจจัยหลักในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ ดังนั้นสาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร TAP ควรได้รับการพิจารณา

คำสำคัญ: สูตรอาหารเพาะเลี้ยง สาหร่ายขนาดเล็ก ประสิทธิภาพการผลิตลิพิด

คำนำ

ปัจจุบันได้มีการนำพลังงานจากฟอสซิลมาใช้เป็นจำนวนมากจึงมีการคาดการณ์ว่าในอนาคตนั้นจะเกิดวิกฤติทางด้านพลังงานขึ้น จึงมีการหาพลังงานอื่น ๆ มาทดแทน เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานน้ำ พลังงานความร้อนใต้พิภพ และพลังงานจากเชื้อเพลิงชีวภาพ ซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กนั้นถูกจัดว่าเป็นแหล่งเชื้อเพลิงชีวภาพในยุคที่ 3 รองจากพืชอาหารที่ให้แป้ง น้ำตาล และน้ำมันในยุคที่หนึ่ง และแหล่งวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส เช่น หญ้าและไม้โตเร็ว และเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในยุคที่สอง เหตุผลหลักที่สาหร่ายถูกพัฒนาให้มาแทนที่เชื้อเพลิงชีวภาพในยุคที่ 1 และ 2 นั้นเนื่องจากหนึ่งสาหร่ายที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทนไม่ใช่พืชอาหารของมนุษย์จึงสามารถแก้ปัญหาราคาพืชอาหารที่สูงขึ้น และการขาดแคลนพืชอาหารได้ และสองสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำจืด น้ำเค็ม น้ำกร่อย หรือแม้กระทั่งในน้ำเสียจึงช่วยลดปัญหาการแย่งพื้นที่ที่อุดมสมบูรณ์และน้ำในการผลิตไม้หรือหญ้าโตเร็วดังเช่นการผลิตวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลสในยุคที่ 2 ได้ นอกเหนือจากนี้สาหร่ายขนาด

เล็กนั้นยังสามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ใช้ในการเจริญเติบโตจึงเป็นการช่วยลดสภาวะโลกร้อนได้อีกด้วย

สาหร่ายขนาดเล็กถือเป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพที่มีศักยภาพในการแทนที่เชื้อเพลิงจากปิโตรเลียมได้ ซึ่งแตกต่างกับพืชน้ำมันชนิดอื่น เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว สาหร่ายบางสายพันธุ์สามารถเพิ่มชีวมวลได้ถึง 2 เท่า ภายในเวลา 24 ชั่วโมง สาหร่ายสะสมน้ำมันได้ 20-50% ของน้ำหนักแห้ง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (Chisti, 2007) สาหร่ายมีช่วงอายุการเจริญเติบโตที่สั้น เก็บเกี่ยวผลผลิตได้หลายครั้งในหนึ่งปี ทำให้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่ได้จากพืชพลังงานอื่น ๆ กับสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่า น้ำมันที่ได้จากพืชพลังงานนั้นจะมีปริมาณที่น้อยกว่าน้ำมันที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก ยกตัวอย่างเช่น ปาล์มน้ำมันให้น้ำมันได้ 5,950 ลิตรต่อเฮกตาร์ ในขณะที่สาหร่ายขนาดเล็กให้น้ำมันสูงถึง 58,700-136,900 ลิตรต่อเฮกตาร์ (Chisti, 2007) ปัจจัยหลักสำหรับการผลิตไบโอดีเซลนอกเหนือจากสายพันธุ์สาหร่ายแล้ว ประสิทธิภาพการผลิตลิพิดนับว่าเป็นลักษณะที่สำคัญอย่างยิ่ง (Griffiths and Harrison, 2009) ซึ่งประสิทธิภาพการผลิตลิพิดจะขึ้นอยู่กับปริมาณลิพิดที่สาหร่ายสามารถสะสมได้ และผลผลิต

อุปกรณ์และวิธีการ

สายพันธุ์ สูตรอาหาร และการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp. จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ 6-4 ที่คัดเลือกได้จากอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี สายพันธุ์ 208 และ 209 ได้รับความอนุเคราะห์จาก คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor) ขนาด 700 มิลลิลิตร ด้วยอาหาร 3 สูตร คือ อาหารสูตร Tris Acetate Phosphate; TAP (Harris, 1989) อาหารสูตร BG11 (blue-green medium) (Stanier *et al.*, 1971) และ อาหารสูตร N8 (Mandalam and Palsson, 1998) ในสภาวะให้แสง 16 ชั่วโมง และมีมืด 8 ชั่วโมง อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยการหาน้ำหนักแห้ง (ภาพที่ 1) ทุกวันเป็นเวลา 7 วัน คำนวณน้ำหนักแห้ง และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดังสมการ 1 และ 2

น้ำหนักแห้ง (g/L) = น้ำหนักกระดาดากรองและเซลล์ (g)

- น้ำหนักกระดาดากรอง (g)

-----สมการที่ 1

ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ = $(\ln X_2 - \ln X_1) / t$

-----สมการที่ 2

เมื่อ X_1 และ X_2 คือ น้ำหนักแห้งในวันแรกและวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ

t คือ จำนวนวันของการเพาะเลี้ยง

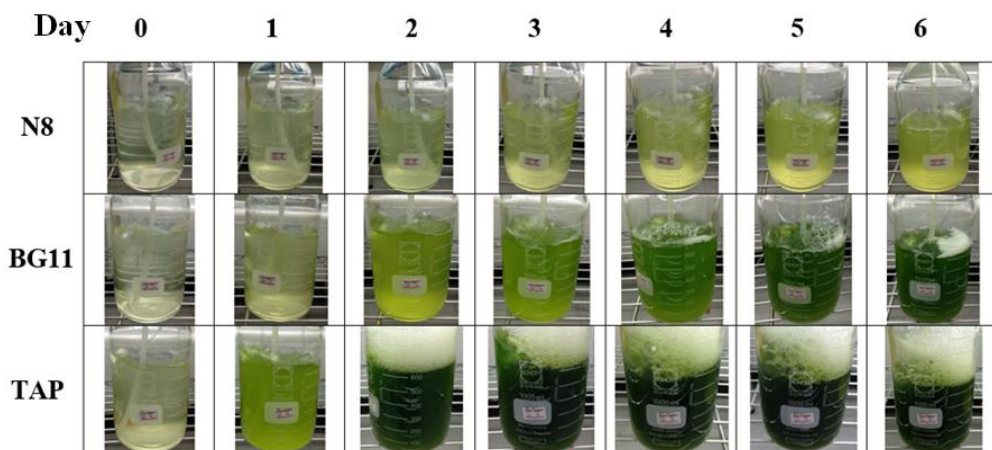


Figure 1. Growth of microalgae strain 6-4 when grown in N8, BG11 and TAP media from day 0 to day 6 of culturing

การเก็บเกี่ยวสาหร่าย และสกัดลิพิด

เก็บเกี่ยวสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,500 รอบ/นาที นาน 5 นาที ล้างตัวอย่างสาหร่ายด้วยน้ำกลั่น 3 รอบ แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer สกัดลิพิดตามวิธีที่รายงานโดย ผกา มาศ และคณะ (2560) โดยนำตัวอย่างสาหร่ายที่ทำให้แห้งด้วย freeze dryer ปริมาณ 20 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร เติมน้ำมัน solch solvent (คลอโรฟอร์ม : เมทานอล; 2:1) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex ให้สารผสมกัน จากนั้นนำเข้าเครื่องอัลตราโซนิก ที่ความถี่ 20 kHz ระดับพลังงานที่ 40 วัตต์ ระยะเวลา 10 นาที จำนวนหลอดละ 4 รอบ จากนั้นเติม 0.9% โซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ผสมสารด้วยเครื่อง vortex นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนออกจากส่วนที่ใส ที่ความเร็ว 5000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการดูดของเหลวชั้นล่างสุดเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณลิพิด

การวิเคราะห์ลิพิด

วิเคราะห์ปริมาณลิพิดตามวิธีที่รายงานโดย Tanadul et al. (2014) โดยนำตัวอย่างลิพิดที่ได้จากการสกัดลิพิดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกปริมาตร 30 ไมโครลิตร หยดลงบน PCR plate ตัวอย่างละสามหลุม และหยด lipid standards ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม ปริมาตร 0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 60 และ 80 ไมโครลิตร ตามลำดับ ความเข้มข้นละ 3 หลุมเช่นกัน จากนั้นทำการระเหยสาร solch solvent ออกจากตัวอย่างด้วย heating block ที่ 90 องศาเซลเซียส จนกว่าตัวอย่างจะแห้ง จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร ด้วย multiple pipette ผสมสารให้เข้ากันจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นนำไปใส่ใน heating block ที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer-plate reader ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หลังจากนั้นเติมกรดวานิลลิน-ฟอสฟอริก ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจำนวน 5 ครั้ง แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรอีกครั้ง ทำการคำนวณหาปริมาณลิพิดโดยการหักลบ

ของค่าการดูดกลืนแสงก่อนเติมกับค่าการดูดกลืนแสงหลัง กรดวานิลลิน-ฟอสฟอริกจะได้เป็นค่าการดูดกลืนแสงสุทธิ แทนค่าลงในสมการเส้นตรง lipid standard

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial in CRD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ปัจจัยที่หนึ่งคือสายพันธุ์สาหร่าย จำนวน 3 สายพันธุ์ และปัจจัยที่สองคือสูตรอาหารจำนวน 3 สูตร วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้วิธี analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม R (package agricolae) จากผลการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ผลผลิตชีวมวล และประสิทธิภาพการผลิตชีวมวล

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ 6-4, 208 และ 209 ในอาหาร 3 สูตร คือ อาหารสูตร TAP, BG11 และอาหารสูตร N8 (ภาพที่ 1) และเปรียบเทียบการเจริญเติบโตด้วยวิธีหาน้ำหนักแห้งดังภาพที่ 2 พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ผลผลิตชีวมวลและประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.09-0.12 ต่อวัน 0.56-0.69 กรัมต่อลิตร และ 0.05-0.06 กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตามลำดับ) (ตารางที่ 1)

อย่างไรก็ตาม พบว่าสูตรอาหารทั้งสามสูตรมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ผลผลิตชีวมวลและประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลของสาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะอาหารสูตร TAP มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดที่ 0.17 ต่อวัน มีผลผลิตชีวมวลและประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลสูงที่สุดที่ 1.11 กรัมต่อวัน และ 0.12 กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตามลำดับ) อาหารสูตร BG11 มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

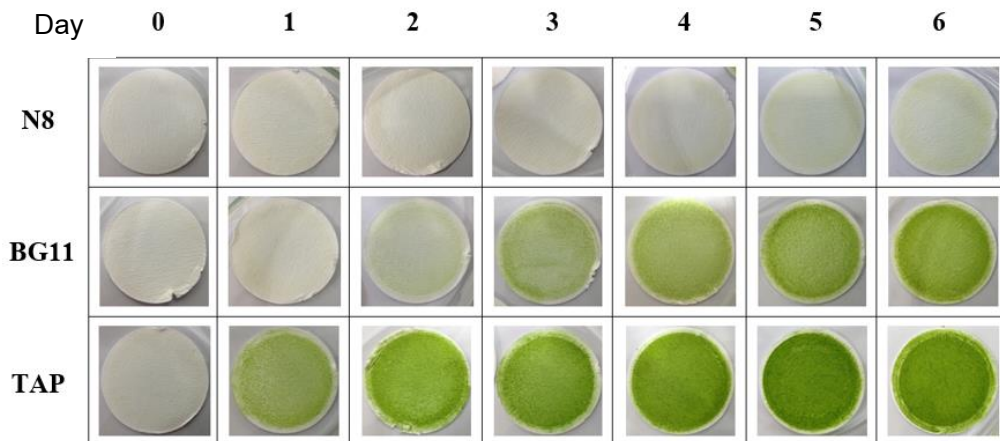


Figure 2. Biomass determination of microalgae strain 6-4 when grown in N8, BG11 and TAP media from day 0 to day 6 of culturing

Table 1. Effect of algal strains, media and interaction of algal strains and media on specific growth rate, biomass yield, biomass productivity, lipid content and lipid productivity

Treatment	Specific growth rate (/d)	Biomass yield (g/L)	Biomass productivity (g/L/d)	Lipid content (%)	Lipid productivity (g/L/d)
St.					
6-4	0.12 ± 0.08	0.69 ± 0.50	0.06 ± 0.01	8.33 ± 2.11 ^a	1.39 ± 0.35 ^a
208	0.10 ± 0.08	0.56 ± 0.36	0.05 ± 0.01	6.95 ± 2.07 ^b	1.15 ± 0.34 ^b
209	0.09 ± 0.04	0.59 ± 0.36	0.05 ± 0.01	3.16 ± 0.78 ^c	0.52 ± 0.13 ^c
F test	NS	NS	NS	***	***
Med.					
TAP	0.17 ± 0.04 ^a	1.11 ± 0.27 ^a	0.12 ± 0.04 ^a	6.09 ± 3.43 ^{ab}	1.01 ± 0.57 ^{ab}
N8	0.04 ± 0.02 ^c	0.38 ± 0.04 ^b	0.01 ± 0.00 ^b	5.70 ± 2.86 ^b	0.95 ± 0.47 ^b
BG11	0.10 ± 0.07 ^b	0.36 ± 0.09 ^b	0.03 ± 0.01 ^b	6.66 ± 2.23 ^a	1.10 ± 0.37 ^a
F test	***	***	***	*	*
St.*Med.					
6-4*TAP	0.15 ± 0.04 ^{ab}	1.28 ± 0.47	0.13 ± 0.07	10.55 ± 1.23 ^a	1.76 ± 0.20 ^a
6-4*N8	0.03 ± 0.01 ^c	0.40 ± 0.03	0.01 ± 0.00	6.02 ± 0.40 ^c	1.00 ± 0.06 ^c
6-4*BG11	0.18 ± 0.08 ^a	0.39 ± 0.06	0.04 ± 0.01	8.41 ± 0.91 ^b	1.40 ± 0.15 ^b
208*TAP	0.20 ± 0.06 ^a	1.04 ± 0.08	0.12 ± 0.03	4.31 ± 0.29 ^d	0.72 ± 0.04 ^d
208*N8	0.05 ± 0.03 ^c	0.37 ± 0.06	0.02 ± 0.01	8.78 ± 0.64 ^b	1.46 ± 0.10 ^b
208*BG11	0.04 ± 0.01 ^c	0.27 ± 0.05	0.01 ± 0.00	7.77 ± 0.57 ^b	1.29 ± 0.09 ^b
209*TAP	0.15 ± 0.00 ^{ab}	1.01 ± 0.09	0.10 ± 0.00	3.41 ± 0.39 ^{de}	0.56 ± 0.06 ^{de}
209*N8	0.04 ± 0.01 ^c	0.36 ± 0.02	0.01 ± 0.00	2.29 ± 0.63 ^e	0.38 ± 0.10 ^e
209*BG11	0.09 ± 0.00 ^{bc}	0.40 ± 0.09	0.03 ± 0.00	3.79 ± 0.20 ^d	0.63 ± 0.03 ^d
F test	*	NS	NS	***	***

Data in the column followed by different letter are significantly different based on Duncan's multiple range test

*Significant difference at ($P < 0.05$); **Significant difference at ($P < 0.01$); ***Significant difference at ($P < 0.001$)

เท่ากับ 0.10 ต่อวัน ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตร N8 ที่ให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.04 ต่อวัน และจะเห็นได้ว่าทั้งอาหารสูตร N8 และ BG11 ให้ผลผลิตชีวมวลและประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลของสาหร่ายไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) ซึ่งจะเห็นได้ว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร TAP นอกจากจะได้รับพลังงานจากแสงแล้วยังได้รับพลังงานจากอะซิเตทซึ่งเป็นแหล่งพลังงานจากคาร์บอนแหล่งหนึ่งจึงทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วและสะสมชีวมวลได้มากกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG11 และ N8 สอดคล้องกับรายงานของ Miazek *et al.* (2014) ที่เติมอะซิเตท 1 กรัมต่อลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยงและพบว่า *Chlorella sorokiniana* มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นถึง 3.6 เท่า

เมื่อพิจารณาถึงปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดังตารางที่ 1 พบว่าสายพันธุ์สาหร่ายมีปฏิสัมพันธ์กับสูตรอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ สาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 ที่เลี้ยงในอาหาร TAP และ BG11 และสาหร่ายสายพันธุ์ 208 และ 209 ที่เลี้ยงในอาหาร TAP มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดเท่ากับ 0.15, 0.18, 0.20 และ 0.15 ต่อวัน (ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าอาหารสูตร TAP เหมาะแก่การเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาถึงปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารที่มีผลต่อผลผลิตชีวมวลและประสิทธิภาพการผลิตชีวมวล พบว่า มีผลไปในทิศทางเดียวกัน คือ ปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารไม่มีผลต่อผลผลิตชีวมวล และประสิทธิภาพการผลิตชีวมวล (ตารางที่ 1)

ผลของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารต่อปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิด

นอกเหนือจากการเจริญเติบโตที่เร็ว และการสะสมชีวมวลที่สูงแล้วนั้น การสะสมลิพิดในเซลล์สาหร่ายและประสิทธิภาพการผลิตลิพิดนับเป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่งปัจจัยหนึ่งสำหรับการใช้สาหร่ายเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล พบว่า สายพันธุ์สาหร่าย สูตรอาหาร และปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารมีผลต่อปริมาณลิพิดและประสิทธิภาพการผลิตลิพิดในทิศทาง

เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังตารางที่ 1 กล่าวคือสาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 มีปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงที่สุดเท่ากับ 8.33 เปอร์เซ็นต์ และ 1.39 กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตามลำดับ) รองมาคือสายพันธุ์ 208 เท่ากับ 6.95 เปอร์เซ็นต์ และ 1.15 กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตามลำดับ) และสายพันธุ์ 209 มีปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดต่ำที่สุดเท่ากับ 3.16 เปอร์เซ็นต์ และ 0.52 กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตามลำดับ) และพบว่า ปัจจัยของสูตรอาหารยังมีผลต่อปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ อาหารสูตร BG11 มีผลทำให้สาหร่ายผลิตลิพิด และมีประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงกว่าอาหารสูตร N8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อพิจารณาถึงปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหาร พบว่าปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารมีผลต่อปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร TAP มีปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงที่สุดเท่ากับ 10.55 เปอร์เซ็นต์ และ 1.76 กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตามลำดับ) รองมาคือสาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร BG11 และสาหร่ายสายพันธุ์ 208 ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร N8 และ BG11 Wang *et al.* (2014) พบว่าสาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F-Si ให้อัตราการเจริญเติบโต และการสะสมลิพิดสูง Gour *et al.* (2014) เลี้ยง *Chlorella sp.*, *Scenedesmus quadricauda* และ *Scenedesmus dimorphus* ในอาหารสูตรต่าง ๆ และพบว่าสาหร่ายทั้งสามสายพันธุ์เจริญเติบโต และสะสมลิพิดได้สูงเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร BG11 ที่เติมยูเรีย 0.1% เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร BG11 ปกติ และได้สรุปว่า สาหร่ายสามารถใช้ในโตรเจนจากยูเรียได้ดี Sharma *et al.* (2016) วิเคราะห์ผลผลิตชีวมวล และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดของสาหร่าย *Chlorella sp.* จำนวนห้าสายพันธุ์ ที่เลี้ยงในอาหารสูตร BG11, BBM Fog และ M4N พบว่าโดยรวมอาหารสูตร BG11 เป็นสูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพทั้งทางด้านการให้ผลผลิตและต้นทุน และพบว่า *Chlorella vulgaris* มีปริมาณลิพิดและประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงที่สุดเท่ากับ 15.57% และ 0.012 กรัมต่อลิตรต่อวัน (ตามลำดับ) เมื่อเลี้ยงในอาหาร

สูตร BBM แต่เมื่อเติมกลีเซอรอล 14.13 มิลลิโมลาร์ในอาหาร พบว่า *C. vulgaris* สามารถเพิ่มปริมาณลิพิดและประสิทธิภาพการผลิตลิพิดเป็น 24.32% และ 0.05 กรัมต่อลิตรต่อวัน และสรุปว่าประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมกลีเซอรอล เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าสายสาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร TAP มีปริมาณลิพิดเท่ากับ 10.55% แต่มีประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงสุดถึง 1.76 กรัมต่อลิตรต่อวัน แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ 6-4 ยังมีการสะสมลิพิดที่ต่ำ ซึ่งสามารถพัฒนาได้หลายวิธี เช่น การปรับปรุงพันธุ์โดยการก่อการกลายพันธุ์ให้มีการสร้างลิพิดเพิ่มขึ้น การเพิ่มแหล่งคาร์บอนอินทรีย์ในอาหาร หรือการสร้างสภาวะเครียดให้แก่สาหร่ายโดยการกำจัดธาตุอาหาร เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ต้นทุนในการผลิตถือเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ การเลือกสูตรอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนอินทรีย์เป็นส่วนประกอบอาจจะทำให้ต้นทุนในการเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้น การเลือกใช้แหล่งคาร์บอนอินทรีย์ชนิดอื่นที่มีราคาถูกกว่า หรือการนำอาหารกลับมาใช้ใหม่ในระบบการเพาะเลี้ยงควรได้รับพิจารณา

สรุป

จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ 6-4, 208 และ 209 ในอาหารสามสูตรได้แก่ TAP, N8 และ BG11 พบว่า สายพันธุ์สาหร่ายมีผลต่อปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 มีปริมาณลิพิดและประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงสุด รองมาคือสายพันธุ์ 208 และ 209 (ตามลำดับ) เมื่อพิจารณาถึงสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง พบว่า สูตรอาหารที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ผลผลิตชีวมวล ประสิทธิภาพการผลิตชีวมวล ปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอาหารสูตร TAP ทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโต ผลผลิตชีวมวล ประสิทธิภาพการผลิตชีวมวล สูงที่สุด และอาหารสูตร BG11 ทำให้สาหร่ายมีปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์สาหร่ายและสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต

ผลผลิตชีวมวล และประสิทธิภาพการผลิตชีวมวลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสาหร่ายสายพันธุ์ 6-4 ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร TAP มีปริมาณลิพิด และประสิทธิภาพการผลิตลิพิดสูงสุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนวิจัยเพื่อพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และทุนอุดหนุนวิจัยพืชไร่ฯ 2561 ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย ขอขอบคุณ รศ.ดร. นิรันดร์ จันทวงศ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สาหร่ายในการทดลอง ผศ.ดร. ชัยณรงค์ รัตนกริชากุล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์ เนื้อเยื่อพืช และการถ่ายยีน ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ผกามาศ ชิดเชื้อ ปติรุจ จิรกาลวงศ์ และ อรุมา ตนะคุลย์. 2560. วิธีการทำให้เซลล์แตกเพื่อการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก. วารสารเกษตร 33(2): 185-191.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances 25(3): 294-306.
- Gour, R.S., A. Kant and R.S. Chauhan. 2014. Screening of microalgae for growth and lipid accumulation properties. Journal of Algal Biomass Utilization 5(1): 38-46.
- Griffiths, M.J. and S.T.L. Harrison. 2009. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. Journal of Applied Phycology 21(5): 493-507.
- Hamed, S., M.A. Mahdavi and R. Gheshlaghi. 2012. Lipid content and biomass production of *Chlorella vulgaris* is affected by growth

-
- conditions. pp. 65-68. *In*: Proceeding of the Second Iranian Conference on Renewable Energy and Distributed Generation. IEEE, Tehran.
- Harris, E.H. 1989. The *Chlamydomonas* Sourcebook: A Comprehensive Guide to Biology and Laboratory Use. Academic Press, San Diego, 780 p.
- Leu, J.Y and Y.H. Lin. 2013. Optimization of nutritional compositions of growth medium for *Chlorella* sp. FJ3 growth kinetics in batch and continuous-flow photoreactors. *Environmental Technology* 34(20): 2841-2851.
- Mandalam, R.K. and B.O. Palsson. 1998. Elemental balancing of biomass and medium composition enhances growth capacity in high-density *Chlorella vulgaris* cultures. *Biotechnology and Bioengineering* 59(5): 605-611.
- Mata, T.M., A.A. Martins and N.S. Caetano. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(1): 217-232.
- Miazek, K., D. Goffin, A. Richel and C. Remacle. 2014. Growth of *Chlorella* in the presence of organic carbon: a photobioreactor study. *In*: Proceeding of International Procesni Technika, Prague, Czech Republic, pp. 5-10.
- Pittman, J.K., A.P. Dean and O. Osundeko. 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology* 102(1): 17-25.
- Sharma, A.K., P.K. Sahoo, S. Singhal and A. Patel. 2016. Impact of various media and organic carbon sources on biofuel production potential from *Chlorella* spp. 3 *Biotech* 6(2): 116. doi: 10.1007/s13205-016-0434-6.
- Stanier, R.Y., R. Kunisawa, M. Mandel and G. Cohen-Bazire. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales). *Bacteriological Reviews* 35(2): 171-205.
- Tanadul, O., J.S. van der Gheynst, D.M. Beckles, A.L.T. Powell and J.M. Labavitch. 2014. The impact of elevated CO₂ concentration on the quality of algal starch as a potential biofuel feedstock. *Biotechnology and Bioengineering* 111(7): 1323-1331.
- Wang, W., F. Han, Y. Li, Y. Wu, J. Wang, R. Pan and G. Shen. 2014. Medium screening and optimization for photoautotrophic culture of *Chlorella pyrenoidosa* with high lipid productivity indoors and outdoors. *Bioresource Technology* 170: 395-403.
-

การใช้มิวซิเลจของเมล็ดแมงลักทดแทนไขมันในน้ำสลัดเพื่อสุขภาพ

Utilization of Hairy Basil Seed Mucilage as Fat Replacer in Salad Dressing for Health

กรรณิการ์ อ่อนสำลี*
Gannigar Onsamlee*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี อ.เมือง จ.ลพบุรี 15000
Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Thepsatri Rajabhat University,
Lopburi 15000, Thailand

*Corresponding author: Email: gannigar.w@lawasri.tru.ac.th

(Received: 29 September 2017; Accepted: 8 February 2018)

Abstract: The research aims of this study are (i) extract and study to physicochemical properties of mucilage powder form hairy basil seed; (ii) to study the physicochemical properties of salad dressing cream basic formula and; (iii) to study the optimum of salad dressing cream basic formula with mucilage powder form hairy basil seed and (iv) to study shelf life of final product. The isolation of the mucilage powder yielded 20.98% w/w color values (L^* , a^* and b^*) were 63.97, 3.33, and 13.66 respectively. The water holding capacity, viscosity and water activity (a_w) were 238.22 g/g dried mucilage powder, 0.48 and 288.46 cP. pH value was 7.52. The optimum replacement of the mucilage powder was 0.5% to the weight of soy bean oil in salad dressing cream. The ingredient of the formula consisted of egg, salt, sugar, vinegar, soy bean oil and mucilage powder were 16.91, 1.31, 21.31, 10.49, 49.74 and 0.24%, respectively. The chemical compositions including moisture, protein, fat, ash, fiber, carbohydrate and calories were 19.17, 1.24, 21.51, 2.22, 7.69, 47.90% and 389.11 Kcal. Total calories were reduced comparable to the control was 49.63%. The 9-point hedonic scale of the consumer overall liking were moderately like (7.36 scores). The product can be stored at room temperature (28-33 °C) for 4 weeks.

Keywords: Mucilage of hairy basil seed, fat replacer, salad dressing

บทคัดย่อ: การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดและศึกษาคุณภาพทางเคมี กายภาพ ของมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลัก เพื่อศึกษาคุณภาพทางเคมี กายภาพ ของน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐานและปริมาณมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐาน และศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ผลการศึกษาพบว่า การสกัดมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักได้ผลผลิต ร้อยละ 20.98 ค่าสี L^* , a^* , b^* เท่ากับ 63.97, 3.33 และ 13.66 ตามลำดับ ค่าปริมาณน้ำอิสระเท่ากับ 0.48 ความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับ 238.22 กรัมต่อผงเมือกแห้ง 1 กรัม ความหนืดเท่ากับ 288.46 เซนติพอยด์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.52 ผลการศึกษาปริมาณมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักที่เหมาะสมในน้ำสลัดครีมเท่ากับ ร้อยละ 0.5 ของน้ำมันถั่วเหลือง มีส่วนผสม ดังนี้ ไข่ไก่ เกลือป่น น้ำตาลทราย น้ำส้มสายชู น้ำมันถั่วเหลือง และมิวซิเลจเมล็ดแมงลักเท่ากับ ร้อยละ 16.91, 1.31, 21.31, 10.49, 49.74 และ 0.24 ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กาก คาร์โบไฮเดรต และพลังงานเท่ากับ ร้อยละ 19.17, 1.24, 21.51, 2.22, 7.69, 47.90 และ 389.11 กิโลแคลอรี ค่าพลังงานของผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมลดลง ร้อยละ 49.36 เมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.36 (ชอบปานกลาง) ผลิตภัณฑ์เก็บรักษาได้ 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง (28-33 องศาเซลเซียส)

คำสำคัญ: มิวซิเลจเมล็ดแมงลัก การทดแทนไขมัน น้ำสลัด

คำนำ

ปัจจุบันสลัดเป็นเมนูที่ได้รับความนิยมในการบริโภคทั้งวัยรุ่น วัยทำงานและผู้สูงอายุ โดยเฉพาะผู้บริโภคที่รักสุขภาพ โดยประกอบด้วยผักและผลไม้ตามฤดูกาลปลูกโดยธรรมชาติ กับวิธีอื่นที่ช่วยให้ผักมีความปลอดภัย เก็บได้นานและต้องมีความสะอาด เช่น วิธีการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศเพื่อรักษา คุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของผัก (เพชรดา และคณะ, 2561) วิธีการอบรมการส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ สารเคมีให้ถูกต้องเหมาะสม และมีประสิทธิภาพกับมะเขือเทศ ที่เป็นผักที่นิยมในกลุ่มเมนูสลัดผัก (ณัฐรุตม์ และคณะ, 2560) หรือมีการปลูกแบบไม่ใช้ดิน เช่น ผักไฮโดรโปนิคส์ โดยเมนูสลัดจะมีน้ำสลัดชนิดข้นและชนิดใสแทนควบคู่เพื่อให้รสชาติกลมกล่อม ซึ่งในน้ำสลัดชนิดข้นมีสารอาหารที่ให้พลังงานสูง มีส่วนประกอบของมายองเนส ไข่แดงของไข่ไก่กับน้ำมันสลัดโดยใช้น้ำมันพืช และปรุงรสด้วยน้ำตาลทราย น้ำส้มสายชู เกลือ พริกไทย มัสตาร์ด โดยเฉพาะในน้ำมันพืชจะให้พลังงานค่อนข้างสูง ทำให้ร่างกายเกิดคอเลสเตอรอลมากขึ้นและขับถ่ายออกน้อย ส่งผลให้เกิดการสะสมคอเลสเตอรอลในเลือด อาจทำให้เกิดเส้นเลือดตีบและอุดตันได้ โดยส่วนใหญ่ น้ำสลัดที่บริโภคกันโดยทั่วไปมีปริมาณไขมันทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 30-65

โดยน้ำหนัก (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) สำหรับเมล็ดแมงลักมีเส้นใยอาหาร หรือสารพอลิแซ็กคาไรด์ เรียกว่า กัม (gum) และ มิวซิเลจ (mucilage) เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์ มีโครงสร้างประกอบด้วยโพลีเมอร์ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดเดียวหรือหลายชนิด จับกับส่วนของกรดยูโรนิค (uronic acid) สามารถพบได้ทั่วไปในส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ เปลือกไม้ใบ ราก และเมล็ด เป็นต้น สารเมือกที่อยู่ในมิวซิเลจหรือสารเมือกเป็นสารกลุ่มใยอาหารที่สามารถละลายน้ำได้ (soluble dietary fiber) ซึ่งจัดเป็นสารประเภทเดียวกับกัม โดยเฉพาะที่มาจากเมล็ด เช่น กวักกัม เป็นต้น (ศศิธร และปราณี, 2545) ซึ่งมีคุณสมบัติทางโภชนาการ โดยมักใช้เป็นสารให้ความคงตัว (stabilizer) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของพืชที่ไม่ถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของร่างกายมนุษย์ และเป็นแหล่งของใยอาหารซึ่งสามารถก่อตัวเป็นเจลป้องกันไม่ให้สารแขวนลอยตกตะกอนและป้องกันไม่ให้อนุภาคภายในจับตัวกันทำให้มีกลิ่นเกิดเสถียรภาพ เมื่อรับประทานเข้าไปจะทำให้เพิ่มความหนืดของในทางเดินอาหาร ทำให้อัตราการย่อย การดูดซึมและการส่งผ่านในทางเดินอาหารช้าลง เพิ่มปริมาณอุจจาระและเพิ่มอัตราการส่งผ่านในลำไส้ใหญ่ การใช้ประโยชน์มิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักในอาหาร มีหลายผลิตภัณฑ์ โดยเมล็ด

แมงลักเป็นสารให้ความคงตัว ในไอศกรีมจากน้อยหน่า (ปิยนุสร และระวีวรรณ, 2553) การใช้เป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์น้ำจิ้มไก่ (ปิยนุสร และเนตรนภา, 2550) หรือนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารควบคุมน้ำหนักและเพื่อเป็นทางเลือกใหม่ให้แก่ผู้บริโภค โดยการผลิตเป็นบิสกิตลดพลังงาน (จันทร์ฉาย, 2550) เป็นต้น และมีการใช้เป็นยาระบายในแพทย์แผนไทย (ลักขณา, 2545; ศศิธร และปราณี, 2545; Leelahagul *et al.*, 1992) ดังนั้นทางเลือกที่จะสามารถลดพลังงานโดยการใช้พืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีปริมาณใยอาหารและมีสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์ได้ คือการศึกษาการใช้ มิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักในปริมาณที่เหมาะสมในน้ำสลัดเพื่อสุขภาพเป็นทางเลือกที่ดีให้แก่ผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

งานวิจัยนี้มีการดำเนินการ 3 ตอน ตามลำดับ ดังนี้

ตอนที่ 1 การสกัดและศึกษาคุณภาพของมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลัก

แช่เมล็ดแมงลักในน้ำสะอาดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองแยกน้ำส่วนเกินออก นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นผสมที่ความเร็วต่ำสุดนาน 1 นาที โดยใช้เครื่องปั่นยี่ห้อ sharp รุ่น EM-Ice power ประเทศไทย บีบแยกเมือกด้วย ผ้าขาวบางเทเมือกที่ได้ใส่ถาด นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ศศิธร และปราณี, 2545) จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ ด้านคุณภาพกายภาพ ได้แก่ ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ค่าสี (L^* , a^* , b^*) ความสามารถในการกัมน้ำตามวิธี Leelahagul *et al.* (1992) ความหนืด ตามวิธี Leelahagul *et al.* (1992) และคำนวณร้อยละผลผลิต (% yield) คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ร้อยละปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กาก (AOAC, 2000) คาร์โบไฮเดรตและพลังงานโดยการคำนวณ และค่าความเป็นกรดต่าง (AOAC, 2000)

ตอนที่ 2 คุณภาพของน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐาน การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและการยอมรับในการ

ทดแทนมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมในปริมาณที่ต่างกัน

ทำการผลิตน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐาน (สุบรรณ, 2554) มีส่วนผสม ได้แก่ ไข่ไก่ ร้อยละ 16.91 เกลือป่น ร้อยละ 1.31 น้ำตาลทราย ร้อยละ 21.31 น้ำส้มสายชู ร้อยละ 10.49 และน้ำมันถั่วเหลือง ร้อยละ 49.98 เทส่วนผสมต่าง ๆ ลงในโถปั่นยกเว้นน้ำมัน จนส่วนผสมเข้ากัน เติมน้ำมันทีละน้อยลงในขณะที่เครื่องปั่นทำงานในระดับความเร็วต่ำ ปั่นด้วยเครื่องปั่นยี่ห้อ sharp รุ่น EM-Ice power ประเทศไทย ที่ความเร็วเบอร์ 2 นาน 1 นาที ปั่นจนน้ำมันเป็นเนื้อเดียวกับส่วนผสมทั้งหมด เก็บน้ำสลัดเพื่อวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) วัดค่าความคงตัว (consistency) ค่าการเกาะติด (cohesiveness) ดัดแปลงตามวิธี (Hill, 2006) คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ร้อยละปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กาก ตามวิธี (AOAC, 2000) คาร์โบไฮเดรตและพลังงานโดยการคำนวณ วัดค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณกรดทั้งหมดเปรียบเทียบกับกรดซิตริก ตามวิธี (AOAC, 2000) และทำการประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดย 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คือ ชอบมากที่สุด (ไพโรจน์, 2539) ลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ทดสอบ ได้แก่ ในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความหนืด และการยอมรับโดยรวม ทำการทดสอบกับผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายที่มีอายุระหว่าง 15-60 ปี จำนวน 30 คน

ศึกษาการทดแทนมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักที่เหมาะสม 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 (ร้อยละของน้ำมันถั่วเหลือง) วัดคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี (L^* , a^* , b^*) วัดค่าความคงตัว ค่าการเกาะติด ดัดแปลงตามวิธี (Hill, 2006) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดย (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) และทำการประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดย 1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คือ ชอบมากที่สุด (ไพโรจน์, 2539) ลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ทดสอบ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความหนืด และการยอมรับโดยรวม ทำการ

ทดสอบกับผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายที่มีอายุระหว่าง 15-60 ปี จำนวน 30 คน วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design: RCBD) เพื่อคัดเลือกสูตรที่ได้ค่าเฉลี่ยการยอมรับมากที่สุด

ตอนที่ 3 การศึกษาอายุการเก็บน้ำสลัดครีมที่มีปริมาณมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักทดแทนไขมันที่เหมาะสม

ใช้น้ำสลัดครีมที่มีปริมาณมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักทดแทนไขมันที่เหมาะสมมาบรรจุใส่ขวดแก้วใสที่ผ่านการฆ่าเชื้อและเก็บที่อุณหภูมิห้อง การทดสอบโดยเก็บตัวอย่าง มาตรวจสอบทุก ๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วัดคุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี (L^* , a^* , b^*) วัดค่าความคงตัว ค่าการเกาะติด ดัดแปลงตามวิธี (Hill, 2006) คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง ค่าเพอร์ออกไซด์ (PV) (mEq/kg) ตามวิธี (AOAC, 2000) คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนี/กรัม) ยีสต์และรา (โคโลนี/กรัม) ตามวิธี (AOAC, 2000) การประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale ลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ทดสอบ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ความหนืด และการยอมรับโดยรวม ทำการทดสอบกับผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายที่มีอายุระหว่าง 15-60 ปี จำนวน 30 คน

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ตอนที่ 1 ผลการสกัดและศึกษาคุณภาพของมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลัก

ในการผลิตมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลัก เมื่อแห้งจะมีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ สีขาวนวล อยู่ในรูปผงจะมีการฟุ้งกระจายได้ง่ายมีบางส่วนที่มีสีดำหรือน้ำตาลคล้ำปนมาด้วย เนื่องจากส่วนสีดำของเมล็ดแมงลักถูกย่อยขนาดเป็นชิ้นเล็ก ๆ เมื่อทำการกรองจึงปะปนออกมากับสารเมือกได้ (สุริน และคณะ, 2555) ดังนั้นสารเมือกที่ได้มีสีคล้ำมากขึ้น จากการสกัดและศึกษาคุณภาพ (ตารางที่ 1) ได้ผลผลิตเท่ากับร้อยละ 20.98 ต่อน้ำหนักของเมล็ดแห้ง ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) มีค่าเท่ากับ 0.48 เป็นไปตามคุณลักษณะตามมาตรฐานของอาหารแห้งน้อยกว่า 0.6

(สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2546) ความหนืด เท่ากับ 288.46 เซนติพอยต์ โดยค่าความหนืดเป็นผลมาจากความสามารถในการอุ้มน้ำ เส้นใยอาหารที่ละลายในน้ำและไม่ละลายในน้ำ เนื่องจากมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักมีการพองตัวที่ดี อนุภาคของมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักขยายตัวใหญ่ขึ้น มีความสามารถในการอุ้มน้ำมาก จะส่งผลให้มีความหนืดมากตามไปด้วย และในมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักมีสารเมือกซึ่งจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ละลายในน้ำได้เมื่อละลายในน้ำแล้วดูดซับน้ำไว้กับตัวทำให้มีความหนืดเพิ่มขึ้น (วิลม, 2537) และเป็นสารที่สามารถพองตัวในน้ำได้ดี เป็นสารประกอบพวกลิพิดไฮโดรไลซ์ ประกอบด้วยน้ำตาลและกรดยูโรนิก (ปลื้มจิตต์ และคณะ, 2526) และบางส่วนของสารเมือกที่เป็นเส้นใยที่ย่อยไม่ได้ นั้นประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่เป็นโครงสร้าง (Non-structural polysaccharides) หรือเส้นใยที่เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ แต่ไม่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างผนังเซลล์พืช ได้แก่ กัมและมิวซีเลจ (นิธิยา, 2553) เมื่อวิเคราะห์ค่าความสว่าง (L^*) ของมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักมีค่าเท่ากับ 63.97 ค่าสีแดงหรือสีเขียว (a^*) โดยที่ ($+a^*$) แสดงความเป็นสีแดง ($-a^*$) แสดงความเป็นสีเขียว เท่ากับ 3.33 ค่าสีเหลือง หรือสีน้ำเงิน (b^*) โดยค่าสี ($+b^*$) แสดงความเป็นสีเหลือง ค่าสี ($-b^*$) แสดงความเป็นสีน้ำเงิน เท่ากับ 13.66 เนื่องจากการสกัดเมือกเมล็ดแมงลักจะเอาเมล็ดสีดำออกและบางส่วนจะมีสีคล้ำปนมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของน้ำตาลในมิวซีเลจเมล็ดแมงลักที่ผ่านความร้อนจึงทำให้มิวซีเลจเมล็ดแมงลักมีสีเข้มขึ้น (ศศิธร และปราณี, 2545)

เมื่อนำมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 2) พบว่ามี ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กาก คาร์โบไฮเดรต และพลังงาน เท่ากับร้อยละ 12.83, 1.87, 0.66, 4.86, 34.00, 46.68 และ 200.16 กิโลแคลอรี ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ จะเห็นว่าองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนและไขมัน ปริมาณที่ต่ำและมีปริมาณกาก คาร์โบไฮเดรตค่อนข้างสูง องค์ประกอบส่วนใหญ่ของเมล็ดแมงลักเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายย่อยไม่ได้แต่แบคทีเรียที่อาศัยในลำไส้ใหญ่สามารถย่อยได้ ประกอบด้วยสายของเม็ดแป้งจำนวนมากมายเรียงตัวกันแน่น (สุมิตรา, 2554) ส่วนกากที่

Table 1. The yield and physical properties of mucilage powder from hairy basil seed

Properties	Analysis of mucilage powder
Yield (%)	20.98 ± 0.88
water activity (a_w)	0.48 ± 0.02
water holding capacity (WHC) (g /g dried mucilage powder)	238.22 ± 0.70
Viscosity (cP)	288.46 ± 1.15
Colors	
L [*]	63.97 ± 0.56
a [*]	3.33 ± 0.05
b [*]	13.66 ± 0.28

Mean ± standard deviation (SD)

Table 2. The pH and chemical properties and chemical composition of mucilage powder from hairy basil seed

Properties	Analysis of hairy basil mucilage powder
pH	7.52 ± 0.21
Moisture (%)	12.83 ± 0.17
Protein (%)	1.87 ± 0.06
Fat (%)	0.66 ± 0.29
Ash (%)	4.86 ± 0.03
Crude fiber (%)	34.00 ± 0.29
Carbohydrate (%)	46.68 ± 1.40
Energy (kg calorie /100 g)	200.16 ± 1.10

Mean ± standard deviation (SD)

เหลืออยู่จะประกอบด้วยสารที่ไม่ละลายน้ำ ความเป็นกากอาหารที่สูง ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน เมื่อส่วนที่ละลายน้ำได้ เช่น เพกติน กัม สารเมือก สามารถดูดซับน้ำไว้ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรดต่างของมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักเท่ากับ 7.52 มีค่าเป็นกลาง มิวซีเลจเมล็ดแมงลักสามารถพองตัวได้ดีเมื่อความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง (ลักษณะ, 2545) (ปริมาณความชื้นร้อยละ 12.83 อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน กำหนดความชื้นผลิตภัณฑ์อาหารแห้งไม่เกิน ร้อยละ 18 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2546))

ตอนที่ 2 ผลการศึกษาคุณภาพน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐาน คุณลักษณะทางกายภาพและการยอมรับในการทดแทนมิวซีเลจจากเมล็ดแมงลักในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมในปริมาณที่ต่างกัน

จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐานมีส่วนประกอบ ได้แก่ ไข่ไก่ เกลือป่น น้ำตาลทราย น้ำส้มสายชู และ น้ำมันถั่วเหลือง เท่ากับ ร้อยละ 16.91, 1.31, 21.31, 10.49 และ 49.98 ตามลำดับ พบว่า ค่าความสว่าง (L^{*}) น้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐานมีค่าเท่ากับ 82.68 ซึ่งมีค่าไปในทิศทางสว่าง เนื่องจากวัตถุดิบของน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐานส่วนใหญ่มีเพียงสีเหลืองใส ค่าสีแดง (a^{*}) เท่ากับ 4.11 ในส่วนผสมน้ำสลัดครีมมีความเข้มสีของไข่แดงที่ใสในน้ำสลัดครีม ค่าสีเหลือง หรือสีน้ำตาล (b^{*}) เท่ากับ 22.25 ค่าความคงตัว มีค่าเท่ากับ 887.09 กรัมต่อวินาที ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน จากส่วนผสมวัตถุดิบส่วนใหญ่เป็นของเหลวทำให้น้ำสลัดครีมมีลักษณะข้นเหลว ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเนื้อสัมผัสคงตัว (จิรารัตน์, 2554) สำหรับค่าการเกาะติด มีค่าเท่ากับ -18.58 กรัม ในส่วนผสมน้ำสลัดครีมมีส่วน

ประกอบที่เรียกว่าเลซิดิน ซึ่งมีไนโซแดง ช่วยทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ ทำหน้าที่ เป็นอิมัลซิไฟอิงเอเจนต์ได้อย่างดี และโครงสร้างโมเลกุลของเลซิดินมีทั้งประจุบวกและประจุลบจะ ช่วยให้น้ำเข้ากับน้ำมัน และยังช่วยไม่ให้แยกตัวออกจากกัน (เกษมศรี, 2540) ซึ่งค่าการเกาะตัวของเม็ดไขมันมากจะแสดงถึงลักษณะของเนื้อสัมผัสเหนียวขึ้น (จิราวัฒน์, 2554)

ผลของการศึกษาคุณภาพทางเคมีของน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐาน พบว่ามี ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กาก คาร์โบไฮเดรต และพลังงาน เท่ากับ 13.12, 0.79, 43.42, 1.26, 1.94, 39.45, 552.18 กิโลแคลอรี ตามลำดับ และมีค่าปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 0.15 สำหรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐาน (9-point hedonic scale) คะแนนอยู่ในระดับความชอบปานกลาง โดยลักษณะของน้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐาน ส่วนผสมเข้ากันเนียนเป็นเนื้อเดียวกันไม่เป็นน้ำเหลวและยังคงตัวเป็นเนื้อครีม

ผลของการวิเคราะห์คุณค่าทางกายภาพในการศึกษาการทดแทนมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีม (ตารางที่ 3) พบว่าค่าความสว่าง (L^*) ของน้ำสลัดครีมที่มีมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักทั้ง 5 สูตร จะมีค่าอยู่ในช่วง 75.60-82.62 ซึ่งทุกสิ่งทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เนื่องจากโครงสร้างของมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำได้และส่วนประกอบของอาหารที่มีสายโมเลกุลของน้ำตาลจำนวนมากเมื่อผ่านการให้ความร้อนส่งผลให้โมเลกุลของน้ำตาลเปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีสีคล้ำขึ้น หรือปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (browning reaction) (นิธิยา, 2553) จากการ

ทดลองพบว่า เมื่อเติมมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักมากขึ้นในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมทำให้ค่าความสว่างมีค่าลดลงสอดคล้องกับค่าสีแดง (a^*) มีค่า 4.11 ลดลงเป็น 3.45 และค่าสีเหลือง (b^*) พบว่ามีค่า 24.19 ส่งผลให้ค่าความปริมาณมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักที่มากขึ้น ทั้งเนื่องจากสีเป็นสีเหลืองลดลง เท่ากับ 19.99 จากผลการทดลอง จะเห็นว่าค่าสีแดงและค่าสีเหลืองลดลง เมื่อเพิ่มปริมาณของมิวซิเลจได้ผ่านการให้ความร้อนทำให้มีสีคล้ำออกน้ำตาลเข้ม เมื่อเพิ่มปริมาณมีผลทำให้มีค่าสีแดงและสีเหลืองลดลงด้วย

ค่าความคงตัว มีค่าอยู่ในช่วง 887.09-5014.29 กรัมต่อวินาที เนื่องจากโครงสร้างของสารเมือกเป็นเฮเทอโรโพลีแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน ทำให้โครงสร้างนั้นมีความคงตัว (ปิยนุสรณ์, 2550) และนอกจากนี้ยังมีเลซิดินในไนโซแดงที่ทำหน้าที่เป็นตัวทำลายไขมันให้แตกตัวเป็นอนุภาคเล็ก ๆ ทั้งสารเมือกในผงเมือกเมล็ดแมงลักและเลซิดินในไนโซแดง สามารถใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ (วิภาวรรณ, 2549) ในการเติมปริมาณมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักจะส่งผลต่อความคงตัวของน้ำสลัด ดังนั้นเมื่อนำมาใส่ในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมทำให้มีเนื้อสัมผัสคงตัวเพิ่มมากขึ้นจากสูตรควบคุม สำหรับค่าการเกาะตัว มีค่าเท่ากับ (-18.58) - (-217.10) กรัม จากการทดลองพบว่า ปริมาณมิวซิเลจที่มากขึ้นจากส่งผลให้ความแข็งแรงในการเกาะตัวกันภายในโครงสร้างของเนื้ออาหารนั้นมีค่าเพิ่มมากขึ้นด้วย เพราะในโครงสร้างของมิวซิเลจ มีองค์ประกอบเฮเทอโรโพลีแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนและคล้ายคลึงกับกัมซึ่งเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลในกลุ่มกาแลคทูโรนิกและกลูคูโรนิกมีกิ่งแขนงเป็นน้ำตาลโมโนแซ็กคาไรด์หลาย

Table 3. Physical properties of salad cream with different levels of mucilage powder of hairy basil seed

Formula	Colors			Consistency g/sec	Cohesiveness (g)
	L^*	a^*	b^*		
1 (control)	82.62 ^a ± 0.13	4.11 ^c ± 0.04	22.25 ^c ± 0.16	887.09 ^e ± 9.96	18.58 ^e ± 0.85
2	80.87 ^b ± 0.11	4.33 ^b ± 0.04	24.19 ^a ± 0.04	2063.30 ^d ± 8.54	94.80 ^d ± 0.42
3	78.71 ^c ± 0.12	4.44 ^a ± 0.02	23.62 ^b ± 0.03	4217.10 ^c ± 10.53	178.90 ^c ± 1.93
4	77.48 ^d ± 0.04	3.45 ^e ± 0.02	21.70 ^d ± 0.06	4527.57 ^b ± 15.61	193.52 ^b ± 0.33
5	75.60 ^e ± 0.02	3.86 ^d ± 0.03	19.99 ^e ± 0.05	5014.29 ^a ± 16.79	217.10 ^a ± 3.94

Values with different letters in superscript in columns are significantly different ($P \leq 0.05$); Mean ± standard deviation (SD)

ชนิดให้ความข้นหนืดช่วยในการยึดเกาะ ทำให้โครงสร้างมีความคงตัว (ปิยนุสรณ์, 2550)

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีทดสอบแบบ 9-point hedonic scale (ตารางที่ 4) พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบในลักษณะปรากฏ ด้านสี รสชาติ ความหนืด และการยอมรับโดยรวมพบว่าสูตรที่ 2 มีคะแนนความชอบไม่แตกต่างกับสูตรที่ 1 (control) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับสูตรที่ 3 สูตรที่ 4 และสูตรที่ 5 สำหรับด้านกลิ่น พบว่าทุกสูตรไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังนั้นจากการศึกษาคุณภาพทางกายภาพ และคุณภาพทางประสาทสัมผัส การทดแทนมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมในปริมาณที่ต่างกัน สามารถคัดเลือกสูตรที่เหมาะสมได้ โดยเลือกน้ำสลัด สูตรที่ 2 คือน้ำสลัดทดแทนมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลัก ร้อยละ 0.5 มีส่วนผสมดังนี้ ไข่ไก่ เกลือป่น น้ำตาลทราย น้ำส้มสายชู น้ำมันถั่วเหลือง และมิวซิเลจ จากเมล็ดแมงลักเท่ากับ ร้อยละ 16.91, 1.31, 21.31, 10.49, 49.74 และ 0.24 ตามลำดับ มีองค์ประกอบทางเคมี มีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กาก คาร์โบไฮเดรต และพลังงานเท่ากับ ร้อยละ 19.17, 1.24, 21.51, 2.22, 7.69, 47.90 และ 389.11 กิโลแคลอรี ตามลำดับ และพบว่าปริมาณพลังงานลดลงจากสูตรพื้นฐานถึงร้อยละ 49.36

ตอนที่ 3 ผลการศึกษาอายุการเก็บน้ำสลัดครีมที่ปริมาณมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักทดแทนไขมันที่เหมาะสม น้ำสลัดครีมที่มีการใช้มิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักที่เหมาะสมที่ได้จากตอนที่ 2 แล้วนำมาบรรจุในขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อ บรรจุน้ำสลัดชนิดขึ้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-33 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และทำการสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพทุก ๆ 1 สัปดาห์ โดยเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ (ตารางที่ 5) ซึ่งผลการทดลองพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ค่าความสว่าง (L^*) ลดลง เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างการเก็บรักษา ทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาล (นิธิยา, 2553) ในขณะที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาไม่ส่งผลให้ค่าความเป็นสีแดงเปลี่ยนแปลง และสีเหลือง (b^*) กลับมีค่าลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษา

ค่าความคงตัวจะมีค่าอยู่ในช่วง 2105.32-2175.36 กรัมต่อวินาที เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่งผลให้ค่าความคงตัวลดลงเพียงเล็กน้อย ในส่วนผสมของน้ำสลัดมีปริมาณน้ำมันซึ่งกระจายตัวเป็นอนุภาคขนาดเล็กในอิมัลชันเกิดการรวมตัวและมีขนาดใหญ่ขึ้นทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเหลว (บุษิตา และ สมพิศ, 2542) ร่วมกับในผลิตภัณฑ์มีไข่แดง ช่วยทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ ด้วยคุณสมบัติของอิมัลซิไฟเออร์ นอกจากจะทำหน้าที่ในการเป็นตัวประสานส่วนที่เป็นน้ำและน้ำมันให้สามารถกระจายตัวอยู่ด้วยกันแล้ว ยังช่วยเพิ่มความหนืด และทำให้เกิดความคงตัวของผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย (McClements, 2005) สำหรับค่าการเกาะตัว

Table 4. Means hedonic scale of sensory evaluation of salad cream with different levels of mucilage powder from hairy basil seed

Formula	Means hedonic scale of sensory evaluation (scores)					
	Appearance	Color	Odor ^{ns}	Taste	Viscosity	Overall acceptability
1 (control)	7.20 ^a ± 0.72	7.15 ^{ab} ± 0.60	6.28 ± 1.34	7.66 ^a ± 0.76	7.36 ^a ± 0.74	7.63 ^a ± 0.85
2	7.45 ^a ± 0.98	7.61 ^a ± 0.58	6.51 ± 1.33	7.20 ^a ± 1.24	6.86 ^a ± 1.18	7.53 ^a ± 0.99
3	6.58 ^b ± 0.99	6.71 ^{bc} ± 0.97	6.15 ± 1.20	6.60 ^b ± 1.29	6.20 ^b ± 1.12	6.80 ^b ± 0.97
4	6.33 ^{bc} ± 0.86	6.68 ^{bc} ± 1.04	6.15 ± 0.94	6.13 ^b ± 1.05	5.75 ^{bc} ± 0.91	6.41 ^{bc} ± 0.90
5	6.00 ^c ± 1.06	6.46 ^c ± 1.04	6.03 ± 0.88	6.10 ^b ± 1.06	5.31 ^c ± 1.26	6.01 ^c ± 1.01

Values with different letters in superscript in columns are significantly different ($P \leq 0.05$); Mean ± standard deviation (SD)

มีค่าอยู่ในช่วง (-93.18) - (-108.12) กรัม ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นไม่ส่งผลให้ความแข็งแรงในการเกาะตัวกันภายในโครงสร้างของเนื้ออาหารมีการเปลี่ยนแปลง แสดงให้เห็นว่ามีวชิเลจากเมล็ดแมงลักสามารถใช้เป็นสารให้ความข้นหนืด และเป็นสารช่วยในการยึดเกาะ ส่งผลให้โครงสร้างผลิตภัณฑ์มีความคงตัว (ปิยนุสรณ์, 2550)

การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี (ตารางที่ 6) ของผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีม โดยทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมที่บรรจุขวดแก้วใส มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 3.75-3.98 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในน้ำสลัดชนิดมีส่วนผสมของน้ำมันพืช โดยจากการศึกษาของนิธิยา (2548) ค่าความเป็นกรด-ด่าง จะบ่งชี้การสลายตัวและการหืนของน้ำมันพืช โดยถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างสูง แสดงว่าโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันพืชสลายตัวได้เป็นกรดไขมันอิสระ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเดชันของไขมันโดยค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value, PV) ค่าเปอร์ออกไซด์นั้นเป็นสารที่ไม่เสถียรมีการเปลี่ยนแปลงโดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมารวมตัวกันเองเกิดเป็นสารใหม่ (secondary product) ซึ่งทำให้เกิดสี กลิ่น และรส ที่ผิดปกติของน้ำมันและไขมัน (Gordon, 2001) ค่าที่บ่งชี้ถึงค่าการหืนจะเริ่มที่ 20-40 mEq/kg (กมลวรรณ, 2550) จากการวิเคราะห์พบว่า ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) มีค่า 3.05-16.33 mEq/kg แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ยังอยู่ระดับที่ไม่สามารถบอกลถึงความหืนในผลิตภัณฑ์ได้

ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของน้ำสลัดทดแทนมิวชิเลจากเมล็ดแมงลักร้อยละ 0.5 (ตารางที่ 6) พบว่า ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 4 สัปดาห์ จุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ยีสต์และรา น้อยกว่า 10 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน สอดคล้องกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำสลัด (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.75 ซึ่งถือว่ามีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำทำให้จุลินทรีย์ทั่วไปไม่สามารถเจริญได้ และการถนอมอาหารโดยการให้ความร้อนสำหรับผลิตภัณฑ์ก่อนบรรจุขวดแก้วทำให้การปนเปื้อนระหว่างการเก็บรักษามีโอกาสน้อยที่จะทำให้เกิดจุลินทรีย์

ผลของการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำสลัดครีมมิวชิเลจากเมล็ดแมงลัก 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 7) พบว่า ผู้บริโภคให้คะแนนด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น สี รสชาติ ทั้ง 4 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) สำหรับความหนืด การยอมรับโดยรวม ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในสัปดาห์ที่ 0, 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่คะแนนความชอบลดลงในระดับคะแนนในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 แสดงว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาส่งผลต่อคะแนนความชอบด้านความหนืด การยอมรับโดยรวมเพียงเล็กน้อย เมื่อพิจารณาคะแนนโดยภาพรวมของน้ำสลัดครีมซึ่งอยู่ในระดับความชอบเล็กน้อยถึงปานกลาง มีค่า 6.90-7.36 คะแนน

Table 5. Physical properties of salad cream with mucilage powder of hairy basil seed

Week	Color			Consistency ^{ns} g/sec	Cohesiveness ^{ns} g
	L [*]	a ^{*ns}	b [*]		
0	81.88 ^a ± 0.32	3.51 ± 0.04	32.15 ^c ± 0.12	2165.32 ± 6.32	-108.12 ± 3.15
1	80.17 ^a ± 0.21	3.33 ± 0.04	34.29 ^a ± 0.11	2125.02 ± 5.51	-99.90 ± 3.52
2	80.71 ^b ± 0.22	3.83 ± 0.02	33.42 ^b ± 0.22	2105.32 ± 9.21	-98.40 ± 2.53
3	78.56 ^c ± 0.06	3.45 ± 0.02	21.50 ^d ± 0.06	2175.36 ± 7.11	-93.18 ± 0.33
4	75.30 ^c ± 0.24	3.86 ± 0.03	20.43 ^e ± 0.05	2111.31 ± 4.13	-97.10 ± 0.94

Values with different letters in superscript in columns are significantly different ($P \leq 0.05$); ns = not significantly different ($P > 0.05$)

Mean ± standard deviation (SD)

Table 6. Chemical and microbial properties of salad cream with mucilage powder of hairy basil seed during storage

Week	Chemical properties		Microbial properties	
	pH	Peroxide value (PV) (mEq/kg)	Total plate count (cfu/g)	Yeast and mold (cfu/g)
0	3.75 ± 0.37 ^c	3.05 ± 0.11 ^e	<1 × 10 ⁴	< 10
1	3.76 ± 0.47 ^c	6.97 ± 0.23 ^d	< 1 × 10 ⁴	< 10
2	3.85 ± 0.36 ^b	9.42 ± 0.22 ^c	<1 × 10 ⁴	< 10
3	3.88 ± 0.75 ^b	13.54 ± 0.32 ^b	< 1 × 10 ⁴	< 10
4	3.98 ± 0.12 ^a	16.33 ± 0.52 ^a	< 1 × 10 ⁴	< 10

Values with different letters in superscript in columns are significantly different ($P \leq 0.05$); Mean ± standard deviation (SD)

Table 7. Means hedonic scale of sensory evaluation of salad cream with mucilage powder of hairy basil seed during storage

Week	Means hedonic scale of sensory evaluation (scores)					
	Appearance ^{ns}	Color ^{ns}	Odor ^{ns}	Taste ^{ns}	Viscosity	Overall acceptability
0	6.98 ± 0.33	7.17 ± 0.42	7.08 ± 0.37	7.36 ± 0.16	7.21 ^a ± 0.45	7.19 ^a ± 0.21
1	7.10 ± 0.11	7.05 ± 0.65	7.28 ± 0.21	7.31 ± 0.46	7.19 ^a ± 0.10	7.13 ^a ± 0.11
2	7.15 ± 0.22	7.31 ± 0.58	7.21 ± 0.33	7.20 ± 0.24	7.16 ^a ± 0.18	7.13 ^a ± 0.79
3	7.08 ± 0.31	7.11 ± 0.97	7.17 ± 0.20	7.30 ± 0.29	7.10 ^b ± 0.12	6.90 ^b ± 0.47
4	7.03 ± 0.32	7.15 ± 0.65	7.20 ± 0.31	7.31 ± 0.66	7.09 ^b ± 0.72	6.91 ^b ± 0.16

Values with different letters in superscript in columns are significantly different ($P \leq 0.05$); ns = not significantly different ($P > 0.05$)

Mean ± standard deviation (SD)

สรุป

การสกัดและศึกษาคุณภาพของมิวซิเลจจากเมล็ดแมงลัก พบว่าสามารถสกัดได้ผลผลิตร้อยละ 20.98 น้ำสลัดครีมสูตรพื้นฐาน มีองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กาก คาร์โบไฮเดรต และพลังงานเท่ากับร้อยละ 13.12, 0.79, 43.42, 1.26, 1.94, 39.45 และ 552.18 กิโลแคลอรี ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาการใช้มิวซิเลจจากเมล็ดแมงลักที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีม คือ ร้อยละ 0.5 ของน้ำมันถั่วเหลือง ส่งผลให้ค่าพลังงานของผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมลดลง ร้อยละ 49.36 ผลิตภัณฑ์น้ำสลัดครีมมีส่วนผสมได้แก่ ไข่ไก่ เกลือป่น น้ำตาลทราย น้ำส้มสายชู น้ำมัน-

ถั่วเหลือง และมิวซิเลจเมล็ดแมงลักเท่ากับ ร้อยละ 16.91, 1.31, 21.31, 10.49, 49.74 และ 0.24 ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กาก คาร์โบไฮเดรต และพลังงานเท่ากับ ร้อยละ 19.17, 1.24, 21.51, 2.22, 7.69, 47.90 และ 389.11 กิโลแคลอรี นำมาบรรจุในขวดแก้ว ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28-33 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการเก็บรักษาแสดงให้เห็นว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ส่งผลให้ค่าความสว่าง (L^*) และสีเหลือง (b^*) มีค่าลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษา แต่ไม่ส่งผลให้ค่าความเป็นสีแดง (a^*) ระยะเวลาในการเก็บตลอด 4 สัปดาห์ ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่อค่าความคงตัว และค่าการเกาะติด และไม่เกิดกลิ่นหืนในผลิตภัณฑ์

เนื่องจากระดับค่าเพอร์ออกไซด์ (PV) เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย ผู้บริโภคให้ระดับคะแนนความชอบเล็กน้อยถึงปานกลาง มีค่า 6.90-7.36 คะแนน ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $<1 \times 10^4$ cfu/g ยีสต์และรา <10 cfu/g ไม่เกินที่มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำสลัด (มผช. 672/2547)

เอกสารอ้างอิง

กมลวรรณ แจ่มชัด. 2550. การประเมินคุณภาพทางเคมี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เกษมศรี วงศ์เลิศวิทย์. 2540. เลขิติน สารมหัศจรรย์ละลายไขมัน. เจริญวิทยาการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

จันทร์ฉาย อมรยิ่งเจริญ. 2550. บิสกิตลดพลังงานจากผงเมือกเมล็ดแมงลัก. วิทยานิพนธ์ดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิราวัฒน์ ทัดติยกุล. 2554. วิทยากระแสนของอาหาร. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 114 หน้า.

ณัฐวิภา กุระแสง ภาณุพันธุ์ ประภาติกุล และ นิวัฒน์ มาศวรรณ. 2560. พฤติกรรมการใช้สารเคมีป้องกันและการจัดศัตรูพืชในการผลิตมะเขือเทศ ของเกษตรกรในจังหวัดสกลนคร. วารสารเกษตร 33(2): 235-244.

นิธิยา รัตนานนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 244 หน้า.

นิธิยา รัตนานนท์. 2553. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 504 หน้า.

บุษิตา รัตน์ไธสง และ สมพิศ นิซลานนท์. 2542. เอกสารการสอนชุดวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารเบื้องต้น. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมิกราช, นนทบุรี.

ปลื้มจิตต์ ไรจนพันธุ์ สุทิน ศิริไพรวัน ณรงค์ ยุคันตพรพงษ์ นวนิตย์ วีระวัฒน์สุข และ ศิริรัตน์ ทองเทพ. 2526. เมล็ดแมงลัก 1: การแยกสารเมือก. วารสารเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 10(1): 19-24.

ปิยนุสรณ์ น้อยดวง และ เนตรนภา วิเลปะนะ. 2550. การใช้ผงเมือกจากเมล็ดแมงลักเป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์น้ำจิ้มไก่. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม 3(1): 22-28.

ปิยนุสรณ์ น้อยดวง และ ระวีวรรณ วงศ์วรรณ. 2553. การพัฒนาสูตรไอศกรีมจากน้อยหน่าโดยใช้ผงเมือกจากเมล็ดแมงลักเป็นสารให้ความคงตัว. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม 5(1): 36-45.

เพชรดา อยู่สุข ศิวาพร ธรรมดี พธิญา บุญประสม พูลลาภ และ ดนัย บุญเกียรติ. 2561. ผลของการลดอุณหภูมิแบบสุญญากาศต่อคุณภาพของผักกาดฮ่องเต้อินทรีย์ที่ปลูก และเก็บเกี่ยวในฤดูแล้ง. วารสารเกษตร 34(1): 11-20.

ไพโรจน์ วิริยจารี. 2539. การวางแผนและการวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 275 หน้า.

ลักขณา เหมาะหมาย. 2545. การแยกการควบคุมคุณภาพและการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสารเมือกเมล็ดแมงลัก. วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 108 หน้า.

วิภาวรรณ ศรีมุข. 2549. เรื่องน่ารู้ของเลขิติน. บทความวิทยุกระจายเสียงรายการสาระยามบ่าย ครั้งที่ 74. กรมวิทยาศาสตร์บริการ, กรุงเทพฯ.

วิมล ศรีสุข. 2537. โยอาหารกับสุขภาพ. จุลสารข้อมูลสมุนไพร 11(2): 9-20.

ศศิธร เรืองจักเพ็ชร และ ปราณี อานเป็รื่อง. 2545. การผลิตมิวชิเลจจากเมล็ดแมงลัก. วารสารอาหาร 32(2): 144-153.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนผลไม้แห้ง. มผช.136/2546. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, กรุงเทพฯ. 6 หน้า.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2547. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำสลัด. มผช.

- 672/2547. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, กรุงเทพฯ. 6 หน้า.
- สุธินี คำเพ็ง จอมใจ พิรพัฒน์ และ เกษม นันทชัย. 2555. การสกัดและคุณสมบัติของสารเมือกเมล็ดแมงลัก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43(3): 372-375.
- สุบรรณ ชัยสวัสดิ์. 2554. น้ำสลัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์บริษัทแม่บ้าน จำกัด, กรุงเทพฯ.
- สุมิตรา คงชื่นสิน. 2554. แมงลัก. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland.
- Gordon, M.H. 2001. The development of oxidative rancidity in foods. pp. 7-21. In: J. Pokaran, N. Yanishlieva and Gordon (eds.). Antioxidants in Food: Practical Application. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.
- Hill, T. 2006. Dehydrated mash potato product and process. U.S. patent no. US7074450 B1: 1-14.
- Leelahagul, P., S. Putadechakum and V. Tanphaichitr. 1992. The effects of soluble dietary fibre from the Thai herb, sweet basil seed, on human body composition. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 1: 169-174.
- McClements, D.J. 2005. Food Emulsions Principles: Practices and Techniques. 2nd ed. CRC Press, New York. 392 p.

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 2 May - August 2018

Effects of Girdling, Foliar Fertilizer and Gibberellin Biosynthesis Inhibitors on Changes of Plant Hormones Relating to Flowering of Lychee cv. Hong Huay on Highland Nudee Charoenkit, Korawan Sringarm, Pittaya Sruamsiri and Daruni Naphrom.....	167
Selection of Rhizobacteria Against of Gummy Stem Blight Pathogen of Melon Jantar Aupalee and On-Uma Ruangwong.....	179
Selection of Rhizobacteria to Control Bacterial Fruit Blotch of Melon Sudarat Kaewnamarn, Angsana Akarapisan and On-Uma Ruangwong.....	193
Increasing Exhibitor Potential Against Pink Cassava Mealybug Using Crude Extract of Chitinase and Protease with <i>Beauveria bassiana</i> Sukanda Vichitphan, Supattarasorn Tabsri and Kanit Vichitphan.....	205
Effects of Hive Patterns on Storage Pot Arrangement of Stingless Bees, <i>Tetragonula laeviceps</i> Species Complex Somruetai Jaiyen, Jiraporn Kulsarin, Sawai Buranapanichpan and Kanokwan Khamyotchai.....	215
Efficacy of Some Carriers to Preserve <i>Metarhizium anisopliae</i> MRT-PCH 048 for Controlling Brown Planthopper Nuansiri Sribunme, Weerathep Pongprasert, Sawai Buranapanichpan, Pabhop Sinchayakul and Jiraporn Kulsarin.....	227
Effect of Ecological Engineering System on Diversity of Insects and Spiders in Rice Paddy Field Wongduan Fakkam, Weerathep Pongprasert, Sawai Buranapanichpan, Pabhop Sinchayakul and Wichai Sorapongpisal.....	235
Farmers' Behavior in Using Chemical Fertilizer at Ban Pho Prasat, Bo Thong Subdistrict, Bang Rakam District, Phitsanulok Province Kanchalee Jetiyanon, Pinyupa Plianbangchang, Sakchai Wittaya-areekul, Wanwisa Punsak and Suphannika Intanon.....	245
Classification of Farm Households in Rice-based Farming Systems in Kamphaeng Phet Province Suchanee Subsomboon, Benchaphun Ekasingh, Chanchai Sangchyswat, Jirawan Kitchaicharoen and Panomsak Promburom.....	255
Optimum Protein and Metabolizable Energy Levels in Royal Project Black-bone Chicken Diets During 11-16 Weeks of Age Suchon Tangtaweewipat, Patiwat Phaitong and Boonlorn Cheva-Isarakul.....	269
Carcass Quality, Chemical Composition, and Oxidative Stability of Meat of Crossbreds (Thai Indigenous Chickens Layer Breed), Thai Indigenous, Layer, and Broiler Chickens Chonlathee Kaewkot, Jetsada Ruangsuriya and Sanchai Jaturasitha.....	277
Effects of Fish Silage on Growth Performance, Feed and Nutrient Utilization of Red Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>) Anurak Khieokhajonkhet.....	287
Optimal Condition for Glutinous Brown Rice 'RD6' Germination and Application in Puffed Rice Snack Products Natcha Laokuldilok, Suwanan Khumpan, Thanyaras Prom-in, Napapan Chokumnoyporn and Nanthina Damrongwattanagool.....	297
Effects of Algal Strains and Culture Media on Lipid Productivity in Green Microalgae, Genus <i>Chlorella</i> Patiruj Jirakranwong, Weeraphan Sridokchan and Orn-u-ma Tanadul.....	311
Utilization of Hairy Basil Seed Mucilage as Fat Replacer in Salad Dressing for Health Gannigar Onsamlee.....	319

ISSN 0857-0841

