



วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 36 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2563

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากผักกระโดน (*Lantana camara* L.) ต่อการชักนำให้เกิดตัวเต็มวัยหนอนเชื้อไฟ (*Omphisa fuscidentalis* Hampson) นกอดดูกลาง

ไฟทอรี โยเคโล อรุณฉาย สายอ้าย และ มนพร มานะบุญ พูลแก้ว.....	1
ศักยภาพในการควบคุมหนอนใยผักของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่คัดแยกจากดินในจังหวัดอุดรธานี	
มนัสสินธุ์ บุญตัด วีระเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธุ์ และ จิราพร กุลสาริน.....	15
การมีส่วนร่วมของเกษตรกรในการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวเขตชลประทาน: กรณีศึกษา ตำบลวังนก อำเภอสามง่าม จังหวัดพิจิตร	
สุวรรณา ทองภู วีระเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธุ์ จิราพร กุลสาริน และ วิภา หอมหวล.....	23
การเปรียบเทียบพันธุ์มันสำปะหลังต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม (<i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid and White) Chitwood) และประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้ำในการควบคุม	
ภูมิ ต๊ะอุ่น วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ ศิวาลัย สิริมงคลรัตน์ และ ดวงรัตน์ ธงภักดิ์.....	35
ความสามารถในการผสมข้ามและการออกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้ดินบางชนิด ในสกุล <i>Habenaria</i> และ <i>Pecteilis</i>	
ชฎาพร ทราญคำ เกวลิณ คุณาศักดากุล และ ณัฐา โพธารมณ์.....	47
ผลของสารโคโคซานและเมทิลจัสโมเนตต่อการแสดงออกของยีนฟีนอลอะลานีนแอมโมเนีย โลเอส และการผลิตสารประกอบฟีนอลิกในหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ	
สุภาพร ภัสสร สุชาดา สุดแสง และ ศชาภรณ์ ทองดอนยอด.....	59
ผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อสมบัติและการกักเก็บคาร์บอนในดินบนพื้นที่สูง อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน	
ณิชาภัทร สิทธิวรรณท์ ชูชาติ สันธทรัพย์ และ พ้าไพลิน ไชยวรรณ.....	69
ความสามารถของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้วยาแฟอะราบิกา	
อนันตพร ทำของดี กวีพร จินะจินดา ยุพา จอมแก้ว พ้าไพลิน ไชยวรรณ และ อรวรรณ ฉัตรสิริรุ่ง.....	79
ผลของอัตราและความถี่ในการให้น้ำทางใบต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แวนดาพันธุ์แพทิดไลท์	
ทีปกร รื่นใจใจ ชัยอาทิตย์ อินคำ และ ไสระยา ร่วมรังษี.....	93
ผลของวิธีการให้น้ำทางใบต่อการเติบโตของกล้วยไม้แวนดา	
กมลชนก เลิศไพโรจน์ กนกวรรณ บุญจะมา ชัยอาทิตย์ อินคำ และ ไสระยา ร่วมรังษี.....	103
ประสิทธิภาพการใช้และการส่งถ่ายไนโตรเจนที่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์หอมนิล	
ธีรวิทย์ จันทร์เนย สายบัว เข้มเพชร อรวรรณ ฉัตรสิริรุ่ง ยุพา จอมแก้ว และ ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา.....	113
จลนศาสตร์การปลดปล่อยโพแทสเซียมของดินที่ลุ่มบริเวณที่ราบภาคกลางของประเทศไทย	
ทิมทอง ดรุณสนธยา พัสกร ทะสานนท์ วิทยา จินดาหลวง และ กรรณา พุ่มทรง.....	123
ผลของการให้น้ำโพแทสเซียมทางใบต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและการดูใช้ธาตุอาหารในถั่วฝักยาวไร้ค้าง	
สายชล สุขญาณกิจ ภาณุพงศ์ ฤกษ์ยานีย์ ชลธรา ชาวคำเขตร์ และ ธนภัทร ปลื้มพวง.....	135
ผลของการเสริม <i>Lactobacillus plantarum</i> BCC 65951 ต่อคุณภาพการหมักของหนุ่ยเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก โดยวิธีวัดแก๊สในห้องปฏิบัติการและการย่อยสลายในกระเพาะรูเมน	
นริศรา คงสุข ศิวชัย สังข์ศิริทองษ์ เวทชัย เปล่งวิทยา กิตติมา กองทอง และ เสาวลักษณ์ แยมหมื่นอาจ.....	145
ปัจจัยที่มีผลต่อความคิดเห็นของสมาชิกในการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ตำบลปาลัก อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย	
เมธาวรรณ ชูเวช สุรพล เศรษฐบุตร บุศรา ลัมนิรันดร์กุล และ ประทานทิพย์ กระมล.....	155

ISSN 0857-0841

TCI กลุ่มที่ 1

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เรื่องที่ตีพิมพ์

1. เป็นบทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการทางด้านเกษตรศาสตร์และสาขาที่เกี่ยวข้อง
 2. ต้องไม่เคยได้รับตีพิมพ์มาก่อน (ต้นฉบับ หรือส่วนหนึ่งของต้นฉบับ) และต้นฉบับต้องไม่ได้อยู่ระหว่างกระบวนการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารหรือสิ่งตีพิมพ์อื่นใด
- การเตรียมต้นฉบับ**

1. **ภาษา** เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ
2. **การพิมพ์**

1) พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษขนาด A4 พิมพ์แนวตั้ง (portrait orientation) ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟต์ เวิร์ด (Microsoft Word for Windows) ตัวอักษรใช้ Cordia New โดยทั่วไปให้ระยะบรรทัดปกติคือ 1 เท่า หรือ Single ความยาวต้นฉบับไม่เกิน 10 หน้า

2) ชื่อเรื่องให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 18 points พิมพ์ตัวหนา (bold) และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ สำหรับชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ กำหนดให้อักษรตัวแรกของคำให้พิมพ์ด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ (capital letter)

3) ชื่อผู้เขียนให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 15 points พิมพ์ตัวหนา และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ

4) ที่อยู่และที่อยู่อีเมลของผู้เขียนให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 12 points พิมพ์ตัวเอียงธรรมดา (normal italic) และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ

5) บทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 14 points พิมพ์ตัวธรรมดา (normal) ยกเว้นเฉพาะคำ บทคัดย่อ และ Abstract ให้พิมพ์ตัวหนา และจัดชิดซ้าย

6) เนื้อหาให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 14 points พิมพ์ตัวธรรมดา (normal)

7) หัวข้อหลัก ได้แก่ คำนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผลการทดลองและวิจารณ์ สรุปเอกสารอ้างอิง ให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 16 points พิมพ์ตัวหนา และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ

8) หัวข้อย่อย ให้พิมพ์ตัวหนาและจัดชิดซ้าย

9) คำอธิบายตารางและภาพให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 14 points พิมพ์ตัวหนา โดยคำอธิบายตารางให้พิมพ์เหนือตารางและจัดชิดซ้าย ส่วนคำอธิบายภาพให้พิมพ์ใต้ภาพและจัดกึ่งกลางหน้า และคำอธิบายตารางและภาพถ้ามีมากกว่าหนึ่งบรรทัดให้เริ่มต้นพิมพ์บรรทัดถัดมาตรงกับข้อความของบรรทัดแรก

10) หากมีชื่อวิทยาศาสตร์ปรากฏในบทความ ให้เขียนตามหลักเกณฑ์การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ในครั้งแรกที่ปรากฏขึ้นนี้ให้สะกดเต็ม เช่น *Meloidogyne incognita* และหลังจากนั้นถ้ามีการระบุชื่อนี้บ่อยครั้งให้ย่อชื่อสกุล โดยเขียนเป็น *M. incognita*

11) คำว่า *et al.* และ *P* (*P*-value) ให้พิมพ์เอน

ข้อแนะนำการใช้ภาษา

- 1) ใช้คำศัพท์ตามพจนานุกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน และประกาศของราชบัณฑิตยสถาน
- 2) การเขียนชื่อเฉพาะหรือคำแปลจากภาษาต่างประเทศ ควรพิมพ์ภาษาเดิมของชื่อนั้นๆ ไว้ในวงเล็บในครั้งแรกที่ปรากฏในบทความ โดยพิมพ์เป็นอักษรตัวพิมพ์เล็กทั้งหมด ยกเว้นชื่อเฉพาะให้พิมพ์เฉพาะอักษรตัวแรกเป็นตัวพิมพ์ใหญ่
- 3) ไม่ควรใช้ภาษาต่างประเทศถ้ามีภาษาไทยใช้อยู่แล้ว
- 4) รักษาความสม่ำเสมอในการใช้คำ คำศัพท์ และตัวย่อ โดยตลอดทั้งบทความ

การเรียงลำดับหัวข้อ ให้เรียงตามลำดับดังนี้

1. **ชื่อเรื่อง (Title)** ควรสั้น ชัดเจน และต้องสื่อเป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัย มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ต้นฉบับที่เป็นภาษาไทยให้พิมพ์ชื่อเรื่องที่เป็นภาษาไทยก่อน แล้วตามด้วยชื่อเรื่องภาษาอังกฤษในบรรทัดถัดมา หากต้นฉบับเป็นภาษาอังกฤษ ให้พิมพ์ชื่อเรื่องภาษาอังกฤษก่อนแล้วตามด้วยภาษาไทย

2. **ชื่อผู้เขียน** ให้ใช้ชื่อเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ หากผู้เขียนมีหลายคนและมีที่อยู่หรือสังกัดแตกต่างกัน ให้ใช้เลขด้วย (superscript) ที่ต่างกัน กำกับไว้ท้ายนามสกุลของผู้เขียนที่มีที่อยู่ต่างกันนั้น หากมีผู้เขียนคนเดียว หรือหลายคนที่มีที่อยู่เดียวกัน ไม่ต้องใช้เลขด้วยกำกับท้ายนามสกุลของผู้เขียน นอกจากนี้ ให้ใส่เครื่องหมายดอกจัน (*) กำกับไว้ท้ายนามสกุลของผู้เขียนที่ให้ติดต่อ (corresponding author) ด้วย

3. **ที่อยู่ หรือสังกัด** ให้ระบุเฉพาะที่อยู่หรือสังกัดของผู้เขียนเท่านั้น มีทั้งที่เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ หากที่อยู่มีหลายแห่ง ให้พิมพ์ภาษาไทยของที่อยู่แห่งแรกก่อนแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษ จากนั้นพิมพ์ภาษาไทยของที่อยู่แห่งที่สองแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษ สลับกันในลักษณะนี้เรื่อยไปหากมีมากกว่าสองแห่ง ในกรณีผู้เขียนเป็นนักศึกษา ให้ระบุที่อยู่ตามที่อยู่หรือสังกัดของอาจารย์ที่ปรึกษาเท่านั้น นอกจากนี้ บรรทัดถัดจากที่อยู่ ให้พิมพ์ที่อยู่อีเมล (email address) ของผู้เขียนที่ให้ติดต่อ (corresponding author) ด้วย

4. **บทคัดย่อ (Abstract)** ควรเป็นเนื้อหาที่สั้น ชัดเจนและเข้าใจง่าย โดยรวมเหตุผลในการศึกษาวิจัย อุปกรณ์ วิธีการ ตลอดจนผลการศึกษาและสรุปด้วย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ควรเกิน 250 คำ และให้ระบุคำสำคัญ (keywords) ไว้ท้ายบทคัดย่อแต่ละภาษาด้วย คำสำคัญไม่ควรเกิน 5 คำ ต้นฉบับที่เป็นภาษาไทยให้พิมพ์บทคัดย่อภาษาอังกฤษก่อนบทคัดย่อภาษาไทย หากต้นฉบับเป็นภาษาอังกฤษ ให้พิมพ์บทคัดย่อภาษาไทยก่อนบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

5. **เนื้อหา (Text)** ประกอบด้วย

5.1 **คำนำ (Introduction)** แสดงความเป็นมาและเหตุผลที่นำไปสู่การศึกษาวิจัย อาจรวมการทบทวนเอกสาร (review of literature) และวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยไว้ด้วย

5.2 **อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)** ให้อธิบายละเอียดของวัสดุเครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ ในการทดลอง ตลอดจนวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ และแบบจำลองการศึกษาวิจัยที่ชัดเจนและสมบูรณ์

5.3 **ผลการทดลองและวิจารณ์ หรือ ผลการศึกษาและวิจารณ์ (Results and Discussion)** ให้นำบรรยายผลการศึกษาวิจัย พร้อมเสนอข้อมูลในรูปแบบตารางหรือภาพประกอบได้ โดยตารางหรือภาพรวมทั้งคำอธิบายให้จัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด ถ้ามีตารางหรือภาพในบทความให้อ้างตารางหรือภาพนั้นในเนื้อหาด้วย สำหรับบทวิจารณ์ ควรเชื่อมโยงกับผลการศึกษาว่าสอดคล้องกับสมมุติฐาน หรือแตกต่างจากผลงานวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหรือไม่อย่างไรและด้วยเหตุใด โดยมีพื้นฐานการอ้างอิงที่เชื่อถือได้

5.4 **สรุป (Conclusion)** เป็นการสรุปผลที่ได้รับจากการศึกษาวิจัย อาจมีข้อเสนอแนะหรือระบุอุปสรรคและแผนงานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไป

5.5 **กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)** อาจมีหรือไม่ก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ให้ทุนวิจัย หรือผู้ช่วยเหลือในงานวิจัย แต่ไม่ได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย

5.6 **เอกสารอ้างอิง (References)** ให้เรียงเอกสารตามตัวอักษร

หลักการอ้างอิงและการเขียนเอกสารอ้างอิง

เนื่องจากวารสารเกษตรกำลังปรับเข้าสู่ฐานข้อมูล ACI (ASEAN Citation Index) ข้อกำหนดประการหนึ่งก็คือ เอกสารอ้างอิง (reference) ต้องจัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด ถ้าเป็นภาษาอื่น เช่น ภาษาไทย ต้องแปลเป็นภาษาอังกฤษ แล้ววงเล็บท้ายข้อความว่า in Thai เป็นต้น หลักการอ้างอิงและการเขียนเอกสารอ้างอิง มีดังนี้

1. **การอ้างอิงในเนื้อเรื่อง** ไม่ควรอ้างอิงถึงเรื่องที่ไม่เกี่ยวข้อง ระบบที่ใช้อ้างอิงคือ ระบบชื่อและปี (Name-and-year System) ให้ใช้ชื่อสกุลและปี ค.ศ. เช่น Kubo (2003)....หรือ....(Kubo, 2003) ถ้าผู้เขียนมี 2 คน ให้ใช้ เป็น Muthita and Kuanprasert (2004)หรือ....(Muthita and Kuanprasert, 2004) หากมีมากกว่า 3 คน ให้ใช้ เป็น Bukhari *et al.* (2011)....หรือ....(Bukhari *et al.*, 2015) สำหรับในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้ระบุชื่อผู้เขียนทุกคนห้ามใช้คำว่า และคณะ หรือ *et al.*

(ดูคำแนะนำการเขียนเอกสารอ้างอิง การส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ และการพิจารณาบทความได้ที่ปกหลังด้านใน)

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	เพื่อเผยแพร่วิทยาการด้านการเกษตร และสาขาที่เกี่ยวข้อง	Objective	To disseminate academic knowledge in agriculture and related fields
ที่ปรึกษา	คณบดีคณะเกษตรศาสตร์ รองคณบดีฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ ศ. เขียวชาญพิเศษ ดร. สันชัย จตุรสิทธิ์	Consultants	Dean, Faculty of Agriculture; Associate Dean for Research and Academic Services Sanchai Jaturasitha, Dr.sc.agr., Prof.
บรรณาธิการ	ศ.ดร. ดนัย บุญเกียรติ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editor	Danai Boonyakiat, Ph.D., Prof. Chiang Mai University
รองบรรณาธิการ	รศ.ดร. ไสว บุรณพานิชพันธุ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Vice Editor	Sawai Buranapanichpan, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University
กองบรรณาธิการ ฝ่ายวิชาการ	รศ.ดร. เกวลิณ คุณาศักดากุล มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. สุนทร คำยอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. รุจ ศิริสัญลักษณ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. ชนกานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. สุรินทร์ นิลสำราญจิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. เยาวลักษณ์ จันทร์บาง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. ฉันทลักษณ์ ติยายน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. จิรวรรณ กิจชัยเจริญ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. เสาวลักษณ์ แยมหมื่นอาว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. ชูชาติ สันธทรัพย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editorial Board (Academic)	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 Tiyyayon, 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., Assist. Prof. Chiang Mai University

ผศ.ดร. สรณะ สมโน
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 ศ.ดร. จรัญ จันทลักขณา
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 ศ. ญาณวิทย์ ดร. เมธาวรรณพัฒน์
 มหาวิทยาลัยขอนแก่น
 ศ.ดร. อังศุมาลย์ จันทรวาปัติย์
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 ศ.ดร. สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร
 มหาวิทยาลัยขอนแก่น
 ศ.ดร. ธวัชชัย ศุภดิษฐ์
 สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์
 รศ.ดร. เสวียน เปรมประสิทธิ์
 มหาวิทยาลัยนเรศวร
 รศ.ดร. วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ
 มหาวิทยาลัยนเรศวร
 รศ.ดร. เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล
 มหาวิทยาลัยขอนแก่น
 รศ. บำเพ็ญ เขียวหวาน
 มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
 รศ.ดร. เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน
 มหาวิทยาลัยแม่โจ้
 ผศ.ดร. ปฎิภาณ สุทธิกุลบุตร
 มหาวิทยาลัยแม่โจ้
 ผศ.ดร. เพ็ญพร เจนการกิจ
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 ผศ.ดร. ไชยวรรณ วัฒนจันทร์
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 ผศ.ดร. เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 กองบรรณาธิการ
 ฝ่ายการจัดการ
 นางลาลิตยา นุ่มมีศรี
 นางสาวอรุณิชาณี ปารมี
 นายมานพ เปี้ยพรรณ

Sarana Sommano, Ph.D., Assist. Prof.
 Chiang Mai University
 Charan Chantalakhana, Ph.D., Prof.
 Kasetsart University
 Metha Wanapat, Ph.D., Prof.
 Khon Kaen University
 Angsumarn Chandrapatya, Ph.D., Prof.
 Kasetsart University
 Suchila Techawongstien, D.agr., Prof.
 Khon Kaen University
 Tawadchai Suppadit, Ph.D., Prof.
 National Institute of Development Administration
 Savent Pampasit, Ph.D., Assoc. Prof.
 Naresuan University
 Weerathep Pongprasert, Ph.D., Assoc. Prof.
 Naresuan University
 Petcharat Thummabenjapone, Ph.D., Assoc Prof.
 Khon Kaen University
 Bumpen Keowan, M.S., Assoc. Prof.
 Sukhothai Thammathirat Open University
 Kriangsak Mengumphan, Ph.D., Assoc. Prof.
 Maejo University
 Pathipan Sutigoolabud, Ph.D., Assist. Prof.
 Maejo University
 Penporn Janekarnkij, Ph.D., Assist. Prof.
 Kasetsart University
 Chaiyawan Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof.
 Prince of Songkla University
 Saowakon Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof.
 Prince of Songkla University
 Editorial Board
 (Management)
 Lalitaya Nummisri
 Onnichia Paramee
 Manop Pearpun

บทบรรณาธิการ

สวัสดีปีใหม่ 2563 ครับ วารสารเกษตรฉบับนี้เป็นฉบับแรกของปีที่ 36 ซึ่งอยู่ในช่วงปีใหม่ ทางกองบรรณาธิการขอ
อัญเชิญสิ่งศักดิ์สิทธิ์ที่ท่านผู้อ่านเคารพนับถือ โปรดดลบันดาลให้ทุกท่านมีสุขภาพพลานามัยที่แข็งแรงสมบูรณ์ มีความสุข
ก้าวหน้าในชีวิตการทำงานและสามารถสร้างผลงานวิจัยที่เป็นประโยชน์ต่อการวิชาการต่อเกษตรกรและประเทศชาติ
วารสารเกษตรฉบับนี้ประกอบด้วยบทความที่น่าสนใจทางด้านสาขากฎวิทยา 3 เรื่อง สาขาโรคพืช 1 เรื่อง สาขาพืชสวน 2 เรื่อง
สาขาปฐพีศาสตร์ 7 เรื่อง สาขาสัตวศาสตร์ 1 เรื่อง และสาขาส่งเสริมการเกษตร 1 เรื่อง กองบรรณาธิการขอขอบคุณนักวิจัย
ทุกท่านที่สร้างสรรค์ผลงานและเขียนบทความวิจัยที่มีคุณค่าตีพิมพ์ในวารสารเกษตรฉบับนี้ และขอขอบคุณที่ท่านให้เกียรติ
และไว้วางใจให้วารสารเกษตรตีพิมพ์ผลงานของท่าน สุดท้ายนี้ผมขอขอบคุณผู้อ่านทุกท่านที่ติดตามบทความวิจัยที่ดีพิมพ์
ในวารสารเกษตรมาโดยตลอด และพบกันใหม่ในวารสารเกษตรฉบับหน้าครับ

ศาสตราจารย์ ดร. ดนัย บุญเกียรติ

บรรณาธิการวารสารเกษตร

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากผลกากรอง (*Lantana camara* L.) ต่อการชักนำให้เกิด
ตัวเต็มวัยหนอนเยื่อไผ่ (*Omphisa fuscidentalis* Hampson) นอกฤดูการ

Efficacy of *Lantana* (*Lantana camara* L.) Extract on Induction of Off-seasonal Adult
Bamboo Borer (*Omphisa fuscidentalis* Hampson)

ไพฑูรย์ โถยะโล¹ อรุณชัย สายอ้าย² และ มนพร มานะบุญ พูลแก้ว^{1*}
Phaithun Thoyalo¹, Aroonchai Saiai² and Manaporn Manaboon Poolkeaw^{1*}

¹ห้องปฏิบัติการต่อมไร้ท่อวิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200
¹Endocrinology Research Laboratory, Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50200, Thailand

²ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200
²Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand
*Corresponding author: Email: m_manaboon@hotmail.com

(Received: 8 February 2019; Accepted: 19 June 2019)

Abstract: The bamboo borer is the larva of the moth *Omphisa fuscidentalis* Hampson. This insect undergoes complete metamorphosis with four stages in its life cycle: egg, larva, pupa, and adult. The duration of the life cycle of *O. fuscidentalis* is 1 year. The final (fifth) instar larvae are maintained in the larval diapause stage for 9 months, and adult females lay eggs once a year. However, application of the juvenile hormone analogue (JHA) to the final (fifth) instar larvae induces pupation and consequently adulthood. Application of JHA to induce the formation of non-seasonal adults has great potential, but not without environmental concern. Plant extracts can be an alternative source of chemical hormones. The aims of this study were to evaluate the efficacy of *Lantana camara* L. extract, which exhibits juvenoid activity, and to study the effects of this extract on the growth and development of larval, pupal, and adult gonads. Main stems and branches of *L. camara* were extracted using a reflux extraction method and acetone as a solvent. Three concentrations (0.01, 0.1, and 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) of the extracts were prepared and directly applied to the final instar larvae. Pupation and changes in gonads at the different stages of development (larva, pupa, and adult) were recorded. The results indicated that the extracts could induce pupation at each dose tested and the percentage of pupation did not differ significantly among the doses. The concentrations 0.01 and 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ resulted in 95.85% and 98.81% pupation, respectively, while treatment with 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ of the extract resulted in 93.77% pupation within 38.93 ± 0.73 days ($P < 0.05$). In addition, the application of 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ of the extract did not affect the morphology of the testis and ovary compared with the control. Extract treatment significantly reduced the number of sperm in the adult testis but did not significantly affect the number of mature eggs compared with the control ($P < 0.05$). There were no significant differences in protein accumulation in the adult ovary in the different groups.

Keywords: *Lantana camara*, *Omphisa fuscidentalis*, extract

บทคัดย่อ: หนอนเยื่อไผ่เป็นหนอนของผีเสื้อกลางคืน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Omphisa fuscidentalis* Hampson ผีเสื้อหนอนเยื่อไผ่มีการเจริญ 4 ขั้น ได้แก่ ไข่ หนอน ดักแด้และตัวเต็มวัย มีวงจรชีวิตนานประมาณ 1 ปี โดยตัวหนอนวัยสุดท้ายอยู่ในระยะพักตัวที่เรียกว่าลาร์วัล ไดอะพอส (larval diapause) นานถึง 9 เดือน ทำให้ผีเสื้อเพศเมียวางไข่ได้ปีละ 1 ครั้ง อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าหากหดยอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (juvenile hormone analogue) ให้กับหนอนวัยสุดท้าย จะทำให้ตัวหนอนเข้าดักแด้และดักแด้สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ การนำฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ไปประยุกต์ให้เกิดตัวเต็มวัยนอกฤดูกาลจึงมีความเป็นไปได้สูง อนึ่ง การใช้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ อาจทำให้เกิดการตกค้างของสารภายในสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อนำสารสกัดจากผักกระรอง (*Lantana camara* L.) ที่สามารถออกฤทธิ์เลียนแบบฮอร์โมนจูวีไนล์มาทดแทนและศึกษาผลของสารสกัดจากผักกระรองต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย โดยนำส่วนลำต้นและกิ่งแก่ของผักกระรองมาสกัดด้วยวิธีสกัดแบบไหลย้อนกลับ (reflux extraction) ด้วยอะซิโตน เตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นไปหยดให้กับหนอนเยื่อไผ่วัยสุดท้าย หลังจากนั้นบันทึกข้อมูลการเข้าดักแด้และการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้หนอนเข้าดักแด้ได้อย่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.01 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ทำให้หนอนเยื่อไผ่เข้าเป็นดักแด้ได้ร้อยละ 95.85 ± 2.24 และ 98.81 ± 1.19 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ทำให้หนอนเข้าเป็นดักแด้ได้ร้อยละ 93.77 ± 4.51 โดยใช้เวลาเร็วที่สุดเท่ากับ 38.93 ± 0.73 วัน ($P < 0.05$) อีกทั้งเมื่อหดยาสารสกัดจากผักกระรองที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรให้กับหนอนวัยสุดท้าย พบว่า สารสกัดไม่มีผลต่อสัณฐานวิทยาของอวัยวะและรังไข่เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดทำให้ตัวเต็มวัยมีสุจิลดลงแต่ไม่มีผลต่อจำนวนไข่เจริญเต็มที่ อีกทั้งพบว่ารังไข่มีโปรตีนสะสมไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

คำสำคัญ: ผักกระรอง หนอนเยื่อไผ่ สารสกัด

คำนำ

ในปัจจุบันแมลงเป็นแหล่งอาหารทดแทนที่สำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารประเภทโปรตีน มีการแนะนำให้บริโภคเพื่อแก้ไขปัญหาการขาดแคลนอาหารของมนุษย์ พบว่ามนุษย์บริโภคแมลงมากกว่า 1,900 ชนิดเป็นอาหาร (FAO, 2013) ในประเทศไทยมีการบริโภคแมลงมากกว่า 300 ชนิด ได้แก่ ดักแด้หนอนไหม ตั๊กแตน จิ้งหรีด เป็นต้น ซึ่งแมลงส่วนใหญ่ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 40-50 วันเท่านั้น หนอนเยื่อไผ่เป็นแมลงอีกชนิดที่นิยมบริโภคเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูง และให้พลังงานสูง (Ngunboonsri *et al.*, 1989) เนื่องจากแมลงชนิดนี้มีวงจรชีวิตนานถึง 1 ปี การเลี้ยงต้องใช้ระยะเวลานาน เพราะหนอนวัยสุดท้ายใช้เวลาในการเจริญ 9 เดือนจึงเข้าเป็นดักแด้ และเจริญต่อเป็นตัวเต็มวัย การลดวงจรชีวิตหนอนเยื่อไผ่สามารถทำได้โดยการให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์

กับตัวหนอนวัยสุดท้าย ซึ่งจะช่วยให้ตัวหนอนเข้าเป็นดักแด้ภายใน 30 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ อย่างไรก็ตามหนอนอาจเจริญเป็นดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์และตายได้ หากให้ฮอร์โมนที่มีความเข้มข้นสูงเกินไป (Singtripop *et al.*, 2000)

โดยปกติการให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์กับตัวหนอนของแมลงจะทำให้ตัวหนอนไม่เข้าเป็นดักแด้หรือเข้าเป็นดักแด้ได้ช้ากว่าปกติ ดังมีรายงานว่า การให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรกับหนอนกระทุ้ *Spodoptera littoralis* Boisduval และ *S. frugiperda* Smith ทำให้ตัวหนอนเข้าเป็นดักแด้ช้ากว่าปกติ 7 วัน (El-Sheikh *et al.*, 2016) นอกจากนี้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ยังส่งผลกับระบบสืบพันธุ์ของแมลงทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยมีรายงานว่า การให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์เข้มข้น 1 นาโนกรัมต่อ 5 ไมโครลิตรกับตัวหนอนของผีเสื้อไหม (*Bombyx mori* Linnaeus) ทำให้

ดักแต่ที่เกิดมีสุจิน้อยลง (İzzetoğlu *et al.*, 2018) อีกทั้งพบว่าการให้ฮอร์โมนจูวีโนลส์สังเคราะห์เข้มข้น 60 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรกับตัวหนอนของผีเสื้อหนอนกระทุง (*S. litura*) ทำให้แมผีเสื้อมีจำนวนไข่อลดลงและอายุขัยสั้นลงด้วย (Xu *et al.*, 2015) การผสมฮอร์โมนจูวีโนลส์สังเคราะห์เข้มข้น 0.02 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ให้กับอาหารของตัวหนอนของผีเสื้อกลางคืน *Plodia interpunctella* Hübner ทำให้รังไข่ของผีเสื้อกลางคืนชนิดนี้มีการสะสมโปรตีนในรังไข่อลดลง (Ghasemi *et al.*, 2010) เนื่องจากฮอร์โมนจูวีโนลส์สังเคราะห์มีผลต่อการเข้าเป็นดักแด้และมีผลต่อระบบสืบพันธุ์จึงถูกนำไปใช้เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของแมลง (insect growth regulators) (Staal, 1975) แต่อย่างไรก็ตามการใช้ฮอร์โมนจูวีโนลส์สังเคราะห์ในการควบคุมแมลงอาจทำให้เกิดสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม (Siddall, 1976) จึงมีการนำเอาสารสกัดจากพืชที่ออกฤทธิ์เลียนแบบฮอร์โมนจูวีโนลส์มาใช้ทดแทนพืชที่นำมาใช้ทดแทน ได้แก่ น้อยหน่า (*Annona squamosa* Linnaeus) ผกากรอง (*Lantana camara* Linnaeus) ลำมะงา (*Clerodendrum inerme* Linnaeus) คุน (*Cassia fistula* Linnaeus) สะเดา (*Azadirachta indica* A. Juss) ดอกกรัก (*Calotropis procera* Ait.) สัก (*Tectona grandis* Linnaeus) และองุ่น (*Vitis vinifera* Linnaeus) (Deka and Singh, 2005; Dwivedi and Garg, 2003; Khyade *et al.*, 2012)

การให้สารสกัดจากผกากรองกับตัวหนอนของแมลงทำให้ตัวหนอนเกิดการลอกคราบผิดปกติและมีผลต่อการเข้าดักแด้โดยขึ้นกับชนิดของแมลงและความเข้มข้นของสารสกัด เมื่อผสมสารสกัดจากผกากรองร่วมกับข้าวเพื่อให้เป็นอาหารกับตัวหนอนของผีเสื้อข้าวสาร (*Corcyra cephalonica* Stainton) พบว่าตัวหนอนเข้าเป็นดักแด้ได้ช้ากว่าปกติ ขึ้นอยู่กับปริมาณสารสกัดที่ใช้ แต่หนอนอาจได้ตายหากหนอนกินข้าวที่ผสมสารสกัดจากผกากรองในปริมาณ 1.5 กรัมต่อข้าวสาร 20 กรัม (Morya *et al.*, 2010) ในขณะที่การให้สารสกัดจากผกากรองเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรกับตัวอ่อนยุงลาย (*Aedes aegypti* Linnaeus) และยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus* Say) ทำให้ตัวอ่อนยุงตายภายใน 1 วัน (Kumar and Maneemegalai, 2008) การ

ให้สารสกัดจากผกากรองเข้มข้น 0.05 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร กับตัวอ่อนมวนแดงฝ้าย (*Dysdercus koenigii* Fabricius) ทำให้ตัวอ่อนลอกคราบผิดปกติแต่ตัวอ่อนจะตายถ้าให้สารสกัดความเข้มข้นสูงกว่า 10 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (Kayesth and Gupta, 2018) นอกจากสารสกัดจากผกากรองมีผลกับการลอกคราบแล้ว การให้สารสกัดจากผกากรองกับแมลงยังทำให้ระบบสืบพันธุ์ผิดปกติด้วย ดังมีรายงานว่า การให้สารสกัดจากผกากรองเข้มข้น 1.25 และ 2.5 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร กับมวนแดงฝ้ายทำให้ตัวเต็มวัยเพศเมียสร้างไข่อลดลงร้อยละ 30 และ 40 (Kayesth *et al.*, 2017) อย่างไรก็ตามงานวิจัยเบื้องต้นพบว่าการให้สารสกัดจากผกากรองกับหนอนเยื่อไม้วัยสุดท้ายทำให้เข้าเป็นดักแด้ได้ โดยใช้เวลาในการลอกคราบเป็นดักแด้แตกต่างกันขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด

งานวิจัยนี้จึงสนใจนำสารสกัดจากลำต้นและกิ่งแก่ของผกากรองมาหาค่าให้กับหนอนเยื่อไม้แล้วศึกษาผลต่อการเปลี่ยนรูปร่าง (metamorphosis) และผลต่อระบบสืบพันธุ์ของทั้ง 2 เพศ หากการใช้สารสกัดจากผกากรองหาค่าให้กับหนอนเยื่อไม้แล้วตัวหนอนเข้าดักแด้ที่สามารถเจริญต่อไปเป็นตัวเต็มวัยซึ่งมีความสมบูรณ์ของระบบสืบพันธุ์ อาจนำผลการศึกษาที่ได้นี้ไปสู่นโยบายในการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงหนอนเยื่อไม้นอกฤดูการในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมหนอนเยื่อไม้

เก็บรวบรวมหนอนเยื่อไม้วัยที่ 5 (วัยสุดท้าย) จากป่าธรรมชาติ อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ เดือนมกราคม พ.ศ. 2561 เลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 12x14x8 เซนติเมตร ภายในคลุมด้วยกระดาษทิชชูพรมน้ำให้ชุ่มเลี้ยงในสภาวะควบคุม อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีดตลอด 24 ชั่วโมง (Singtripop *et al.*, 1999)

การเตรียมสารสกัดผกากรอง

เก็บตัวอย่างผกากรองจากป่าธรรมชาติภายในศูนย์วิจัย สาคิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ ในช่วงเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2560 เลือกลง

ลำต้น และกิ่งแก่ (Khyade *et al.*, 2012) ล้างทำความสะอาด ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ อบจนแห้ง บดให้ละเอียด สกัดด้วยวิธีสกัดแบบไหลย้อนกลับ (reflux) โดยใช้อะซิโตน (acetone) เป็นตัวทำละลายตามวิธีของ Khyade *et al.* (2012) ทำการสกัดต่อเนื่องเป็นเวลา 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบหมุน (rotary evaporator) จนตัวทำละลายระเหยหมด เก็บรักษาสารสกัดที่ได้รับที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ทดสอบผลของสารสกัดจากผลการรองต่อการเติบโตของหนอนเยื่อไม้

นำสารสกัดละลายด้วยวิธีเจือจางลำดับชั้น (dilute series) ในอะซิโตนให้ได้ความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร และหยดสารสกัดตามแนวกลางตัวของหนอนเยื่อไม้ตัวละ 5 ไมโครลิตร จำนวนความเข้มข้นละ 30 ตัว จำนวน 3 ซ้ำต่อความเข้มข้นเทียบกับกลุ่มควบคุม เลี้ยงหนอนเยื่อไม้ตามวิธีของ Singtripop *et al.* (1999) บันทึกการตาย วันที่เข้าเป็นดักแด้ รูปแบบดักแด้ วันที่ออกเป็นตัวเต็มวัย และวันที่ตัวเต็มวัยตาย

ทดสอบผลของสารสกัดจากผลการรองต่ออวัยวะสืบพันธุ์ของหนอนเยื่อไม้

ทำการจำแนกหนอนเยื่อไม้เป็น 2 กลุ่ม คือเพศผู้และเพศเมีย จำนวนเพศละ 50 ตัว ตามวิธีของ Singtripop *et al.* (1999) หยดสารสกัดความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ตามแนวกลางตัวของหนอนเยื่อไม้ตัวละ 5 ไมโครลิตร เลี้ยงตามวิธีของ Singtripop *et al.* (1999) เพศผู้ ผ่าตัดวัดขนาดอวัยวะในหนอนที่ได้รับสารสกัดแล้ว

7 วัน ในดักแด้อายุ 40 วัน และตัวเต็มวัยอายุ 3 วัน จำนวนระยะละ 10 อังคทะ สำหรับตัวเต็มวัย ทำการตรวจนับจำนวนอสุจิจากของเหลวในถุงเก็บอสุจิ (seminal vesicle) และวัดความยาวของอสุจิ ในส่วนของเพศเมีย ผ่าตัดวัดขนาดรังไข่จากตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่มีอายุเท่ากับเพศผู้จำนวนระยะละ 10 รังไข่ ทำการตรวจนับจำนวนไข่จากตัวอย่างรังไข่ตัวเต็มวัยและวัดปริมาณโปรตีนที่สะสมในรังไข่ตามวิธีของ Bradford (1976) โดยการศึกษาทั้งหมดทำเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยการตรวจสอบความแปรปรวนด้วยวิธี one-way ANOVA และหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธี Tukey's range test ($P < 0.05$)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของสารสกัดจากผลการรองต่อการชักนำให้หนอนเยื่อไม้เข้าดักแด้

การให้สารสกัดจากผลการรองกับหนอนเยื่อไม้วัยสุดท้ายทำให้เข้าเป็นดักแด้ได้ โดยสารสกัดความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ทำให้เข้าเป็นดักแด้ได้สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 98.81 ± 1.19 รองลงมาคือความเข้มข้น 0.01 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ทำให้เข้าเป็นดักแด้ได้ร้อยละ 95.85 ± 2.24 และความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ทำให้เข้าเป็นดักแด้ได้ร้อยละ 93.77 ± 4.51 (Table 1) ดักแด้ของหนอนเยื่อไม้เป็นแบบ obtect pupa

Table 1. Percentage of pupae and adults obtained from *Omphisa fuscidentalis* larvae in response to *Lantana camara* extract within 60 days of treatment

Treatments ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Pupation (%)		Adults (%)
	Complete pupae	Incomplete pupae	
Control	100 ^a	0 ^a	100 ^a
0.01	95.85 ± 2.24^a	4.15 ± 2.24^a	34.13 ± 9.42^b
0.1	98.81 ± 1.19^a	1.19 ± 1.19^a	38.78 ± 6.12^b
1	93.77 ± 4.51^a	6.23 ± 4.51^a	37.20 ± 6.09^b

Means followed by the same letter in a column are not significantly different at $P < 0.05$. (One way ANOVA followed by Tukey's range test). The values are mean $\pm$ SE of 3 replicates. In each replicate 30 larvae were used

คือรูปร่างร่างกาย เช่น รัยวงค์ขา ปีก หนวด จะเนื้กติดกับลำตัว การให้สารสกัดจากผกากรองทำให้หนอนเยื่อไม้เข้าเป็นดักแด้ได้ 2 แบบ คือ ดักแด้ที่สมบูรณ์ (complete pupa) และดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete pupa) (Figure 1) โดยดักแด้ที่สมบูรณ์มีลักษณะแบบ obtect pupa (Figure 1b) สำหรับดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์แบ่งได้เป็น 2 แบบ ดังนี้ แบบที่ 1 ดักแด้สร้างผนังลำตัวแต่ลอกคราบเก่าออกไม่หมด (Figure 1c) และแบบที่ 2 ดักแด้สร้างผนังลำตัวได้โดยอยู่ใต้ผนังลำตัวของตัวหนอน แต่ดักแด้ไม่สามารถลอกคราบเก่าได้ ดักแด้จึงมีลักษณะเป็นตัวหนอนแต่สีของผนังลำตัวจะเปลี่ยนไปเป็นสีของผนังลำตัวของดักแด้ (Figure 1d) การให้สารสกัดจากผกากรองกับหนอนเยื่อไม้แล้วทำให้หนอนเข้าเป็นดักแด้ได้เหมือนกับการให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์นั้น อาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดจากผกากรองมีสารออกฤทธิ์เลียนแบบฮอร์โมนจูวีไนล์หรือมีสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างฮอร์โมนจูวีไนล์ของแมลง (Dwivedi and Garg, 2003; Kayesth *et al.*, 2017; Khyade *et al.*, 2012; More *et al.*, 2010) ซึ่งสารเหล่านี้อาจไปกระตุ้นต่อมไทรโทแรกซิกทางอ้อมทำให้ต่อมไทรโทแรกซิกหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกมาแล้วไปมีผลต่อคิวติเคิลของและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของตัวหนอนทำให้หนอนลอกคราบเป็นดักแด้ การออกฤทธิ์ของสาร

ดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Singtripop *et al.* (2000) ที่รายงานว่าเมื่อหยดฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ชื่อเมโทพรีน (methoprene) ให้กับหนอนเยื่อไม้ทำให้หนอนเยื่อไม้ลอกคราบเป็นดักแด้ได้ เมื่อทำการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโม-ลิฟของหนอนก่อนลอกคราบเป็นดักแด้พบว่าฮอร์โมนเอคไดโซนมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหนอนที่ไม่ได้รับฮอร์โมนนอกจากนั้นแล้วในปี 2008 Singtripop *et al.* ได้ทำการทดลองโดยการหยดฮอร์โมนจูวีไนล์ให้กับหนอนเยื่อไม้ จากนั้นผ่าตัดเอาต่อมไทรโทแรกซิกออกจากหนอนตัวดังกล่าวไปปลูกถ่ายให้กับหนอนอีกตัว ผลการทดลองพบว่าหนอนตัวที่ได้รับการปลูกถ่ายต่อมไทรโทแรกซิกสามารถลอกคราบเข้าเป็นดักแด้ได้ งานวิจัยดังกล่าวจึงแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนจูวีไนล์สามารถไปกระตุ้นให้ต่อมไทรโทแรกซิกหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนได้และนำไปสู่การลอกคราบเป็นดักแด้ได้ในที่สุด นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าสารสกัดจากผกากรองมีสารบางชนิดที่ส่งเสริมให้แมลงเจริญได้ดี เช่น กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) (Kayesth and Gupta, 2018) เมื่อตัวหนอนของผีเสื้อลายเสือ (*Cretonotus gangis* Linnaeus) กินอาหารที่ผสมกรดลิโนเลอิกปริมาณ 0.15 กรัม ทำให้ตัวหนอนเข้าเป็นดักแด้ได้ร้อยละ 56.7 แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ



Figure 1. Pupal formation in *Omphisa fuscidentalis* larvae induced by treatment with *Lantana camara* extract. (a) Complete pupation in the control group. (b) Complete pupation in the experimental groups. (c, d) Incomplete pupation in the experimental groups. (e) Adult from the control group. (f) Adult from the treatment group

(Mondal and Chakraborty, 2017) โดยแมลงจะนำกรดไขมันเล็กลงไปเป็นสารตั้งต้นในการสร้างลิพิด ฟอสโฟไทด์ (lipid phosphatides) ซึ่งมีผลต่อการลอกคราบ (Kantaratanakul, 1992) ซึ่งไขมันชนิดนี้จะเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์และออร์แกเนลล์อื่น ๆ โดยพบว่าตัวหนอนและดักแด้ของแมลงวันเมดิเตอร์เรเนียน (*Ceratitis capitata* Wiedemann) มีปริมาณของกรดไขมันเล็กลงไปร้อยละ 3.1 ระหว่างการลอกคราบ (Sousa *et al.*, 1971) ดังนั้นการให้สารสกัดจากผลการกรองซึ่งมีกรดไขมันเล็กลงไปเป็นองค์ประกอบแก่หนอนเยื่อไผ่อาจเป็นไปได้ว่าสารนี้ไปทำให้ฟิเตอร์มวลเซลล์ (epidermal cells) ของหนอนเยื่อไผ่เกิดการแบ่งเซลล์สร้างผนังลำตัวและเข้าเป็นดักแด้ได้

ผลของสารสกัดจากผลการกรองต่อการเจริญและการพัฒนาของหนอนเยื่อไผ่

หนอนเยื่อไผ่วัยสุดท้ายใช้เวลาในการเจริญประมาณ 270 วัน จึงเข้าเป็นดักแด้ แต่การให้สารสกัดจากผลการกรองกับหนอนเยื่อไผ่ทำให้ตัวหนอนอายุสั้นลงและเข้าเป็นดักแด้ได้เร็วขึ้น ทั้งนี้ขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด หากใช้สารสกัดความเข้มข้น 0.01 หรือ 0.1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร หนอนใช้เวลาในการเข้าเป็นดักแด้ไม่แตกต่างกัน ($P < 0.05$) โดยใช้เวลาเฉลี่ย 46.54 ถึง 46.90 วัน จึงเข้าเป็นดักแด้ แต่หากใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร หนอนจะเข้าเป็นดักแด้ได้ภายใน 38.93 ± 0.73 วัน (Table 2) สำหรับกลุ่มควบคุมนั้นไม่มีการเข้าเป็นดักแด้ในระยะเวลาที่ทำการทดลอง แต่เมื่อเลี้ยงต่อไปอีก 90 วัน พบว่าหนอนเข้าเป็นดักแด้ได้ในช่วงเดียวกับที่พบดักแด้ที่เจริญอยู่ในระบบ

ไม่ไผ่ในป่าธรรมชาติ ดักแด้ที่เกิดขึ้นจากการชักนำโดยสารสกัด มีอายุไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือ มีอายุ 45 วัน จึงออกเป็นตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยที่เกิดขึ้นจากทุกความเข้มข้นของสารสกัดมีอายุสั้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดความเข้มข้น 0.01 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ตัวเต็มวัยมีอายุ 3.50 ± 0.22 วัน ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ตัวเต็มวัยมีอายุ 3.80 ± 0.25 วัน และความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ตัวเต็มวัยมีอายุ 4.10 ± 0.28 วัน ในขณะที่ตัวเต็มวัยในกลุ่มควบคุมมีอายุ 6.30 ± 0.21 วัน (Table 2) นอกจากตัวเต็มวัยมีอายุสั้นแล้วปีกของตัวเต็มวัยมีลักษณะผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยพบว่าร้อยละ 70 ของตัวเต็มวัยที่เกิด มีปีกสั้น ปลายปีกบิด ปีกพับ ไม่กางเต็มที่ (Figure 1f) การให้สารสกัดจากผลการกรองกับหนอนเยื่อไผ่แล้วทำให้ตัวเต็มวัยที่มีอายุสั้นอาจเป็นผลของสารที่ออกฤทธิ์เลียนแบบฮอร์โมนจูวีโนลหรือสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างฮอร์โมนจูวีโนลของแมลงดังมีรายงานในหนอนกระทุ้ง (*S. litura*) ว่าการให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์เข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรแก่ตัวเต็มวัยที่เพิ่งลอกคราบ (newly emerged adult) ทำให้ตัวเต็มวัยมีอายุสั้นลงครึ่งหนึ่งของตัวเต็มวัยจากกลุ่มควบคุม (Xu *et al.*, 2015) การที่สารสกัดจากผลการกรองไปมีผลทำให้ตัวเต็มวัยของหนอนเยื่อไผ่ไม่มีปีกที่เจริญได้แต่ปีกผิดปกติ อาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดจากผลการกรองมีสารบางชนิด เช่น กรดไขมันเล็กลงไป และวิตามินอี (Vitamin E) (Kayesth and Gupta, 2018) เป็นต้น ซึ่งมีรายงานว่าเมื่อตัวอ่อนมอดแป้งเมดิเตอร์เรเนียน (*Ephestia kuehniella* Zeller) กินอาหารที่มีส่วนผสมของกรดไขมันเล็กลงไป และวิตามินอีปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อ

Table 2. Effect of *Lantana camara* extract on the developmental period of *Omphisca fuscidentalis*

Treatment ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Life cycle (days)		
	Larval period	Pupal period	Adult period
Control	270 ^a	45 ^a	6.30 ± 0.21^a
0.01	46.54 ± 0.79^b	44.00 ± 1.27^a	3.50 ± 0.22^b
0.1	46.90 ± 0.77^b	43.64 ± 1.28^a	3.80 ± 0.25^b
1	38.93 ± 0.73^c	45.21 ± 1.51^a	4.10 ± 0.28^b

Means followed by the same letter in a column are not significantly different at $P < 0.05$. (One way ANOVA followed by Tukey's range test). The values are mean $\pm$ SE of 3 replicates. In each replicate 30 larvae were used.

อาหาร 1 กรัม ตัวเต็มวัยจะมีปีกที่ผิดปกติ (Fraenkel and Blewett, 1946) นอกจากนี้พบว่า การให้อาหารซึ่งมีส่วนผสมของกรดลิโนเลอิกปริมาณ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัมกับตัวอ่อนตักแตนในสกุล *Schistocerca* ทำให้ตัวเต็มวัยมีปีกผิดปกติร้อยละ 86 (Dadd, 1960) นอกจากนี้สารทั้ง 2 ชนิดมีผลกับลักษณะของปีกแล้ว ยังมีรายงานว่า การให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์สามารถยับยั้งการเจริญของปูมปีกได้โดยการให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์เข้มข้น 1 ไมโครกรัม กับตัวหนอนวัยสุดท้ายของผีเสื้อ buckeye (*Precis coenia* Hübner) จะทำให้ปูมปีกเล็กและยับยั้งการสร้างเส้นปีก แต่ขึ้นกับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ให้ เช่น ถ้าให้ความเข้มข้น 0.001 ไมโครกรัม หรือน้อยกว่าจะไม่มีผลกับการเจริญของปูมปีก (Miner *et al.*, 2000)

ผลของสารสกัดจากผกากรองต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะ

เนื่องจากการให้สารสกัดจากผกากรองความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไม่โครลิตรกับหนอนเยื่อไม้ทำให้หนอนเข้าเป็นดักแด้ได้เร็วที่สุดจึงนำสารสกัดจากผกากรองความเข้มข้นนี้ไปให้หนอนเยื่อไม้แล้วติดตามการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ทั้ง 2 เพศในตัวหนอนดักแด้และตัวเต็มวัย โดยพบว่าอวัยวะของตัวหนอนดักแด้ และตัวเต็มวัยมีลักษณะภายนอกไม่แตกต่างจาก

กลุ่มควบคุม (Figure 2) สามารถอธิบายลักษณะของอวัยวะที่พบได้ดังนี้ ตัวหนอนมีอวัยวะ 1 คู่ (Figure 2a, d) ติดอยู่ด้านหลังของปล้องท้อง (abdominal segment) ที่ 5 เมื่อตัวหนอนเจริญเป็นดักแด้พบว่าอวัยวะทั้ง 2 อันรวมกันเป็นก้อนกลม สีเหลือง 1 ก้อน (Figure 2b, e) ตำแหน่งของอวัยวะอยู่ที่ปล้องท้องที่ 5-6 ตัวอย่างแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะเหมือนหนอนเยื่อไม้ เช่น หนอนกออ้อย (*Diatraea saccharalis* Fabricius) (Bilha *et al.*, 2012) หนอนขนใบกาแฟ (*Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville) (Alves *et al.*, 2006) ผีเสื้อกินไขผึ้ง (*Galleria mellonella* Linnaeus) (Polanska, 2005) และ ผีเสื้อใบยาสูบ (*Manduca sexta* Linnaeus) (Reinecke *et al.*, 1983) เป็นต้น สำหรับอวัยวะของตัวเต็มวัยมีลักษณะกลมมากขึ้นและมีสีเหลืองเข้ม (Figure 2c, f) เมื่อวัดความกว้างและวัดความยาวของอวัยวะในระหว่างการเจริญของหนอนเยื่อไม้ที่ได้รับสารสกัดและกลุ่มควบคุมพบว่า อวัยวะมีความกว้างเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโตแต่มีความยาวลดลง (Figure 3) อวัยวะของหนอนในกลุ่มควบคุมมีความกว้างน้อยที่สุด แต่อวัยวะของดักแด้และตัวเต็มวัยมีความกว้างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สำหรับอวัยวะของกลุ่มที่ได้รับสารสกัด พบว่า อวัยวะของตัวหนอนมีความกว้างน้อยกว่าอวัยวะของดักแด้และตัวเต็มวัยอย่างมีนัยสำคัญ

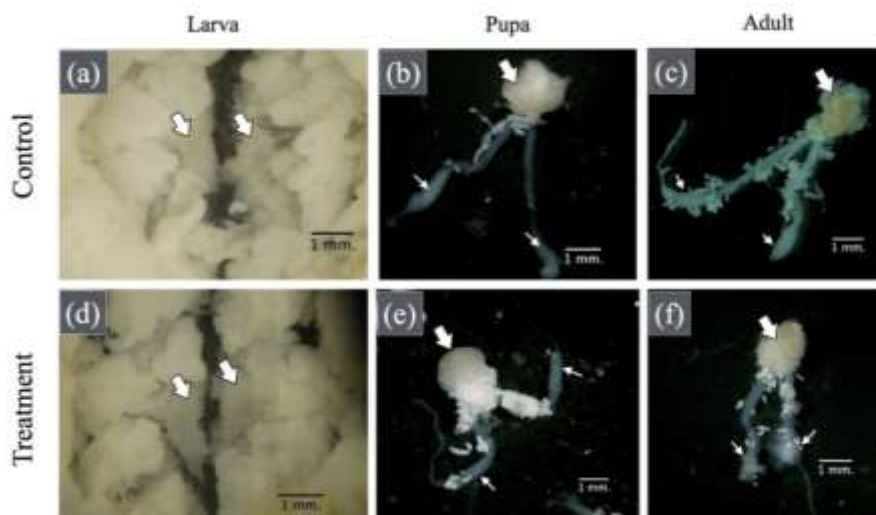


Figure 2. Morphological changes in the testis of *Omphisa fuscidentalis* at different stages of development in the control (a-c) and treatment (d-f) groups. Large and small arrows indicate the testes and seminal vesicles, respectively

แต่อวัยวะของตัวเต็มวัยมีความกว้างน้อยกว่าอวัยวะของดักแด้อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบความกว้างของอวัยวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพบว่าอวัยวะของตัวหนอนและดักแด้มีความกว้างไม่แตกต่างกัน แต่อวัยวะของตัวเต็มวัยมีความกว้างแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วนความยาวของอวัยวะไม่แตกต่างกัน การเจริญของอวัยวะที่สัมพันธ์กับระยะการเจริญนี้พบได้ในหนอนผีเสื้อกลางคืนหลายชนิด เช่น หนอนกออ้อย (*D. saccharalis*) (Bilha *et al.*, 2012) และผีเสื้อใบยาสูบ (*M. sexta*) (Reinecke *et al.*, 1983)

เมื่อนับจำนวนอสุจิของตัวเต็มวัยที่เกิดจากสารสกัดพบว่ามีความจำนวน 72.00 ± 6.82 ตัว ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) (Table 3) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผลการงอกมีผลต่อจำนวนอสุจิ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดจากผลการงอกไปยับยั้งการสร้างอสุจิ เนื่องจากสารสกัดจากผลการงอกมีสารที่ออกฤทธิ์เลียนแบบฮอร์โมนจูวีไนล์หรือสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างฮอร์โมนจูวีไนล์ของแมลง (Dwivedi and Garg, 2003; Kayesth *et al.*, 2017; Khyade *et al.*, 2012; More *et al.*, 2010) จึงให้ผลเหมือนการให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์โดยไปมีผลต่อกระบวนการสร้างอสุจิ (spermatogenesis) ซึ่งพบว่า

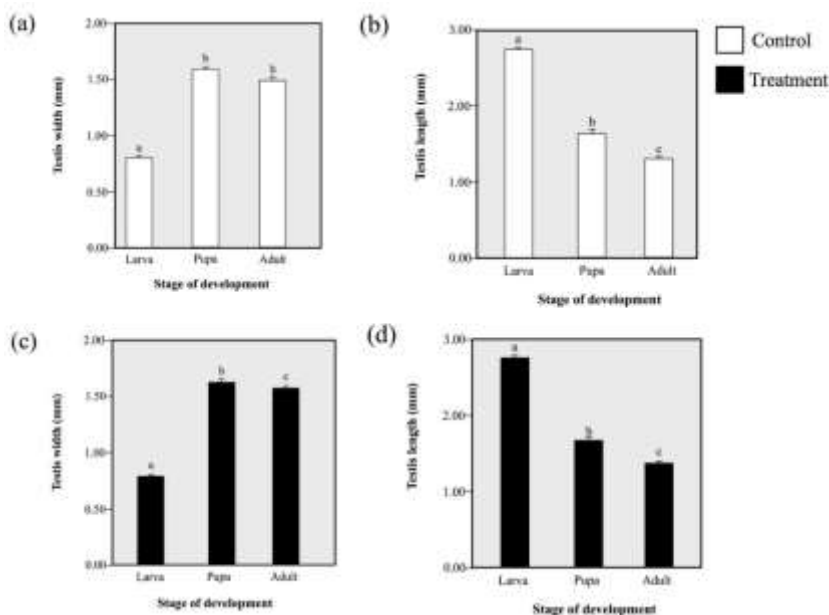


Figure 3. Effect of *Lantana camara* extracts on the size of testes at different stages of development. (a, b) Testes width and length in the control group. (c, d) Testes width and length in the extract-treated group. Width and length represent an average of 10 testes in each stage. Means with the same letter are not significantly different ($P<0.05$)

Table 3. Number of eggs and sperms in *Omphisca fuscidentalis* adults

	Male		Female		
	Number of sperm	Length	Number of mature eggs	Number of immature eggs	Protein accumulation (mg/ml)
Control	129.60 $\pm$ 8.12 ^a	1.26 $\pm$ 0.01 ^a	296.20 $\pm$ 4.28 ^a	164.80 $\pm$ 6.66 ^a	38.42 $\pm$ 0.97 ^a
Treatment	72.00 $\pm$ 6.82 ^b	1.25 $\pm$ 0.02 ^a	288.60 $\pm$ 2.54 ^a	137.60 $\pm$ 7.13 ^b	37.19 $\pm$ 0.60 ^a

Means followed by the same letter in a column are not significantly different at $P<0.05$. (One way ANOVA). The values are mean $\pm$ SE of 5 replicates. In each replicate 5 adults were used

การฉีดฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์เข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ให้หนอนไหมวัยที่ 5 จะทำให้อัณฑะมีเซลล์ สเปิร์มาทิด (spermatids) และเซลล์สเปิร์มาโทซัว (spermatozoa) ลดจำนวนลงร้อยละ 3 นอกจากนี้ยังทำให้อัณฑะมีเซลล์ไพรมารี สเปิร์มาโทไซต์ (primary spermatocyte) ลดลงร้อยละ 17 (Kajiura *et al.*, 1993) ซึ่งเซลล์ทั้ง 3 ชนิดนี้เป็นเซลล์ที่พบในกระบวนการสร้าง อสุจิ การที่อัณฑะได้รับฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์แล้วมี เซลล์เหล่านี้ลดลงส่งผลถึงจำนวนอสุจิที่จะถูกสร้าง ออกมาให้มีจำนวนน้อยตามด้วย อีกทั้งมีรายงานว่า การให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์เข้มข้น 1 นาโนกรัมต่อ 5 ไมโครลิตร กับหนอนไหม (*B. mori*) วัยสุดท้ายแล้ว ติดตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ภายในอัณฑะด้วย เทคนิคทางด้านเนื้อเยื่อวิทยา (histology) พบว่าการให้ ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ทำให้เซลล์สเปิร์มาโทโกเนีย (spermatogonium) ในอัณฑะหนอนมีจำนวนน้อยลง และเมื่อเข้าเป็นดักแด้พบว่าอัณฑะมีเซลล์สเปิร์มาโทโก เนีย (spermatogonia) เหลืออยู่มากซึ่งเซลล์นี้เป็นเซลล์ ระยะสุดท้ายก่อนที่จะเปลี่ยนตัวเป็นอสุจิที่เจริญเต็มที่ (mature sperm) แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนจูวีไนล์ สังเคราะห์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนเซลล์สเปิร์มาโทโกเนีย ให้เจริญต่อไปเป็นอสุจิได้ จำนวนอสุจิจึงมีน้อยตามไป ด้วย (izzetoğlu *et al.*, 2018)

ผลของสารสกัดจากผกากรองต่อการเปลี่ยนแปลง ของรังไข่

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของรังไข่พบว่า รังไข่ของตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่เกิดจากสารสกัด มีลักษณะภายนอกไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (Figure 4) โดยรังไข่ของตัวหนอน มีตำแหน่งอยู่ด้านหลังของปล้อง ท้องที่ 5 ประกอบด้วยหลอดผลิตไข่ (ovarioles) 4 หลอด รังไข่ของตัวหนอนจะถูกหุ้มไว้ด้วยไขมันและท่ออากาศ ฝอย (Figure 4a, d) เมื่อตัวหนอนเข้าเป็นดักแด้จะ สังเกตเห็นหลอดผลิตไข่ได้ชัดเจน มีลักษณะเป็นเส้นยาว และมีไข่เรียงตัวอยู่ภายในอย่างเป็นระเบียบ ไข่ที่พบเป็น ไข่เจริญไม่เต็มที่ (immature egg) โดยไข่มีรูปร่างกลมรี สีเหลืองอ่อน และมีขนาดแตกต่างกัน ไข่ที่อยู่ตอนต้นของ หลอดมีขนาดใหญ่กว่าไข่ที่อยู่ปลายหลอด (Figure 4b, e) ไข่ที่อยู่ใกล้กับท่อนำไข่ด้านข้าง (lateral oviduct) เป็นไข่ที่ เจริญมากกว่าเมื่อเทียบกับไข่ที่อยู่ปลายหลอด สำหรับตัว เต็มวัยมีรังไข่เป็นเส้นเหมือนกับในดักแด้แต่พบไข่ที่เจริญ ไม่เต็มที่เช่นเดียวกับที่พบในดักแด้ นอกจากนั้นยังพบไข่ เจริญเต็มที่ (mature eggs) โดยไข่มีลักษณะค่อนข้าง แบน สีเหลืองเข้ม เรียงซ้อนกันอยู่บริเวณส่วนต้นของ หลอดผลิตไข่และท่อนำไข่ด้านข้าง (Figure 4c, f) เมื่อนำ รังไข่ของตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่เกิดจากสารสกัด และกลุ่มควบคุมมาวัดขนาด พบว่า ตัวหนอนมีรังไข่ขนาด

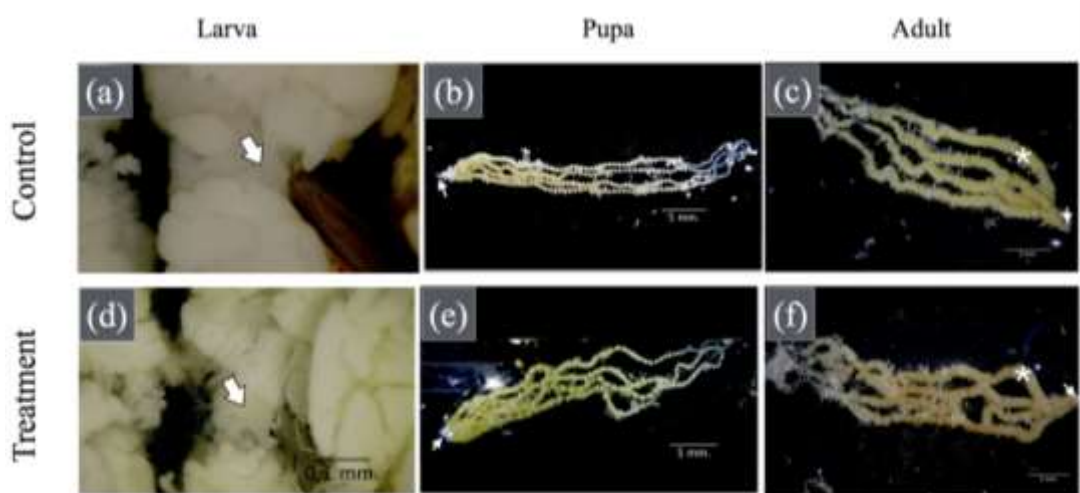


Figure 4. Morphological changes in the ovaries of *Omphisa fuscidentalis* at different stages of development in the control (a-c) and treatment (d-f) groups. Large arrows, asterisks, and small arrows indicate ovaries, ovarioles, and lateral oviducts, respectively

เล็กที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับรังไข่ของดักแด้หรือตัวเต็มวัย ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มการทดลอง (Figure 5) โดยรังไข่ของตัวหนอนและดักแด้ มีความกว้างและความยาวแตกต่างกันมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) แต่พบว่าตัวเต็มวัยมีรังไข่ขนาดสั้นกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Figure 5)

เมื่อนับจำนวนไข่เจริญเต็มที่และไข่เจริญไม่เต็มที่ในตัวเต็มวัย พบว่า ตัวเต็มวัยที่เกิดจากสารสกัดมีไข่เจริญเต็มที่ที่ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่กลับมีจำนวนไข่เจริญไม่เต็มที่น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (Table 3) โดยตัวเต็มวัยมีจำนวนไข่เจริญเต็มที่ 137.60 ± 7.13 ฟอง ในขณะที่ตัวเต็มวัยของกลุ่มควบคุมมีไข่เจริญเต็มที่ 164.80 ± 6.66 ฟอง อีกทั้งพบว่ารังไข่มีโปรตีนสะสมไม่แตกต่างกัน โดยตรวจวัดปริมาณโปรตีนในรังไข่ของกลุ่มควบคุมได้ 38.42 ± 0.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่พบโปรตีนในรังไข่จากกลุ่มทดลองมีค่า 37.19 ± 0.60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 3)

การให้สารสกัดจากผลการรอกกับหนอนเยื่อไผ่ทำให้ตัวเต็มวัยมีจำนวนไข่เจริญไม่เต็มที่เหลือน้อยลงเป็นไปได้ว่าสารสกัดจากผลการรอกทำให้การสร้างไข่เจริญเต็มที่

เกิดได้เร็ว ทั้งนี้อาจเป็นผลจากสารเลียนแบบฮอร์โมนจูวีไนลที่อยู่ในสารสกัดเนื่องจากว่าฮอร์โมนจูวีไนลเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนไวเทลโลจีนิน (vitellogenin) ซึ่งเป็นโปรตีนตั้งต้นสำหรับการนำไปสร้างโปรตีนไข่แดง (yolk) ในฮีโมลิมฟ์ (hemolymph) การให้ฮอร์โมนจูวีไนลสังเคราะห์เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรกับผีเสื้อหนอนเจาะผักรักช้าวโพด (*Helicoverpa zea* Boddie) โดยเมื่อผีเสื้อได้รับฮอร์โมนในวันแรกที่ออกจากคราบ พบว่ามีการแสดงออกของยีน apovitellenins (*ApoVg-I*) มากกว่าผีเสื้อที่ไม่ได้รับฮอร์โมน แต่ยีนนี้จะมีการแสดงออกสูงสุดเมื่อผีเสื้อได้รับฮอร์โมนไปแล้วนาน 2 วัน (Satyanarayana *et al.*, 1992) การมีปริมาณโปรตีนชนิดนี้ในฮีโมลิมฟ์สูงจึงทำให้สามารถนำโปรตีนชนิดนี้ไปใช้สร้างโปรตีนไข่แดงได้มากขึ้น การสร้างไข่จึงเป็นไปได้ตัวซีซีทอง (*Polygonia c-aureum* Linnaeus) ที่ออกจากดักแด้แล้ว 2 วัน พบว่าตัวเต็มวัยที่ได้รับฮอร์โมนเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร มีไข่ในรังไข่ตั้งแต่ 5 วันหลังได้รับฮอร์โมน และหลังจากได้รับฮอร์โมน 10 วัน ตัวเต็มวัยกว่าดังมีรายงานว่าการให้ฮอร์โมนจูวีไนลสังเคราะห์เข้มข้น 5 และ 50 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร กับผีเสื้อปีกแก้ว

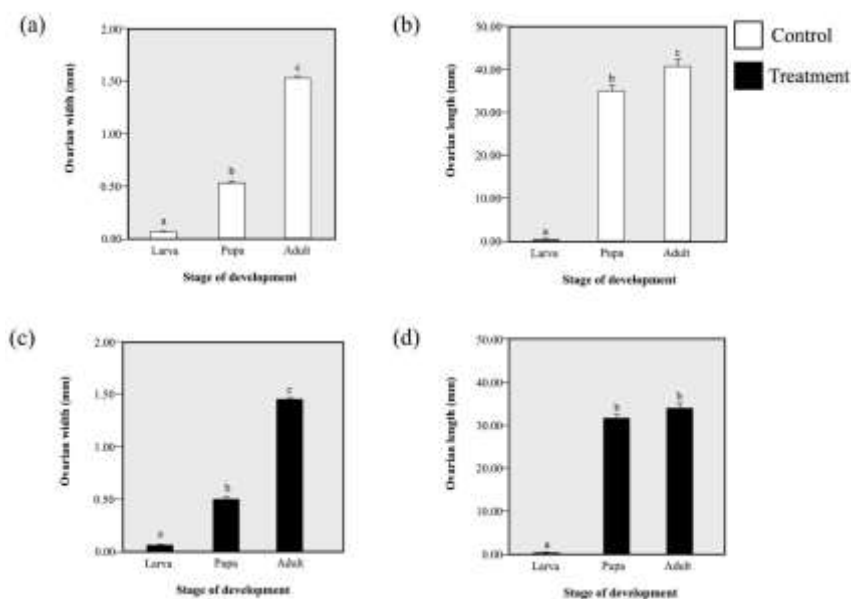


Figure 5. Effect of *Lantana camara* extract on the size of the ovary at different stages of development. (a, b) Ovarian width and length in the control group. (c, d) Ovarian width and length in the extract-treated group. Width and length represent an average of 10 ovaries in each stage. Means with the same letter are not significantly different ($P<0.05$)

วัยที่ได้รับฮอร์โมนทั้ง 2 ความเข้มข้น มีไขในรังไข่แต่กลุ่ม
ควบคุมยังไม่มีการสร้างไข่ (Hiroyoshi *et al.*, 2017) ใน
ขณะเดียวกันพบว่า การให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์กับ
หนอนกระทู้ (*S. litura*) ที่ออกจากดักด้พบว่าจะทำให้ตัว
เต็มวัยมีการสร้างไข่ลดลง (Xu *et al.*, 2015) ซึ่งเป็นผลที่
สอดคล้องกับหนอนเยื่อไม้ที่ได้รับสารสกัดจากผกากรองก็
ทำให้มีจำนวนไข่ลง นอกจากนี้การให้สารสกัดจาก
ผกากรองกับมวนแดงฝ้าย (*D. koenigii*) โดยการนำเมล็ด
ฝ้ายจุ่มในสารสกัดเข้มข้นร้อยละ 1.2 และ 2.5 แล้วนำไป
ให้มวนแดงฝ้ายวัยที่ 5 กินพบว่า ตัวเต็มวัยเพศเมียมี
จำนวนไข่ที่วางน้อยลง (Kayesth *et al.*, 2017) แต่อย่างไร
ก็ตามการให้สารสกัดไม่ได้ทำให้ตัวเต็มวัยหนอนเยื่อไม้มี
ปริมาณโปรตีนสะสมในรังไข่น้อยลงเหมือนกับการ
ให้ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์กับผีเสื้อกลางคืน
(*P. interpunctella*) พบว่าเมื่อตัวอ่อนกินอาหารที่ผสม
ฮอร์โมนจูวีโนลสังเคราะห์เข้มข้น 0.02, 0.04, 0.08, 0.16
และ 0.3 ส่วนในล้านส่วน ทำให้ตัวเต็มวัยมีปริมาณโปรตีน
สะสมในรังไข่น้อยลงโดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ
ฮอร์โมนที่ใช้ (Ghasemi *et al.*, 2010)

สรุป

การให้สารสกัดจากผกากรองกับหนอนเยื่อไม้ทำ
ให้หนอนเข้าเป็นดักด้ได้เร็วกว่าความเข้มข้นซึ่งไม่แตกต่าง
กัน โดยความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ทำให้
หนอนเข้าเป็นดักด้ได้เร็วที่สุด 38.93 ± 0.73 วัน ดักด้ใช้
เวลาในการเจริญไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมคือประมาณ
45 วันจึงออกเป็นตัวเต็มวัยซึ่งตัวเต็มวัยมีอายุขัยสั้นกว่า
กลุ่มควบคุม และบางส่วนมีปีกผิดปกติ การให้สารสกัด
จากผกากรองเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร กับหนอน
เยื่อไม้แล้วติดตามการเปลี่ยนแปลงของวัยระยะสืบพันธุ์
พบว่าอัตราและรังไข่ของหนอนและดักด้มีสัญญาณ
วิทยาและขนาดไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม เมื่อออกเป็น
ตัวเต็มวัยพบว่าเพศผู้มีอวัยวะใหญ่กว่ากลุ่มควบคุมแต่มี
จำนวนอสุจิน้อยกว่าโดยขนาดของอสุจิไม่แตกต่างกัน
สำหรับตัวเต็มวัยเพศเมียมีรังไข่สั้นกว่าในกลุ่มควบคุมแต่
ปริมาณไข่สมบูรณ์กับปริมาณโปรตีนสะสมในรังไข่ไม่
แตกต่างจากกลุ่มควบคุม กล่าวได้ว่าสารสกัดจาก

ผกากรองสามารถทำให้หนอนเยื่อไม้ออกเป็นตัวเต็มวัย
นอกฤดูการได้ แต่ตัวเต็มวัยบางส่วนมีปีกผิดปกติบิน
ไม่ได้และอวัยวะสืบพันธุ์ของตัวเต็มวัยไม่สมบูรณ์เท่ากลุ่ม
ควบคุม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาจารย์ ดร.เอกอาทิตย์ ฤทธิเดชชัย
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่
เฉลิมพระเกียรติ สำหรับข้อมูลเบื้องต้นในการทำวิจัยครั้งนี้
ขอบคุณห้องปฏิบัติการเคมีอินทรีย์ ภาควิชาเคมี
ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาสัตว์ และห้องปฏิบัติการต่อมไร้
ท่อวิทยาแมลง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับอุปกรณ์และสถานที่ในการ
ดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Alves, L., K. Mancini, J. Lino-Neto and H. Dolder.
2006. Morphology of the male reproductive
system and sperm ultrastructure of
Leucoptera coffeella (Lepidoptera:
Lyonetiidae). *Acta Zoologica* 87(2): 131-139.
- Bilha, J.K., R.M.C. Brancalhão and H. Conte. 2012.
Testes fusion of *Diatraea saccharalis* F.
(Lepidoptera; Crambidae) during post-
embryonic development. *Journal of the
Entomological Research Society* 14(3): 1-7.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for
the quantitation of microgram quantities of
protein utilizing the principle of protein-dye
binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Dadd, R.H. 1960. The nutritional requirements of
locusts – I. Development of synthetic diets
and lipid requirements. *Journal of Insect
Physiology* 4(4): 319-347.
- Deka, M.K. and K. Singh. 2005. Effect of aqueous
plant extracts of *Clerodendrum inerme* and

- Polygonum orientale* on growth and development of tea mosquito bug (*Helopeltis theivora* Waterhouse). Indian Journal of Entomology 67(2): 93-96.
- Dwivedi, S.C. and S. Garg. 2003. Toxicity evaluation of flower extract of *Lantana camara* on the life cycle of *Corcyra cephalonica*. Indian Journal of Entomology 65(3): 330-334.
- El-Sheikh, E.S.A., S.G. Kamita and B.D. Hammock. 2016. Effects of juvenile hormone (JH) analog insecticides on larval development and JH esterase activity in two spodopterans. Pesticide Biochemistry and Physiology 128: 30-36.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2013. Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Fraenkel, G. and M. Blewett. 1946. Linoleic acid, vitamin E and other fat-soluble substances in the nutrition of certain insects, *Ephestia kuehniella*, *E. elutella*, *E. cautella* and *Plodia interpunctella* (Lep.). Journal of Experimental Biology 22: 172-190.
- Ghasemi, A., J.J. Sendi and M. Ghadamyari. 2010. Physiological and biochemical effect of pyriproxyfen on Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Plant Protection Research 50(4): 416-422.
- Hiroyoshi, S., G.V.P. Reddy and J. Mitsuhashi. 2017. Effects of juvenile hormone analogue (methoprene) and 20-hydroxyecdysone on reproduction in *Polygonia c-aureum* (Lepidoptera: Nymphalidae) in relation to adult diapause. Journal of Comparative Physiology A 203: 635-647.
- Izzetoğlu, T.G., A. Pak, T. Zülfikaroğlu and T.K. Öztürk. 2018. The effects of juvenile hormone analogue, fenoxycarb on the last instar testes of *Bombyx mori*. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry 46(2): 297-305.
- Kajiura, Z., M. Nakagaki and R. Takei. 1993. Spermiogenesis of the testes of juvenile hormone-treated silkworm larvae, *Bombyx mori*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 106(3): 495-499.
- Kantaratanakul, S. 1992. Insect Physiology. Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Kayesth, S. and K.K. Gupta. 2018. Impact of *Lantana camara* hexane extract on survival, growth and development of *Dysdercus koenigii* Fabricius (Heteroptera: Pyrrhocoridae). Acta Ecologica Sinica 38(3): 187-192.
- Kayesth, S., M. Shazad, S. Kumar and K.K. Gupta. 2017. Effect of ethanol extract of *Catharanthus roseus*, *Ocimum sanctum* and *Lantana camara* on fecundity and fertility of red cotton bug, *Dysdercus koenigii* Fabricius (Heteroptera: Pyrrhocoridae). Journal of Entomology and Zoology Studies 5(4): 348-353.
- Khyade, V.B., K.K. Shukla and J.P. Sarawade. 2012. Juvenoid activity of some non mulberry plant extractives through inhibition of chitin deposition in the integument of fifth instar larvae of silkworm, *Bombyx mori* (L) (Race: PM x CSR2). Research Journal of Recent Sciences 1: 1-6.
- Kumar, M.S. and S. Maneemegalai. 2008. Evaluation of larvicidal effect of *Lantana camara* Linn.

- against mosquito species *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Advances in Biological Research* 2(3-4): 39-43.
- Miner, A.L., A.J. Rosenberg and H.F. Nijhout. 2000. Control of growth and differentiation of the wing imaginal disk of *Precis coenia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Journal of Insect Physiology* 46(3): 251-258.
- Mondal, P. and S. Chakraborty. 2017. Effects of dietary linoleic and linolenic acids on development and adult formation of *Cretonotus gangis* L. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(6): 2492-2499.
- Morya, K., S. Pillai and P. Patel. 2010. Effect of powdered leaves of *Lantana camara*, *Clerodendrum inerme* and *Citrus limon* on the rice moth, *Corcyra cephalonica*. *Bulletin of Insectology* 63(2): 183-189.
- Ngunboonsri, P., V. Suphiphat, P. Puwastien, B. Feungpean and P. Sungpuag. 1989. Nutritive value of pupae in bamboo. *Journal of Nutrition Association of Thailand* 23(4): 185-189. (in Thai)
- Polanska, M.A., M.A. Ciuk, B. Cymborowski and P. Bebas. 2005. Germ cell death in the testis and its relation to spermatogenesis in the wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), effects of facultative diapause. *Journal of Experimental Zoology Part A* 303(11): 1013-1029.
- Reinecke, L.H., J.P. Reinecke and T.S. Adams. 1983. Morphology of the male reproductive tract of mature larval, pupal and adult tobacco hornworms (Lepidoptera: Sphingidae), *Manduca sexta*. *Annals of the Entomological Society of America* 76(3): 365-375.
- Satyanarayana, K., G. Bhaskaran, K.H. Dahm and R. Meol. 1992. Regulation of vitellogenin synthesis by juvenile hormone in the corn earworm, *Helicoverpa zea*. *Invertebrate Reproduction and Development* 21(3): 169-178.
- Singtripop, T., S. Wanichacheewa and S. Sakurai. 2000. Juvenile hormone-mediated termination of larva diapause in the bamboo borer, *Omphisa fuscidentalis*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30: 847-854.
- Singtripop, T., S. Wanichacheewa, S. Tsuzuki and S. Sakurai. 1999. Larval growth and diapause in a tropical moth, *Omphisa fuscidentalis* Hampson. *Zoological Science* 16(5): 725-733.
- Singtripop, T., M. Manaboon, N. Tatun, Y. Kaneko and S. Sakurai. 2008. Hormonal mechanisms underlying termination of larval diapause by juvenile hormone in the bamboo borer, *Omphisa fuscidentalis*. *Journal of Insect Physiology* 54(1): 137-145.
- Sousa, J.M.F., A.M. Municio and A. Ribera. 1971. Biochemistry of the development of the insect *Ceratitis capitata*. Changes of the positional distribution of fatty acids in diacylglycerolamine phosphoglycerides. *Biochim Biophysica Acta* 231(3): 527-534.
- Staal, G.B. 1975. Insect growth regulators with juvenile hormone activity. *Annual Review of Entomology* 20: 417-460.
- Xu, Q., B. Tang, Q. Zou, H. Zheng, X. Liu and S. Wang. 2015. Effects of pyriproxyfen on female reproduction in the common cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). *PLoS One* 10(10): e0138171, doi: 10.1371/journal.pone.0138171.

ศักยภาพในการควบคุมหนอนใยผักของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่คัดแยกจากดิน ในจังหวัดอุตรดิตถ์

Potential of Entomopathogenic Fungi Isolated from Soils in Uttaradit Province for Controlling Diamondback Moth Larva

มนัสนิตย์ บุญตุด¹ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ^{2*} ไสว บุรณพานิชพันธุ์¹ และ จิราพร กุลสาริน¹

Manasanid Boontud¹, Weerathep Pongprasert^{2*}, Sawai Buranapanichpan¹ and Jiraporn Kulsarin¹

¹ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ. พิษณุโลก 65000

²Department of Agriculture Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

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

(Received: 11 June 2019; Accepted: 10 July 2019)

Abstract: Diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), is a serious pest of cruciferae worldwide. Therefore, this study aims to find and screen the effectively entomopathogenic fungi to control diamondback moth from forest soil in Uttaradit province. The total of 36 soil samples from five districts was collected and brought back to the laboratory. *Metarhizium anisopliae* at the amount of 28 isolates was identified and coded the numbers and their sources. The efficacy of those was determined by dipping the 3rd instar larva of diamondback moth in each spore suspension of fungal isolate at the concentration of 10⁸ conidia/ml. The experiment was based on a completely randomized design (CRD) with 3 replications. The result showed that four isolates of *M. anisopliae*; U-NM02, U-LM01, U-PM01 and U-NM05; were high efficacy to control diamondback moth larva with 100% mortality in 4 days after dipping and LT₅₀ were 1.80, 2.08, 2.12 and 2.23 days, respectively.

Keywords: *Metarhizium anisopliae*, diamondback moth, control

บทคัดย่อ: หนอนใยผัก *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญและสร้างความเสียหายให้แก่พืชผักในวงศ์กะหล่ำทั่วโลก ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาและคัดเลือกเชื้อราสาเหตุก่อโรคในแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักจากดินป่าในจังหวัดอุดรดิตถ์ ซึ่งได้ทำการเก็บตัวอย่างดินจำนวน 36 ตัวอย่างจาก 5 อำเภอ พบเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* จำนวน 28 ไอโซเลท ทำการแยกลักษณะ และใส่รหัสในแต่ละไอโซเลททดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละไอโซเลท โดยจุ่มหนอนใยผักวัยที่ 3 ลงในสารแขวนลอยสปอร์เชื้อราที่มีความเข้มข้น 10^8 โค尼เตียต่อมิลลิตร แผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ผลการศึกษาพบว่าเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 4 ไอโซเลท คือ U-NM02, U-LM01, U-PM01 และ U-NM05 ทำให้หนอนใยผักตายร้อยละ 100 ในวันที่ 4 หลังการจุ่มโดยมีค่า LT_{50} เท่ากับ 1.80, 2.08, 2.12 และ 2.23 วัน ตามลำดับ

คำสำคัญ: *Metarhizium anisopliae* หนอนใยผัก ควบคุม

คำนำ

หนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) เป็นแมลงที่สำคัญของพืชวงศ์กะหล่ำทั่วโลก การเพิ่มขึ้นของพื้นที่การปลูกผัก ทำให้แมลงมีภาระบาดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และรุนแรงมาก ก่อให้เกิดความเสียหายทั้งด้านปริมาณ และคุณภาพของผักเพื่อการบริโภคและส่งออก การควบคุมนิยมใช้สารฆ่าแมลงเป็นหลัก แต่การใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องเป็นประจำมีผลทำให้แมลงเกิดการต้านทานต่อสารฆ่าแมลงและสามารถถ่ายทอดความต้านทานนี้ผ่านทางพันธุกรรมสู่ลูกหลานได้ (Chawanapong *et al.*, 2002; Furlong *et al.*, 2013; Rowell *et al.*, 2005; Shen *et al.*, 2017; Sripontan, 2016) ในประเทศไทยได้มีการศึกษาผลของสารฆ่าแมลงบางชนิดกับหนอนใยผักในพื้นที่จังหวัดตาก พิษณุโลก เพชรบูรณ์ อุดรดิตถ์ และนครสวรรค์ โดยมีจังหวัดเชียงใหม่ และนนทบุรีเป็นแหล่งเปรียบเทียบ พบว่า สารฆ่าแมลงมีผลต่อหนอนใยผักแตกต่างกันไปตามแหล่งพื้นที่อาศัย (Thongcharoen *et al.*, 2009) นอกจากนี้ Shelton *et al.* (1993) ได้รายงานว่าการควบคุมหนอนใยผักบางกลุ่มมีความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* เป็นผลให้ประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณหนอนใยผักต่ำลง

ในปัจจุบันมีการส่งเสริมการลดการใช้สารเคมีฆ่าแมลงอย่างกว้างขวางและแนะนำการใช้จุลินทรีย์ทางการเกษตรทดแทนอย่างต่อเนื่อง เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เป็นหนึ่งในเชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการควบคุมแมลงหลายชนิด Nguyen and Vo (2007) และ Dong *et al.* (2016) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* ในการเข้าทำลายหนอนใยผักพบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถเข้าทำลายหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้เชื้อราชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไป และมีรายงานการค้นพบไอโซเลทใหม่ ๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง Lacey *et al.* (2015) ได้รายงานการค้นพบเชื้อราในหลายพื้นที่ เช่น การพบเชื้อราสกุล *Metarhizium* หลายชนิดในแอฟริกาใต้ ออสเตรเลีย และสหรัฐอเมริกา ซึ่งการค้นพบเชื้อราชนิดใหม่ ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงสามารถทำได้โดยคัดแยกเชื้อราจากดิน เช่นดินป่าที่มีความชื้นเหมาะสม ทั้งนี้เขตพื้นที่จังหวัดอุดรดิตถ์นั้นมีภูมิประเทศและป่าที่มีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างมาก (Department of Mineral Resources, 2008) สอดคล้องกับการดำรงชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งเชื้อราก่อโรคกับแมลง อย่างไรก็ตาม การสำรวจค้นหาเชื้อราก่อโรคกับแมลงในพื้นที่ดังกล่าวมีน้อย ดังนั้นจึงทำการสำรวจคัดแยก และคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพจากดินป่าในพื้นที่จังหวัดอุดรดิตถ์เพื่อใช้ในการควบคุมหนอนใยผักและเป็นทางเลือกในการควบคุมหนอนใยผักให้แก่เกษตรกรต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนใยผัก

เก็บรวบรวมหนอนใยผักจากแปลงปลูกคะน้าในตำบลบึงพระ อำเภอเมืองพิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก คัดเลือกหนอนที่มีความแข็งแรง ไม่มีร่องรอยการเบียนหรือรอยแผล สีสับบนลำตัวไม่คล้ำ หรือใสจนผิดปกติ เลี้ยงเพิ่มปริมาณในกล่องพลาสติกขนาด 15x25x10 เซนติเมตร ให้อาหารด้วยใบคะน้าอายุ 5-7 สัปดาห์ และเปลี่ยนอาหารทุกวัน เมื่อหนอนใยผักเข้าดักแด่ แยกเลี้ยงจนออกเป็นฝัสดู นำสำลีสับน้ำผึ่งชุ่มชื้นร้อยละ 10 เป็นอาหารเลี้ยงตัวเต็มวัย ทำการเลี้ยง 3-5 รุ่นให้ได้หนอนวัย 3 เพียงพอต่อการทดสอบ (Sumaetha and Chanbang, 2014)

การเก็บรวบรวมตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดอุดรดิตถ์

การเก็บรวบรวมตัวอย่างดินภายในพื้นที่ของจังหวัดอุดรดิตถ์ ทั้งหมด 5 อำเภอ คือ อำเภอท่าปลา (ตำบลผาเลือด) อำเภอน้ำปาด (ตำบลน้ำไคร้ และตำบลเด่นชัยเหล็ก) อำเภอพิชัย (ตำบลท่ามะเฟือง และตำบลนายาง) อำเภอปากท่อ (ตำบลสองห้อง และตำบลบ้านเสี้ยว) และอำเภอลับแล (ตำบลชัยภูมิ และตำบลแม่พูล) โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดิน จุดละ 200 กรัม โดยเก็บบริเวณผิวหน้าดินในถุงพลาสติกพร้อมทั้งระบุวัน เวลา และสถานที่ (Razkhanty and Klangsinsirikul, 2017)

การแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์และการจำแนกชนิดเชื้อรา

สุ่มตัวอย่างดินตัวอย่างบริเวณละ 10 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ที่เติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร เขย่าให้ดินกระจายตัวโดยใช้เครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 25-30 นาที เมื่อดินกระจายตัวดี วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาทีเพื่อให้ดินตกตะกอน ใช้ไมโครปิเปตดูดสารแขวนลอยของดิน 1 มิลลิลิตร และใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที โดยในขั้นตอนนี้สารแขวนลอยมีระดับค่าความเจือจางอยู่ที่ 10^{-1} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร (Kunasakdakul, 2013) เจือจางสารแขวนลอยให้อยู่ที่ 10^{-4} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร และดูดสารแขวนลอยขึ้นมา 0.1

มิลลิลิตร spread บนอาหารเลี้ยงเชื้อ sabouraud dextrose agar (SDA) ที่ผสมสารปฏิชีวนะ chloramphenicol 0.5 กรัม thiabendazole 0.001 กรัม และ cycloheximide 0.25 กรัม ต่อลิตร ทำ 3 ซ้ำ ต่อ 1 พื้นที่ (Fernandes *et al.*, 2010; Razkhanty and Klangsinsirikul, 2017) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน ตรวจสอบโคโลนีของเชื้อราที่ขึ้นบนอาหาร คัดแยกเชื้อรา *M. anisopliae* โดยตัดปลายเส้นใยของเชื้อราที่ขึ้นบนอาหาร และย้ายเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA เพื่อเพิ่มปริมาณและทำ slide culture ยืนยันการจำแนกต่อไปตามวิธีการของ Kunasakdakul (2013) และ Humber (2005)

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการควบคุมหนอนใยผัก

เตรียมเชื้อราที่ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ผสมกับ Tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) 3 ซ้ำ หน่วยทดลองคือ หนอนใยผักวัยที่ 3 จำนวน 10 ตัวต่อหน่วย ทดสอบโดยทำการจุ่มหนอนในสารแขวนลอยของเชื้อราแต่ละไอโซเลต เป็นเวลา 10 วินาที และเลี้ยงด้วยใบคะน้าสดภายในกล่องขนาด 10x10 เซนติเมตร ชุดควบคุมคือน้ำกลั่นผสม Tween 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้ความชื้นร้อยละ 75 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Ismail *et al.*, 2017; Ozturk *et al.*, 2015; Razkhanty and Klangsinsirikul, 2017; Sribunme *et al.*, 2018) บันทึกผลจำนวนหนอนใยผักที่ตาย และมีเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุมทุกวัน ตั้งแต่วันที่ 1-15

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลอัตราการตายของหนอนใยผักด้วย analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราแต่ละไอโซเลตโดยการคำนวณ probit analysis จากระยะเวลาสั้นที่สุดที่เชื้อราทำให้หนอนใยผักตายร้อยละ 50 (LT_{50})

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเก็บรวบรวมตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดอุตรดิตถ์

ผลการเก็บตัวอย่างดินในเขตพื้นที่จังหวัดอุตรดิตถ์เพื่อนำมาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรคแมลงนั้นพบว่า สามารถเก็บตัวอย่างดินได้ทั้งหมด 36 ตัวอย่าง

การแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์และการจำแนกชนิดเชื้อรา

การแยกเชื้อราจากตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน 36 ตัวอย่าง พบว่า สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 34 ไอโซเลท ตรวจสอบลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยา พบเชื้อราที่มีโคโลนีสีเขียว จำนวน 28 ไอโซเลท หลังจากแยกเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA เป็นเวลา 1 วัน พบ โคโลนีสีขาวแนบไปกับผิวหน้าอาหาร เมื่อผ่านไป 7 วัน พบสีเขียวอ่อน-เหลืองขึ้นกลางโคโลนี และเกิดโคนิเดีย ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดย slide culture พบว่าโคนิเดียมีลักษณะเป็นแคปซูล ความยาวประมาณ 6-7 ไมโครเมตร ที่กำลังขยาย 40 เท่า เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้กับ Humber (2005) พบว่าเชื้อราที่แยกได้มีลักษณะตรงกับเชื้อรา *M. anisopliae* เชื้อราดังกล่าวแยกได้จากเขตพื้นที่อำเภอพิชัย 9 ไอโซเลท รหัสไอโซเลท คือ U-PM01 - U-PM09 อำเภอป่าปอ 15 ไอโซเลท รหัสไอโซเลท คือ U-NM01 — U-NM15 อำเภอท่าปลา 3 ไอโซเลท รหัสไอโซเลท คือ U-TM01 - U-TM03 และ อำเภอลับแล 1 ไอโซเลท รหัสไอโซเลท คือ U-LM01 (Table 1)

ผลการทดสอบการคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* จำนวน 28 ไอโซเลทในการควบคุมหนอนใยผักโดยวิธีจุ่ม

หลังจากหนอนใยผักวัยที่ 3 สัมผัสกับเชื้อราเป็นระยะเวลา 3-4 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมทดสอบโดยการใช้ น้ำกลั่นผสม Tween 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 พบว่า ตัวหนอนที่สัมผัสเชื้อราเคลื่อนไหวและกินอาหารน้อยลง ลำตัวเปลี่ยนเป็นสีเหลือง หรือ ชีดจาง

ในขณะที่ชุดควบคุม พบว่า ตัวหนอนเคลื่อนไหวและกินอาหารปกติ สามารถพัฒนาตัวเองไปเป็นตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์ได้ หนอนที่ตายจากการเข้าทำลายของเชื้อรา เมื่อเก็บรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่ง พบว่า ลำตัวของหนอนแห้งและหดตัวสั้นลง สามารถสังเกตพบเส้นขนบนลำตัวหนอนได้อย่างชัดเจน และบางซากพบโคนิเดียของเชื้อราขึ้นปกคลุมทั่วทั้งลำตัว เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท U-NM02, U-LM01, U-PM01 และ U-NM05 เป็นไอโซเลทของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการควบคุมหนอนใยผัก มีอัตราการตายของหนอนใยผักร้อยละ 100 ในเวลาที่รวดเร็วที่สุด และมีค่า LT_{50} สั้นที่สุด คือ 1.80, 2.08, 2.12 และ 2.23 วัน ตามลำดับ (Table 2) ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Duarte *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาศักยภาพของเชื้อรา *Metarhizium rileyi* ในการเข้าทำลายหนอนใยผัก ในการทดลองให้หนอนใยผักวัยที่ 2 จุ่มสารแขวนลอยสปอร์ 10 มิลลิกรัม เป็นเวลา 1 นาที และพักให้แห้ง ทำการจดบันทึกการตายของหนอนใยผักทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน พบว่า เชื้อรา *M. rileyi* ไอโซเลท LCMAP101 มีร้อยละการตาย 49.52-54.88 และมีค่า LT_{50} อยู่ที่ 52.22 ชั่วโมง หรือประมาณ 2.18 วัน และสอดคล้องกับการศึกษาของ Chui-chai *et al.* (2012) ได้นำเชื้อรา *Metarhizium* sp. มาทดสอบการก่อโรคในหนอนใยผัก โดยใช้หนอนใยผักวัยที่ 2 มาพ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ 10^8 โคนิเดียต่อมิลลิกรัม พบว่า เชื้อรา *Metarhizium* sp. ไอโซเลท M.6079 มีค่า LT_{50} 71.00 ± 1.57 ชั่วโมง หรือประมาณ 1.99 วัน และ เชื้อรา *M. anisopliae* ไอโซเลท BCC1701 มีค่า LT_{50} 52.05 ± 4.02 ชั่วโมง หรือประมาณ 2.17 วัน และคล้ายคลึงกับการทดลองของ Silva *et al.* (2003) ซึ่งได้นำหนอนใยผักวัยที่ 2 พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ *M. anisopliae* ไอโซเลท IPA-207 ที่ความเข้มข้น 10^8 โคนิเดียต่อมิลลิกรัม ตรวจสอบอัตราการตายทุกวัน พบว่า ไอโซเลท IPA-207 ทำให้หนอนมีอัตราการตายร้อยละ 96.0 ± 0.57 ค่า LT_{50} 1.4 วัน (Table 2)

Table 1. Locations, number of isolates and isolate codes of *Metarhizium anisopliae* found from forest soil collected from Uttaradit province

Location	Geographic coordinate		Number of isolates	Isolate code
	N	E		
Fak Tha district	17°52'03.70"	100°47'20.90"	-	-
Song Hong subdistrict	17°52'03.50"	100°47'20.30"	-	-
	17°52'03.00"	100°47'28.20"	-	-
	17°55'26.78"	100°48'58.55"	-	-
Ban Siao subdistrict	17°55'27.53"	100°48'58.06"	-	-
	17°55'28.75"	100°48'56.90"	-	-
Laplae district	17°37'43.10"	100°02'17.64"	-	-
Chai Chumphon subdistrict	17°36'44.45"	100°02'28.19"	-	-
	17°36'17.64"	100°02'40.89"	-	-
Mae Phun subdistrict	17°43'47.65"	99°58'37.98"	-	-
	17°43'47.27"	99°58'38.45"	-	-
	17°58'45.72"	99°58'39.81"	1	U-LM01
Nam Pat district	17°36'12.92"	100°31'16.76"	3	U-NM01 - 03
Nam Khrai subdistrict	17°36'12.99"	100°31'16.28"	-	-
	17°36'12.56"	100°31'16.22"	2	U-NM04 - 05
	17°37'31.08"	100°32'26.84"	-	-
	17°37'31.41"	100°32'26.48"	1	U-NM06
	17°37'30.94"	100°32'26.68"	3	U-NM07 - 09
Den Lek subdistrict	17°49'08.00"	100°45'47.60"	1	U-NM10
	17°49'00.80"	100°45'47.16"	3	U-NM11 - 13
	17°49'07.60"	100°45'47.90"	2	U-NM14 - 15
Phichai district	17°14'25.25"	100°01'16.30"	-	-
Tha Mafueang subdistrict	17°14'26.84"	100.01'12.55"	-	-
	17°14'26.53"	100°01'13.34"	1	U-PM01
	17°12'55.79"	100°2'48.80"	5	U-PM02 - 06
	17°12'54.42"	100°2'51.36"	2	U-PM07 - 08
	17°12'48.81"	100°2'51.46"	1	U-PM09
Na Yang subdistrict	17°16'02.30"	100°11.56.29"	-	-
	17°16'02.28"	100°11'57.16"	-	-
	17°16'01.85"	100°11'57.78"	-	-
Tha Pla district	17°44'18.50"	100°26'31.32"	-	-
Pha Lueat subdistrict	17°44'18.22"	100.26'31.43"	1	U-TM01
	17°44'17.90"	100°26'30.57"	-	-
	17°43'16.51"	100°22'40.65"	-	-
	17°43'17.01"	100°22'38.16"	2	U-TM02 - 03
	17°43'16.92"	100°22'38.57"	-	-

Remarks: F = Fak Tha, L = Laplae, M = *M. anisopliae*, N = Nam Pat, P = Phichai, T = Tha Pla, U = Uttaradit

Table 2. Average of mortality percentage and LT₅₀ of 3rd instar larva of diamondback moth after contacting 28 isolates of *Metarhizium anisopliae* at concentration of 10⁸ conidia/ml

Isolate	Mortality percentage of 3 rd instar larva ¹						LT ₅₀ within 4 days
	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	
U-LM01	16.67 ^{ab}	36.67 ^{ab}	70 ^{ab}	100 ^a	100 ^a	100 ^a	2.08
U-NM01	13.33 ^{abc}	26.67 ^{bc}	53.33 ^{bc}	73.33 ^{bc}	80 ^c	100 ^a	2.63
U-NM02	20 ^a	46.67 ^a	80 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	1.80
U-NM03	6.67 ^{bc}	13.33 ^c	36.67 ^c	56.67 ^c	80 ^c	100 ^a	3.45
U-NM04	6.67 ^{bc}	23.33 ^{bc}	36.67 ^c	56.67 ^c	80 ^c	100 ^a	3.12
U-NM05	10 ^{abc}	36.67 ^{ab}	80 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	2.23
U-NM06	3.33 ^c	13.33 ^c	40 ^c	66.67 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.70
U-NM07	6.67 ^{bc}	26.67 ^{bc}	40 ^c	66.67 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.99
U-NM08	16.67 ^{ab}	26.67 ^{bc}	53.33 ^{bc}	76.67 ^b	90 ^{abc}	100 ^a	2.58
U-NM09	13.33 ^{abc}	23.33 ^{bc}	43.33 ^c	66.67 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.74
U-NM10	10 ^{abc}	23.33 ^{bc}	46.67 ^c	73.33 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.40
U-NM11	13.33 ^{abc}	23.33 ^{bc}	43.33 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.62
U-NM12	13.33 ^{abc}	23.33 ^{bc}	46.67 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.49
U-NM13	13.33 ^{abc}	23.33 ^{bc}	53.33 ^{bc}	70 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.57
U-NM14	13.33 ^{abc}	26.67 ^{bc}	50 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.43
U-NM15	3.33 ^c	16.67 ^c	43.33 ^c	70 ^{bc}	86.67 ^{bc}	100 ^a	2.47
U-PM01	16.67 ^{ab}	36.67 ^{ab}	73.33 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	2.12
U-PM02	3.33 ^c	13.33 ^c	36.67 ^c	63.33 ^{bc}	90 ^{abc}	100 ^a	2.64
U-PM03	6.67 ^{bc}	20 ^{bc}	46.67 ^c	70 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.61
U-PM04	6.67 ^{bc}	26.67 ^{bc}	46.67 ^c	73.33 ^{bc}	93.33 ^{ab}	100 ^a	2.48
U-PM05	3.33 ^c	36.67 ^{ab}	40 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.42
U-PM06	10 ^{abc}	26.67 ^{bc}	53.33 ^{bc}	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.48
U-PM07	6.67 ^{bc}	26.67 ^{bc}	43.33 ^c	70 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.65
U-PM08	6.67 ^{bc}	16.67 ^c	40 ^c	63.33 ^{bc}	80 ^c	100 ^a	2.48
U-PM09	6.67 ^{bc}	30 ^{bc}	46.67 ^c	66.67 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.59
U-TM01	6.67 ^{bc}	23.33 ^{bc}	40 ^c	60 ^{bc}	80 ^c	100 ^a	3.08
U-TM02	16.67 ^{ab}	20 ^{bc}	43.33 ^c	63.33 ^{bc}	83.33 ^{bc}	100 ^a	2.66
U-TM03	13.33 ^{abc}	26.67 ^{bc}	53.33 ^{bc}	73.33 ^{bc}	90 ^{abc}	100 ^a	2.44

¹ Means within the same column followed by different letters showed significant difference between treatments by DMRT ($P \leq 0.05$)

สรุป

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากดินแหล่งต่าง ๆ ในจังหวัดอุดรธานี พบว่าสามารถแยกเชื้อรา *M. anisopliae* ได้ 28 ไอโซเลท จากดินทั้งหมด 36 ตัวอย่าง ใน 5 อำเภอ นำเชื้อราทั้งหมดมาทำการทดสอบกับหนอนใยผักวัยที่ 3 โดยวิธีจุ่ม ที่ความเข้มข้น 10^5 โคเนเดียต่อมิลลิเมตร พบว่า เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักได้ดีที่สุด คือ ไอโซเลท U-NM02, U-LM01, U-PM01 และ U-NM05 ซึ่งพบการตายของหนอนใยผักร้อยละ 100 ในวันที่ 4 และมีค่า LT_{50} เท่ากับ 1.80, 2.08, 2.12 และ 2.23 วัน ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

- Chawanapong, M., W. Plodkornburee, D. Wechakit, J. Ekamnuay, O. Wisessang, S. Kongsangdao, J. Poomongkutchai and S. Khamiam. 2002. Trial for integrated pests control on Chinese kale. *Entomology and Zoology Gazette* 24(2): 85-99. (in Thai)
- Chui-chai, N., P. Krutmuang, S. Nalumpang, S. Mekchay, C. Khanongnuch and Y. Chanbang. 2012. Insecticidal activity and cuticle degrading enzymes of entomopathogenic fungi against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *CMU Journal of Natural Sciences* 11(1): 147-155.
- Department of Mineral Resources. 2008. Area Classification for Mineral Resource Management. Advance Vision Service Ltd., Bangkok. 97 p. (in Thai)
- Dong, T., B. Zhang, Q. Weng and Q. Hu. 2016. The production relationship of destruxins and blastopores of *Metarhizium anisopliae* with virulence against *Plutella xylostella*. *Journal of Integrative Agriculture* 15(6): 1313-1320.
- Duarte, R.T., K.C. Goncalves, D.J.L. Espinosa, L.F. Moreira, S.A. De Bortoli, R.A. Humber and R.A. Polanczyk. 2016. Potential of entomopathogenic fungi as biological control agents of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and compatibility with chemical insecticides. *Journal of Economic Entomology* 109(2): 594-601.
- Fernandes, E.K.K., C.A. Keyser, D.E.N. Rangel, R.N. Foster and D.W. Roberts. 2010. CTC medium: A novel dodine-free selective medium for isolating entomopathogenic fungi, especially *Metarhizium acridum*, from soil. *Biological Control* 54: 197-205.
- Furlong, M.J, D.J. Wright and L.M. Dosdall. 2013. Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annual Review of Entomology* 58: 517-541.
- Humber, R.A. 2005. Entomopathogenic fungal identification. (Online). Available: <https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80620520/apswkshoprev.pdf> (May 29, 2018).
- Ismail, M., W. Wakil, N.H. Bashir, W. ul Hassan and U.W. Muhammad. 2017. Entomocidal effect of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and new chemistry insecticides against *Spodoptera litura* (Fabricius) (Noctuidae: Lepidoptera) under controlled conditions. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 5(6): 1056-1061.
- Kunasakdakul, K. 2013. Plant Pathology Techniques. Chiang Mai University Press, Chiang Mai. 212 p. (in Thai)
- Lacey, L.A., D. Grzywacz, D.I. Shapiro-Ilan, R. Frutos, M. Brownbridge and M.S. Goettel. 2015. Insect pathogens as biological control

- agents: Back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology* 132: 1-41.
- Nguyen, L.T. and C.T.B. Vo. 2007. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Omonrice* 15: 86-93.
- Ozturk, H.E., O. Guven and I. Karaca. 2015. Effects of some bioinsecticides and entomopathogenic fungi on Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* L.). *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 80(2): 205-211.
- Razkhanty, K. and S. Klangsinsirikul. 2017. Screening of potential insect pathogenic fungi for controlling cabbage aphid (*Lipaphis erysimi*). *King Mongkut's Agricultural Journal* 35(2): 65-75. (in Thai)
- Rowell, B., N. Bunsong, K. Sathaporn, S. Phithamma and C. Doungsa-ard. 2005. Hymenopteran parasitoids of diamondback moth (Lepidoptera: Ypeuonutidae) in northern Thailand. *Journal of Economic Entomology* 98(2): 449-456.
- Shelton, A.M., J.L. Robertson, J.D. Tang, C. Perez, S.D. Eigenbrode, H.K. Preisler, W.T. Wilsey and R.J. Cooley. 1993. Resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies in the field. *Journal of Economic Entomology* 86(3): 697-705.
- Shen, J., D. Lin, S. Zhang, X. Zhu, H. Wan and J. Li. 2017. Fitness and inheritance of metaflumizone resistance in *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 139: 53-59.
- Silva, V.C.A., R. Barros, E.J. Marques and J.B. Torres. 2003. Susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotropical Entomology* 32(4): 653-658.
- Sribunme, N., W. Pongprasert, S. Buranapanichpan, P. Sinchayakul and J. Kulsarin. 2018. Efficacy of some carriers to preserve *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 for controlling brown planthopper. *Journal of Agriculture* 34(2): 227-234. (in Thai)
- Sripontan, Y. 2016. Comparisons on the development of cutworm, *Spodoptera litura* (F.) and diamondback moth, *Plutella xylostella* L. reared on three varieties of cruciferous plants. *Songklanakarin Journal of Plant Science* 3(Suppl. 3): 56-62. (in Thai)
- Sumaetha, K. and Y. Chanbang. 2014. Fitness cost of resistance to diamide insecticide in diamondback moth. *Journal of Agriculture* 30(1): 29-37. (in Thai)
- Thongcharoen, K., W. Pongprasert, S. Buranapanichpan and J. Tayutivutikul. 2009. Efficiency of certain insecticides on diamondback moth in lower northern Thailand. *Journal of Agriculture* 25(3): 245-255. (in Thai)

การมีส่วนร่วมของเกษตรกรในการใช้เชื้อราเขียว มน. 048
ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวเขตชลประทาน:
กรณีศึกษา ตำบลรังนก อำเภอสามง่าม จังหวัดพิจิตร

Farmer Participation in Implementation of *Metarhizium anisopliae* NU 048 to
Control Brown Planthopper in Irrigated Rice Field: Case Study of Rang Nok
Subdistrict, Sam Ngam District, Pichit Province

สุวรรณา ทองภู¹ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ^{1*} ไสว บุรณพานิชพันธุ์² จิราพร กุลสาริน² และ วิภา หอมหวล¹
Suwanna Thongpoo¹, Weerathep Pongprasert^{1*}, Sawai Buranapanichpan², Jiraporn Kulsarin²
and Wipa Homhau¹

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ. พิษณุโลก 65000

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

²ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

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

(Received: 17 June 2019; Accepted: 10 July 2019)

Abstract: The purpose of this research was to study on the implement of *Metarhizium anisopliae* NU 048 to control brown planthopper in irrigated rice field and transferred to farmers at Rang Nok subdistrict, Sam Ngam district, Phichit province using training program integrated with demonstration trials. The result revealed that farmers gained more knowledge and understanding on the use of *M. anisopliae* (NU 048) to control brown planthopper including the monitoring insect pests and natural enemies, the use of natural enemies in rice paddy field, mass culture of NU 048, and cost-profit analysis of using natural enemies to control brown planthopper comparing to insecticides. The satisfactory of farmer on the use of NU 048 to control brown planthopper was significantly depended on education, areas used to apply microorganisms to control pests, and age of farmers.

Keywords: *Metarhizium anisopliae*, technology transfer, demonstration field, brown planthopper

บทคัดย่อ: การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวชลประทานเขตภาคเหนือตอนล่าง ถ่ายทอดสู่กลุ่มเกษตรกรนาข้าว ต. รังนก อ. สามง่าม จ. พิจิตร โดยบูรณาการร่วมกับการจัดทำแปลงสาธิต พบว่าเกษตรกรได้เรียนรู้ และมีความรู้ ความเข้าใจมากขึ้น ถึงการใช้ประโยชน์จากเชื้อราเขียว มน. 048 รวมถึงการสำรวจและการประเมินศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติ การใช้ศัตรูธรรมชาติในนาข้าว การเพาะเลี้ยงเชื้อราเขียว มน. 048 และต้นทุนกำไรในการปลูกข้าวที่ใช้ศัตรูธรรมชาติเปรียบเทียบกับการใช้สารฆ่าแมลง ความพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของเกษตรกร มีความสัมพันธ์อย่างนัยสำคัญทางสถิติกับ ระดับการศึกษา พื้นที่ที่เคยใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูในนาข้าว และอายุของเกษตรกร

คำสำคัญ: เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม การถ่ายทอดเทคโนโลยี แปลงสาธิต เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

คำนำ

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*Metarhizium anisopliae*) จัดเป็นทางเลือกที่สำคัญในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นวิธีการควบคุมที่มีประสิทธิภาพ ชัดเจน สะดวกในการใช้ เกษตรกรสามารถผลิตและขยายเชื้อได้ด้วยตนเอง และมีปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม (Heinrichs and Miller, 1991) มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าการใช้สารฆ่าแมลง เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*M. anisopliae*) จัดอยู่ใน Class: Sordariomycetes, Order: Hypocreales Family: Clavicipitaceae เป็นเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงได้มากกว่า 200 ชนิด (Zimmermann, 1993) ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยนเรศวร ได้ทำการคัดเลือกไอโซเลทเชื้อรา *M. anisopliae* จากพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง และพบว่า เชื้อราเขียว ไอโซเลท MRT-PCH 048 (มน. 048) มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ร้อยละ 100 ภายในระยะเวลา 2-3 วัน (Bunsak et al., 2015; Sribunme et al., 2017) และมีความทนทานต่ออุณหภูมิได้สูงถึง 45 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มในการส่งเสริมและใช้ควบคุมในระดับแปลงนาข้าวในภาคเหนือตอนล่างซึ่งมีสภาพอุณหภูมิสูง ความชื้นสูง ได้ดี จึงได้ทำการศึกษาการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวชลประทานในระดับเกษตรกร ด้วยกระบวนการส่งเสริมและถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ผ่านทางอบรม การฝึกปฏิบัติด้าน การผลิตและขยายเชื้อรา

เขียวด้วยตนเอง และการใช้เชื้ออย่างมีประสิทธิภาพด้วยการจัดทำแปลงสาธิตในลักษณะการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ร่วมกัน เพื่อเป็นแนวทางในการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว ของเกษตรกรต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษามีวิธีการและขั้นตอนดังนี้

1. ประชากรที่ใช้ในการศึกษาคือ เกษตรกรในพื้นที่แปลงสาธิต ต. รังนก อ. สามง่าม จ. พิจิตร ผู้เข้าร่วมโครงการจำนวน 40 ราย
2. ดำเนินการติดต่อประสานงานกับเกษตรกร และผู้นำเกษตรกรในพื้นที่ หลังจากนั้นประชุมกำหนดขั้นตอนการดำเนินการและเตรียมการจัดทำแปลงสาธิต
3. ทำการประเมินความรู้ด้านการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยวิธีของเกษตรกรในโครงการ
4. จัดอบรมและส่งเสริมให้ความรู้ด้านการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยวิธีและการใช้ประโยชน์เชื้อราเขียวในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
5. จัดทำแปลงสาธิตในลักษณะของการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ร่วมกับเกษตรกร โดยเตรียมแปลงสาธิตในการศึกษา ขนาด 10 ไร่ 2 แปลง ใช้ข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 ปลูกโดยวิธีการปักดำ แปลงที่ 1 ใช้สารฆ่าแมลงควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตามแนวทางเกษตรกร โดยใช้พื้นฐานข้อมูลจากการสำรวจประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแต่ละสัปดาห์เปรียบเทียบกับระดับเศรษฐกิจของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของกรมวิชาการเกษตร

(Sriratanasak *et al.*, 2007) เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจฟันสารฆ่าแมลง ส่วนการเลือกชนิดของสารและอัตราที่ใช้เป็นไปตามแนวทางการตัดสินใจร่วมกันของเกษตรกรแปลงที่ 2 ใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในอัตราหัวเชื้อสดที่ขยายในอาหารขยายเชื้อราเขียว 4 ถัง (800 กรัม) ต่อน้ำ 20 ลิตร ใช้เกณฑ์การตัดสินใจในการฟันเชื้อราเช่นเดียวกับแปลงฟันสารฆ่าแมลง การฟันสารฆ่าแมลงและเชื้อราเขียวเริ่มหลังจากปักดำข้าว 15 วันจนถึงระยะข้าวออกรวง การสำรวจประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ใช้หน่วยสุ่มขนาด 1×1 เมตร สุ่มเป็นจำนวน 20 จุด/แปลง ทำการสุ่มสำรวจทุกสัปดาห์ ตั้งแต่ย้ายกล้าปลูกจนถึงระยะออกรวง

6. จัดอบรมให้ความรู้ด้านเทคนิคการสำรวจและการจัดจำแนกชนิดของแมลง วิธีการผลิตและขยายเชื้อราเขียวด้วยตนเอง และการใช้เชื้อราเขียวในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงสาธิต

7. เมื่อสิ้นสุดการอบรม เก็บผลผลิต ทำการประเมินความรู้หลังการอบรม และ ความพึงพอใจในการใช้เชื้อราเขียว มน. 048

8. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาและประเมินผล คือ แบบสอบถามทดสอบเกษตรกร ประกอบด้วยเนื้อหา 3 ส่วน คือ (1) สภาพทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกร (2) ความรู้ของเกษตรกรก่อนและหลังการอบรม ปฏิบัติและแปลงสาธิต และ (3) ความพึงพอใจการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 เพื่อควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งได้ผ่านการพิจารณาแก้ไขปรับปรุงจากผู้เชี่ยวชาญ และทดสอบกับประชาชนในตำบลใกล้เคียงแล้ว

9. การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรม R (R Core Team, 2013) ด้วยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic) คือ ค่าเฉลี่ย (mean) ร้อยละ (percentage) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการอบรมด้วย T-Test ความพึงพอใจและการยอมรับใช้เกณฑ์ระดับคะแนน 5 ระดับ คือ มากที่สุด=5, มาก=4, ปานกลาง=3, น้อย=2 และน้อยที่สุด=1 คะแนน ตามลำดับ ตามแนวทางของ (Pongprasert *et al.*, 2012; Ruangsuan, 1990) ในส่วนปัจจัยความสัมพันธ์ความพึงพอใจผลการใช้เชื้อราเขียวในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลกับ

ปัจจัยพื้นฐานทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกรนั้น ใช้การวิเคราะห์ถดถอยพหุ (multiple regression analysis) โดยมีตัวแปรอิสระทั้งหมด 13 ตัวแปร คือ X_1 (เพศ), X_2 (อายุ), X_3 (สถานภาพสมรส), X_4 (ระดับการศึกษา), X_5 (ประสบการณ์ในการทำนา), X_6 (พื้นที่ในการทำนา), X_7 (จำนวนครั้งของการทำนาในรอบ 1 ปี), X_8 (นาข้าวที่เคยเสียหายจากการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล), X_9 (วิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวเมื่อมีการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล), X_{10} (ชนิดของจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูในนาข้าวที่เคยใช้), X_{11} (พื้นที่ที่เคยใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูในนาข้าว), X_{12} (ความถี่ในการฟันสารควบคุมกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเมื่อเกิดการระบาด) และ X_{13} (ค่าใช้จ่ายของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าว (ต่อครั้ง))

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สภาพทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกร

สภาพทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวที่เข้าร่วมโครงการในพื้นที่ตำบลวังนกส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (ร้อยละ 75) มีช่วงอายุ 55 ปีขึ้นไป (ร้อยละ 50) มีสถานภาพสมรสแล้ว (ร้อยละ 97.5) มีระดับการศึกษาชั้นประถมศึกษาปีที่ 4 (ร้อยละ 60) ไม่ได้เรียนหนังสือ (ร้อยละ 7.5) ในขณะที่มีผู้ที่จบระดับปริญญาตรีหรือสูงกว่า (ร้อยละ 5) เกษตรกรส่วนใหญ่มีประสบการณ์ในการทำนา 16-20 ปี (ร้อยละ 40) มีพื้นที่ในการปลูกข้าวจำนวน 16-20 ไร่ (ร้อยละ 55) นิยมทำนา 2 ครั้งต่อปี (ร้อยละ 97.5) ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับสภาพทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกรจากรายงานการศึกษาพฤติกรรมการใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรบ้านโพธิ์ประสาท ตำบลบ่อทอง อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลกของ Jetiyanon *et al.* (2018); การศึกษาสภาพการปลูกข้าวของเกษตรกรในตำบลจำปา อำเภอนาทวี จังหวัดพิจิตรของ Srisuwan and Chumporn (2012) และ การศึกษาผลกระทบทางสุขภาพจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช: กรณีศึกษาในเกษตรกรปลูกกระเทียม จังหวัดพะเยา Sappamrer *et al.* (2018)

พบเกษตรกรมีพื้นที่นาข้าวที่เคยเสียหายจากการระบาดของรุนแรงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 11-15 ไร่ (ร้อยละ 42.5) วิธีการที่ใช้ในการป้องกันกำจัดควบคุมแมลงศัตรูข้าว นิยมใช้สารเคมีกำจัดแมลงมากที่สุด (ร้อยละ 95) มีบางส่วนเลือกใช้ชีววิธี (ร้อยละ 42.5) และสารสกัดจากสมุนไพร (ร้อยละ 15) เช่นเดียวกับรายงานของ Suwannarach and Kessomboon (2015) ที่ศึกษาพฤติกรรมการป้องกันตนเองจากอันตราย ในการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรในเขตพื้นที่รับผิดชอบโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ ตำบลบ้านหมือแบ่ง ตำบลหนองหญ้าปล้อง อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย ที่พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช สูงถึงร้อยละ 88.80 อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาพบเกษตรกรมีการใช้จุลินทรีย์ไตรโคเดอร์มา ควบคุมโรคพืชในนาข้าว นอกจากนี้พบว่าเมื่อเกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เกษตรกรนิยมทำการพ่นสารควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 2 ครั้งมากที่สุด โดยเกษตรกรมีค่าใช้จ่ายในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแต่ละครั้งมากกว่า 1,500 บาท ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Koomnok and Pimsan (2014) ที่พบว่าเกษตรกรมีค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมีประมาณ 1,601-2,400 บาท/ไร่/ปี

ผลการฝึกอบรม การปฏิบัติการ และแปลงสาธิตการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ต่อประสิทธิภาพการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ผลการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงสาธิตพบว่า ในแปลงที่ควบคุมด้วยเชื้อราเขียว พบประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับสูง 3 ครั้ง ครั้งแรก 15 วันหลังปักดำพบประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเฉลี่ยต่อกอสูง ถึง 9 ตัว ครั้งที่สองในช่วงสัปดาห์ที่ 3 หลังปักดำ สูงสุดถึง 12 ตัวต่อกอ และครั้งที่สามในสัปดาห์ที่ 6 เฉลี่ย 9 ตัวต่อกอ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับระดับเศรษฐกิจ คือ 10 ตัวต่อกอมาก จึงได้ทำการพ่นเชื้อราเขียว มน. 048 จำนวน 3 ครั้งหลังสำรวจสามารถลดจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้อย่างทันทั่วทั้งที่ผลการเก็บเกี่ยวได้ผลผลิตเฉลี่ย 840 กิโลกรัมต่อไร่

แปลงควบคุมโดยใช้สารฆ่าแมลง พบจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเฉลี่ยในระดับสูง 3 ครั้งเช่นกัน โดย

ในการสำรวจครั้งแรกพบ 12 ตัวต่อกอ พ่นสารอติโพรล อัตรา 40 มิลลิลิตร ส่วนผลการสำรวจครั้งที่สองในสัปดาห์ที่ 3 หลังปักดำพบ 5 ตัวต่อกอ และครั้งที่สามในสัปดาห์ที่ 6 เฉลี่ย 2 ตัวต่อกอ จำนวนแมลงต่อกอที่พบทั้งสองครั้งของการสำรวจมีค่าต่ำกว่าค่าระดับเศรษฐกิจ ไม่จำเป็นต้องพ่นสารฆ่าแมลง แต่ด้วยผลการประชุมและตัดสินใจร่วมกันของเกษตรกรได้ลงความเห็นให้ทำการพ่นสารฆ่าแมลง จึงได้ทำการพ่นสาร เบนฟูราคาร์บ และไพมีโทรซินผสมกันในอัตรา 40 และ 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตรในสัปดาห์ที่ 3 และ พ่นไซเพอร์เมทรีน และไพโรไทโอฟอส ในอัตรา 20 มิลลิลิตรเท่ากัน ต่อน้ำ 20 ลิตรในสัปดาห์ที่ 6 ตามลำดับ เมื่อเก็บเกี่ยวได้ผลผลิตเฉลี่ย 880 กิโลกรัมต่อไร่ (Figure 1)

การอบรม ปฏิบัติการ และทำแปลงสาธิตการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวชลประทานเป็นการถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตรผ่านการจัดทำแปลงสาธิตในการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ที่ต้องการให้กลุ่มเกษตรกรได้เห็นผลที่ชัดเจน สร้างความเข้าใจ ทักษะ และความเชื่อมั่นในการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อผลในการพัฒนาการเกษตรและชุมชนเกษตรที่ยั่งยืน ทำให้เกษตรกรสามารถแลกเปลี่ยนประสบการณ์ที่ให้ผลชัดเจน รวมทั้งสามารถสร้างการยอมรับได้อย่างรวดเร็ว เพราะเกษตรกรนอกจากได้เรียนรู้ทั้งหลักการ วิธีการดำเนินการในเรื่องนั้น ๆ แล้ว ยังได้ร่วมปฏิบัติและเรียนรู้ผลของการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง สามารถรับความรู้เป็นความเข้าใจในเชิงลึก ระบบการคิด และการตัดสินใจสามารถนำไปใช้ และพัฒนาต่อยอดความรู้ความเข้าใจได้ด้วยตนเอง ซึ่งรูปแบบของแปลงสาธิตเป็นวิธีการถ่ายทอดความรู้ เป็นเครื่องมือที่สำคัญต่อกระบวนการมีส่วนร่วม มีส่วนช่วยส่งเสริมให้เกิดกระบวนการแลกเปลี่ยนเรียนรู้กับการมีส่วนร่วม การแสดงความคิดเห็น และเกิดการพัฒนาจากองค์ความรู้เดิมนำไปสู่ผลลัพธ์จากการปฏิบัติที่เห็นอย่างเป็นรูปธรรม (Sustainable Agriculture Information Initiative, 2010) วิธีการนี้จึงมักนิยมใช้ในการส่งเสริมทางการเกษตรและเทคโนโลยีต่าง ๆ มาก (Atcharyamontree, 2017; Department of Agricultural Extension, 2013)

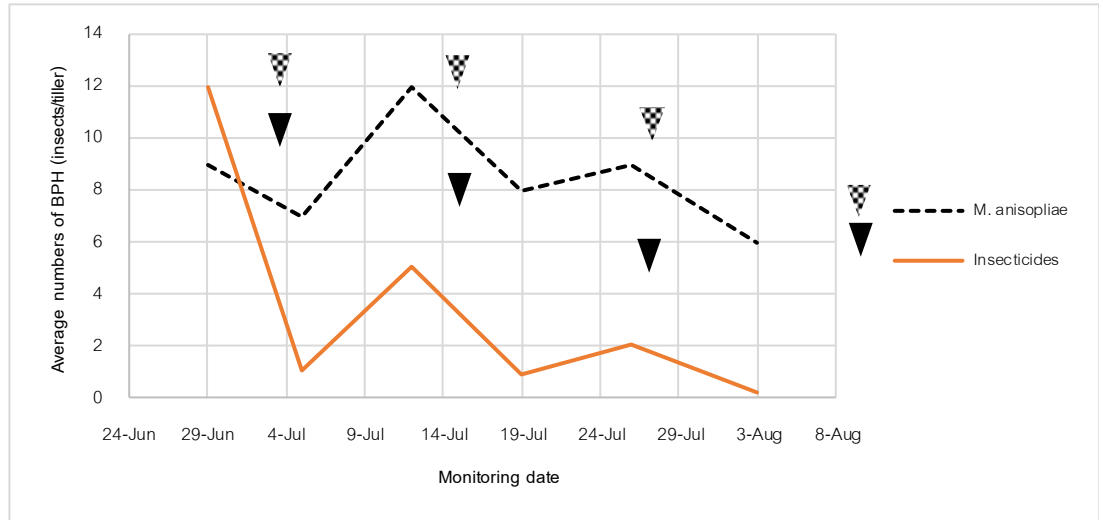


Figure 1. The fluctuation of average number of BPH/tiller in demonstration paddy fields controlled by *Metarhizium anisopliae* NU 048 (bold line and triangle for date of application) compared those by insecticides (dash line and triangle for date of application)

ผลการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตของทั้งสองแปลง พบว่าแปลงควบคุมโดยใช้เชื้อราเขียว มน. 048 นั้นได้ผลผลิต 840 กิโลกรัมต่อไร่ ขายเป็นเมล็ดพันธุ์ได้ กิโลกรัมละ 14 บาท ได้รายรับทั้งหมด 11,760 บาท โดยมีต้นทุนในการผลิตทั้งหมด 5,603.60 บาท ในจำนวนนี้ประกอบด้วยต้นทุนในส่วนต่าง ๆ คือ ค่าเมล็ดพันธุ์ 200 บาทต่อไร่ ค่าแรงงานในการดูแลแปลง 1,310 บาทต่อไร่ (ไม่รวมค่าจ้างพ่นสารฆ่าแมลง) ค่าใช้จ่ายในการผลิต 2,350 บาทต่อไร่ ค่าใช้จ่ายในการพ่นเชื้อราเขียวควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 1,143.60 บาทต่อไร่ (คิดเป็นร้อยละ 24 ของต้นทุนทั้งหมด) ค่าใช้จ่ายในการใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียควบคุมหนอนห่อใบข้าว 63.6 บาทต่อไร่ ค่าเก็บเกี่ยว และขนข้าวส่งขายเอกชน 600 บาทต่อไร่ ทำให้เมื่อหักค่าใช้จ่ายทั้งหมดแล้วมีกำไรสุทธิ 6,156.40 บาทต่อไร่ เมื่อคิดกำไรสุทธิต่อต้นทุนได้ 1.09 บาท คือ ในการลงทุน 1 บาท ได้กำไร 1.09 สตางค์ แปลงควบคุมโดยใช้สารฆ่าแมลงนั้นได้ผลผลิต 880 กิโลกรัมต่อไร่ ขายเป็นเมล็ดพันธุ์ได้ กิโลกรัมละ 14 บาท ได้รายรับทั้งหมด 12,320 บาท โดยมีต้นทุนในการผลิตทั้งหมด 6,621.80 บาท ในจำนวนนี้ประกอบด้วย ต้นทุนในส่วนต่าง ๆ คือ ค่าเมล็ดพันธุ์ ค่าแรงงานในการดูแลแปลง ค่าใช้จ่ายในการผลิต และค่าเก็บเกี่ยวและขนข้าวส่งขาย

เอกชน เท่ากับแปลงพ่นเชื้อราเขียว และมีค่าใช้จ่ายในการพ่นสารฆ่าแมลงควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 2,161.80 บาทต่อไร่ (คิดเป็นร้อยละ 32.6 ของต้นทุนทั้งหมด) ทำให้เมื่อหักค่าใช้จ่ายทั้งหมดแล้วมีกำไรสุทธิ 5,698.20 บาทต่อไร่ เมื่อคิดกำไรสุทธิต่อต้นทุนได้ 0.86 บาท คือ ในการลงทุน 1 บาท ได้กำไร 86 สตางค์ ผลการดำเนินการพบว่าต้นทุนในการพ่นเชื้อราเขียวมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าแปลงพ่นสารฆ่าแมลง แต่ให้ผลตอบแทนต่อหน่วยสูงกว่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Suwannakit and Prempre (2016) พบว่า เกษตรกรที่ปลูกข้าวอินทรีย์มีต้นทุนที่ต่ำกว่าการใช้สารเคมี และมีผลตอบแทนที่มากกว่าการใช้สารเคมี นอกจากนี้พบว่า รายได้และต้นทุนการปลูกข้าวระหว่าง เกษตรกรที่ปลูกข้าวอินทรีย์ และเกษตรกรที่ใช้สารเคมีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แนวทางของรูปแบบการถ่ายทอดเทคโนโลยี ด้านการใช้เชื้อราเขียวการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เกษตรกรให้ความสนใจ

ผลการศึกษาพบว่าในการถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่กลุ่มเกษตรกร บ้านวังนก จำนวน 40 คน แนวทางของรูปแบบการถ่ายทอดเทคโนโลยี จำนวน 6 รูปแบบนั้น เกษตรกรให้ความสนใจการถ่ายทอดในรูปแบบของการ

จัดทำแปลงสาธิตหรือ การฝึกอบรมสาธิตพร้อมปฏิบัติ และการถ่ายทอดโดยตรง เฉลี่ยสูงถึง 4.9, 4.8 และ 4.5 ตามลำดับ ซึ่งจัดอยู่ในเกณฑ์การประเมินระดับที่สูงมากที่สุด ในขณะที่ การใช้เอกสารเผยแพร่ความรู้ และสื่ออินเตอร์เน็ต ที่วี วิทยุ มีความสนใจเฉลี่ยเพียง 3.9 และ 3.5 เท่านั้น ตามลำดับ และจัดอยู่ในเกณฑ์การประเมินระดับปานกลาง (Figure 2) ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Srisuwan and Chumporn (2012) และ Klinklao and Srisuwan (2014) ที่พบว่า การเปิดรับข้อมูลข่าวสารทางการเกษตรเกษตรกรมีการเปิดรับข้อมูลจากสื่อบุคคล ได้แก่เจ้าหน้าที่ภาครัฐมากที่สุด และนอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Atchariyamontree (2017) ที่พบว่าเกษตรกรยอมรับวิธีการปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วมในการพัฒนาบริหารจัดการแปลงสาธิตร่วมกันในการผลิตผักพื้นบ้านปลอดภัย

ความพึงพอใจกระบวนการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ความพึงพอใจในกระบวนการใช้เชื้อราเขียว เมตาไรเซียม และการนำไปใช้ ใน 7 ประเด็น พบว่า ประเด็นความเหมาะสมของช่วงเวลาในการพ่นเชื้อราเขียว มีความสะดวกในการพ่น และมีความสะดวกในขั้นตอนการขยายจากหัวเชื้อ ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.73, 4.65 และ 4.53 เกณฑ์การประเมินอยู่ในระดับ มากที่สุด มีความพึงพอใจต่อประเด็น

ระยะเวลาในการเก็บรักษาหัวเชื้อ ความเหมาะสมอัตราการใช้เชื้อรา ระยะเวลาการเก็บรักษาเชื้อสดหลังจากขยายจากหัวเชื้อ และความสะดวกในการติดต่อหรือขอรับเชื้อรา เขียวค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.2, 3.9, 3.9 และ 3.8 ตามลำดับ เกณฑ์การประเมินอยู่ในระดับมาก ตามลำดับ (Figure 3) ทั้งนี้ Koomnok and Pimsan (2014) รายงานว่าการยอมรับของเกษตรกรเกิดขึ้นได้ง่ายหากขั้นตอนการขยายเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมจากหัวเชื้อ ไม่ยุ่งยากและในการขยายเชื้อสามารถทำได้รวดเร็ว

ความพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ในส่วนสุดท้ายเป็นเรื่องของความพึงพอใจของผลการใช้ประโยชน์จากเชื้อราเขียว มน. 048 และการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต ใน 5 ประเด็น พบว่าเกษตรกรมีความต้องการใช้ประโยชน์จากเชื้อราเขียว มน. 048 ในฤดูกาลถัดไป และ พึงพอใจในผลของการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 มีค่าเฉลี่ย 4.8 และ 4.7 จัดอยู่ในเกณฑ์ระดับ มากที่สุด ส่วนประเด็น จะแนะนำการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ในชุมชนตนเอง การแนะนำการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ให้กับคนในชุมชนอื่น สนใจในการเพาะเลี้ยง/ผลิตเชื้อราเขียว มน. 048 จำหน่ายเป็นการค้า มีค่าเฉลี่ย 4.22, 4.07 และ 3.90 ตามลำดับ จัดอยู่ในเกณฑ์ระดับ มาก (Figure 4)

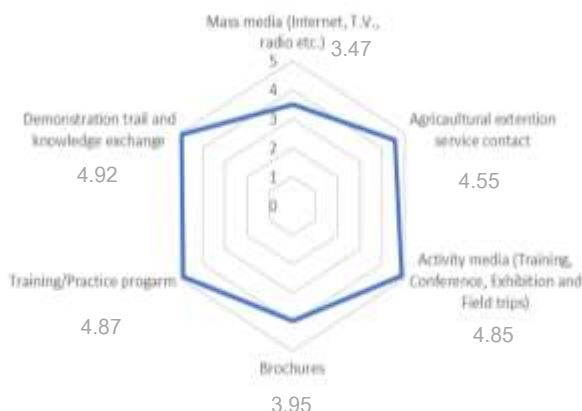


Figure 2. Spider chart presents the preferable score of farmers on 6 technology transfer methods to introduce the use of *Metarhizium anisopliae* NU 048 to control brown planthopper

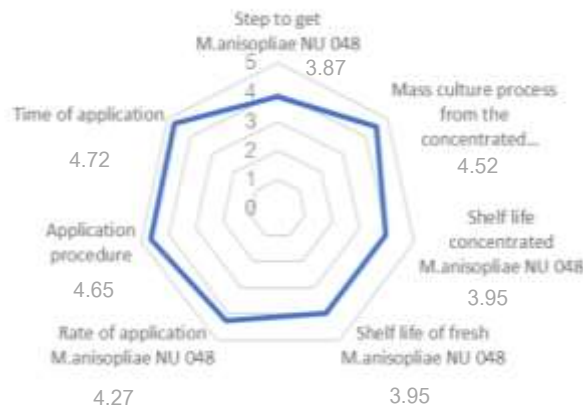


Figure 3. Spider chart presents the preferable score of farmers on 7 topics of the process to use *Metarhizium anisopliae* NU 048 to control brown planthopper

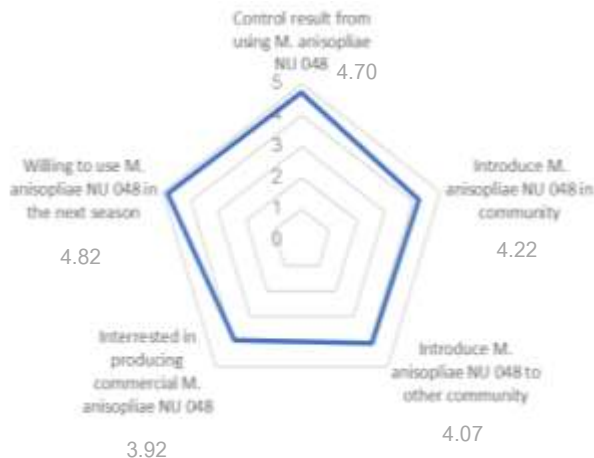


Figure 4. Spider chart presents the preferable score of farmers on 5 topics of the satisfactory on the control result after using *Metarhizium anisopliae* NU 048 to control brown planthopper

ปัจจัยทางสภาพทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกรที่สำคัญที่มีผลต่อความพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ผลการวิเคราะห์หัตถถอยพหุของตัวแปรอิสระคือ ปัจจัยทางสภาพทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกรทั้ง 13 ชนิด ต่อ ตัวแปรตาม คือ ความพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Y) พบว่าตัวแปรอิสระทั้ง 13 ชนิด มี 3 ชนิด ที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ระดับการศึกษา (X_4) พื้นที่

ที่เคยใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูในนาข้าว (X_{11}) และอายุเกษตรกร (X_2) สามารถนำมาสร้างเป็นสมการทำนายความสัมพันธ์ระหว่างสภาพทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกรกับความพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ได้ดังนี้

$$Y = 4.564 + 0.037 X_4 + 0.067 X_{11} - 0.150 X_2$$

ค่าสัมประสิทธิ์แห่งการตัดสินใจเชิงพหุ (R^2) มีค่า 0.408 หมายความว่า ตัวแปรอิสระ 3 ชนิดรวมกันมีอิทธิพลต่อความพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ร้อยละ 40.8 จากสมการอธิบายได้ว่าระดับการศึกษาที่สูงขึ้นของเกษตรกรทำให้เกษตรกรมีโอกาสพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว

มากกว่าเกษตรกรที่มีการศึกษาในระดับต้น เช่นเดียวกับขนาดพื้นที่ของเกษตรกรที่เคยใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูในนาข้าว เกษตรกรมีโอกาสพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียวมากหากมีขนาดพื้นที่ที่เคยใช้เชื้อราเขียวมาก เช่นกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Kananit *et al.* (2017) ที่พบว่าปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อความต้องการของเกษตรกรต่อการได้รับการพัฒนาการเกษตรจากองค์การบริหารส่วนตำบลห้วยทองมีทั้งหมด 5 ตัวแปร และหนึ่งในนั้นคือ ระดับการศึกษา แต่ในส่วนของอายุของเกษตรกรพบว่าเป็นความสัมพันธ์เชิงลบเพราะเกษตรกรที่มีอายุน้อยมีโอกาสพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียวได้มากกว่าเกษตรกรที่มีอายุมาก นั่นหมายถึงเกษตรกรรุ่นใหม่ในพื้นที่นี้ ยอมรับเทคโนโลยีที่เข้ามาส่งเสริมได้ดีและรวดเร็ว ขัดแย้งกับการวิจัยของ Janthong and Sakkatat (2017) ที่พบว่าอายุมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับการปลูกเมลอนสุกย่างแล้ง เนื่องจากเกษตรกรผู้ปลูกเมลอนที่มีอายุมากขึ้น มีการยอมรับได้เมื่อได้รับการส่งเสริมหรือการแนะนำด้านเทคโนโลยีและวิธีการปลูกเมลอนสุกย่างแล้ง และนอกจากนี้ยังขัดแย้งกับงานวิจัยของ Palang *et al.* (2011) ที่พบว่าอายุมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับการยอมรับเทคโนโลยีการผลิตยาสูบในแนวทางของเกษตรผสมผสานและนำไปปฏิบัติตามจนเกิดผล

ความรู้ของเกษตรกรก่อนและหลังการอบรม

จากการทดสอบความรู้เกี่ยวกับการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของเกษตรกร จำแนกเป็นความรู้ก่อนการอบรม และหลังการอบรม พบว่า ก่อนเข้ารับการอบรมมีคะแนนเฉลี่ย 7.87 (SD=3.82) โดยองค์ความรู้ที่เกษตรกรมีในระดับที่สูงกว่าร้อยละ 70 คือ เกษตรกรมีความรู้จักกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และความเสียหายที่เกิดจากการลงทำลายข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากที่สุด (ร้อยละ 100) เกษตรกรทราบช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดคือช่วงเช้าและค่ำ (ร้อยละ 97.5) และเชื้อราเขียวสามารถฆ่าเพลี้ยจักจั่นและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดี (ร้อยละ 85) และเกษตรกรมีความรู้และสามารถสำรวจแมลงศัตรูข้าวจากกอข้าวได้ (ร้อยละ 72.5) ภายหลังการอบรม และการจัดทำแปลงสาธิตแลกเปลี่ยนเรียนรู้ พบว่าคะแนนเฉลี่ยองค์ความรู้เพิ่มขึ้นเป็น 17.32 (SD=0.57) สูงขึ้น 2.2 เท่า โดยพบว่าเกษตรกรมีระดับความรู้เพิ่มขึ้นในทุก ๆ องค์ความรู้ถึงร้อยละ 100 แต่ก็ยังพบว่าการสุ่มสำรวจแมลงศัตรูข้าวจากโคนต้นข้าว และการใช้สวิงโฉบ ที่เพิ่มขึ้นมาถึงร้อยละ 97.5 และร้อยละ 32.5 ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งการทดสอบผลก่อนและหลังการอบรมสามารถประเมินผลถึงคุณภาพของการอบรมในด้านต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี (Srikanlayaniwart, 2016; Supason *et al.*, 2010) การอบรมในครั้งนี้สามารถเสริมสร้างความรู้ความเข้าใจแก่เกษตรกรได้ดีขึ้น สามารถนำไปสู่การปฏิบัติและต่อยอดการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืนต่อไปในอนาคต

การมีส่วนร่วมของเกษตรกรในการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
ในนาข้าวเขตชลประทาน: กรณีศึกษา ตำบลรังนก อำเภอสามง่าม จังหวัดพิจิตร

Table 1. The average score of evaluation result on the knowledge of farmers before and after training program

	Content	Knowledge	
		Before training	After training
1	Know the BPH and the symptom on rice damaged by BPH?	1	1
2	Know natural enemies?		
2.1	Know the predators: lady beetles, mirid bugs?	0.275	1
2.2	Know the parasitoids: egg parasitoids and larval parasitoids?	0.05	1
2.3	Know the antagonistic microorganisms: <i>Metarhizium</i> spp., <i>Beauveria</i> spp. and <i>Trichoderma</i> spp.?	0.6	1
3	Survey the amount and species of insect in field?		
3.1	Survey by sweep net?	0.175	0.325
3.2	Survey by check directly from the rice tillage?	0.725	0.975
4	Can identify the species of rice pests and natural enemies?	0.175	1
5	Know the economic threshold level of BPH?	0.1	1
6	Know how to use the entomopathogenic fungi?	0.55	1
7	Know how to prepare haft cooking rice media for mass culture of <i>M. anisopliae</i> NU 048?	0.275	1
8	Know how to prepare the mass culture of <i>M. anisopliae</i> NU 048 from the concentrated <i>M. anisopliae</i> NU 048 and half cooking rice?	0.15	1
9	Know the application rate of fresh <i>M. anisopliae</i> NU 048 to control BPH?	0.575	1
10	Know the <i>M. anisopliae</i> NU 048 can be used to control rice hoppers?	0.85	1
11	<i>M. anisopliae</i> NU 048 can be mixed with insecticides when applied on the field?	0.525	1
12	Concentrated <i>M. anisopliae</i> NU 048 can be stored in the refrigerator for 1 year?	0.15	1
13	Fresh <i>M. anisopliae</i> NU 048 in half cooking rice can be stored in the refrigerator for 1 month?	0.1	1
14	Incubation period for complete growth of <i>M. anisopliae</i> NU 048 in half cooking rice till ready to use to control BPH is 7 days	0.3	1
15	<i>M. anisopliae</i> NU 048 can be applied on the rice at the seedling stage until flowering stage or every 7 days to control brown planthopper?	0.325	1
16	The appropriate application time of <i>M. anisopliae</i> NU 048 is in the morning or evening?	0.975	1

สรุป

ศึกษาการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวชลประทาน โดยการจัดอบรมปฏิบัติการ และทำแปลงสาธิต ถ่ายทอดให้กลุ่มเกษตรกรนาข้าวตำบลวังนก อำเภอสามง่าม จังหวัดพิจิตร พร้อมทำการประเมินความรู้ทั้งก่อนและหลังการอบรม พบว่าเกษตรกรได้เรียนรู้และมีความรู้ความเข้าใจในถึงการใช้ประโยชน์จากเชื้อราเขียว มน. 048 รวมถึงการสำรวจและการประเมินศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติ การใช้ศัตรูธรรมชาติในนาข้าว การเพาะเลี้ยงเชื้อราเขียว มน. 048 และต้นทุน-กำไรในการปลูกข้าวที่ใช้ศัตรูธรรมชาติ เปรียบเทียบกับการใช้สารฆ่าแมลงมากขึ้น ความพึงพอใจในผลการใช้เชื้อราเขียว มน. 048 ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีความสัมพันธ์อย่างนัยสำคัญทางสถิติกับ ระดับการศึกษา (X_0) พื้นที่ที่เคยใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูในนาข้าว (X_{11}) และอายุ (X_2) เกษตรกรที่ผ่านการอบรมมีคะแนนเฉลี่ยของการประเมินความรู้ 17.32 สูงขึ้นจากเดิม 7.87 ถึง 2.2 เท่า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคเหนือตอนล่างมหาวิทยาลัยนเรศวร ที่สนับสนุนสารชีวภัณฑ์ เชื้อราเขียว มน. 048 ในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกข้าวตำบลวังนก อำเภอสามง่าม จังหวัดพิจิตรที่ได้ให้ความอนุเคราะห์และความร่วมมือทั้งในเรื่องพื้นที่ในการดำเนินงานวิจัย และความตั้งใจในการเข้าร่วมโครงการวิจัยเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

Atchariyamontree, A. 2017. Participatory action research and demonstration field for production of pesticides-free local vegetables of Cho Lae community, Mae Taeng district, Chiang Mai province. Journal

of Community Development and Life Quality 5(1): 118-128. (in Thai)

Bunsak, A., W. Pongprasert, S. Buranapanichpan and J. Kulsarin. 2015. Screening on potential *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin for controlling brown planthopper in paddy field. Journal of Agriculture 31(3): 291-299. (in Thai)

Department of Agricultural Extension. 2013. Guide Book for Agricultural Extension and Technology Transfer Service. Department of Agricultural Extension, Bangkok. 174 p.

Heinrichs, E.A. and T.A. Miller. 1991. Rice Insects Management Strategies. Springer-Verlag, New York. 347 p.

Janthong, N. and P. Sakkatat. 2017. Farmers adoption of melon planting against drought in Lat Bua Luang district, Phra Nakhon Si Ayutthaya province. Journal of Agriculture 33(3): 405-414. (in Thai)

Jetiyanon, K., P. Plianbangchang, S. Wittaya-areekul, W. Punsak and S. Intanon. 2018. Farmers' behavior in using chemical fertilizer at Ban Pho Prasat, Bo Thong subdistrict, Bang Rakam district, Phitsanulok province. Journal of Agriculture 34(2): 245-253. (in Thai)

Kananit, S., P. Prapatigul and C. Wongsamun. 2017. Farmers' needs for agricultural development from Wathong subdistrict administrative organization Phuwang district, Khon Kaen province. Khon Kaen Agriculture Journal 45 (Suppl.1): 1515-1521. (in Thai)

Klinklao, J. and S. Srisuwan. 2014. The use of insecticides to eliminate brown planthopper by rice farmers in Muang Uthai Thani district, Uthai Thani province. King

- Mongkut's Agricultural Journal 32(1): 21-28. (in Thai)
- Koomnok, C. and S. Pimsan. 2014. Pesticide application behaviors of agriculturists in Chom Thong sub-district, Muang district, Phitsanulok province. Phetchabun Rajabhat Journal 16(1): 56-67. (in Thai)
- Palang, J., W. Prokati, P. Sakkatat and N. Rungkawat. 2011. Adoption of integrated crop management by tobacco farmers under supervision of Par Kor Dam station, Chiang Rai province. Journal of Agricultural Research and Extension 28(2): 57-64. (in Thai)
- Pongprasert, W., W. Homhaul, S. Sanyong, V. Chimnak and V. Soinark. 2012. Survey, monitoring and evaluation on insect natural enemies and insect pests in lower northern Thailand. Research Report of National Biological Control Research Center, Lower Northern Regional Center 2012. National Research Council of Thailand, Bangkok. 114 p. (in Thai)
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. (Online). Available: <http://www.R-project.org/> (June 5, 2019).
- Ruangsuwan, C. 1990. Educational Technology: Research Theory. O.S. Printing House, Bangkok. 187 p. (in Thai)
- Sapbamrer, R., S. Hongsibsong and N. Sittitoon. 2018. Health impacts of pesticide uses: case study in garlic farmers, Phayao province. Naresuan University Journal: Science and Technology (26)1: 20-31. (in Thai)
- Sribunme, N., W. Pongprasert, S. Buranapanichpan, P. Sinchayakul and J. Kulsarin. 2017. Efficacy of some carriers to preserve *Metarhizium anisopliae* MRT-PCH 048 for controlling brown planthopper. Journal of Agriculture 34(2): 227-234. (in Thai)
- Srikanlayaniwart, S. 2016. Develop the knowledge and ability to research of personnel Faculty of Medicine at the Naresuan University. pp. 1582-1596. In: Proceedings of 12th Naresuan Reasearch: Research and Innovation for Developing the Country. 21-22 July 2016, Phitsanulok. (in Thai)
- Sriratanasak, W., R. Phatarasuthi, N. Chiengwattana, P. Patirupanusara, T. Ritmontree and P. Sengsim. 2007. Insects and Animal Pests of Rice and Their Control. Rice Department, Bangkok. 200 p. (in Thai)
- Srisuwan, S. and S. Chumporn. 2012. Status of rice production of famers in Champa sub-district, Tharuea district, Phra Nakhon Si Ayutthaya province. Agricultural Science Journal 43(2) (Suppl.): 577-580. (in Thai)
- Supason, R., K. Vichitsukon and K. Wichiencharoen. 2010. Effects of a community health volunteer role promoting a breastfeeding program. Journal of Nursing Science 28(2): 41-48. (in Thai)
- Sustainable Agriculture Information Initiative. 2010. Technical Manual: Farmer Field School Approach. Sustainable Agriculture Information Initiative, Nairobi. 20 p.
- Suwanakit, C. and K. Prempreee. 2016. The comparison of costs and returns between organic rice farming and chemical rice farming. Veridian E-Journal, Silpakorn University 9(2): 519-526. (in Thai)
- Suwanarach, A. and P. Kessomboon. 2015. Pesticide hazards prevention among farmers of the Muangbaeng Tambon Health Promotion Hospital catchment areas, Nong

Ya Plong sub-district, Wang Sa Phung district, Loei province. Community Health Development Quarterly, Khon Kaen University 3(3): 395-407. (in Thai)

Zimmermann, G.1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. Pesticide Science 37(4): 375-379.

การเปรียบเทียบพันธุ์มันสำปะหลังต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม

(*Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood)

และประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้าในการควบคุม

Comparison of Cassava Varieties on Infection of Root-knot Nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood and Efficiency of Commercial Products of Antagonistic Fungi for Controlling

ภูมิ ตะอูน¹ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์^{2, 3*} ศิวาลัย สิริมังกรารัตน์^{2, 3} และ ดวงรัตน์ ธงภักดิ์¹
Pum Ta-oun¹, Weerasak Saksirirat^{2, 3*}, Sivilai Sirimungkarrat^{2, 3} and Duangrat Thongphak¹

¹สาขากีฏวิทยาและโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

¹Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

²ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

²Agricultural Biotechnology Research Center for Sustainable Economy, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

³กลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไหมป่าและแมลงสำคัญทางเศรษฐกิจเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม

มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

³Cultivation and Product Development Research Group of Wild Silkmoths and Economic Insects for Value Added Creation,
Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

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

(Received: 6 August 2019; Accepted: 30 September 2019)

Abstract: Ten well-known varieties of cassava; (Rayong 5, 7, 9, 11, 13, 72 and 90, KU 50, Huay Bong 60 and 80) were tested on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (RKN) infection in greenhouse condition. The cassava plant was grown in the pot (Ø 15 cm), until 21 days after planting, the nematode egg suspension (3,000 eggs) was infested in the pot per plant. After 45 days of inoculation, the quantitative nematode parameters (number of gall/root system, number of eggs/g root, and number of female adults/g root) and also growth parameters, (shoot height, shoot and root fresh weight and root fresh weight), were evaluated. The result showed that Rayong 9 was the most susceptible variety to RKN. For the efficiency of 4 commercial products of antagonistic fungi (*Beauveria bassiana*, *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma harzianum*) on control RKN of cassava variety Rayong 9 was investigated under greenhouse condition in comparison to using nematicide (carbosulfan) and control 1 (no use of the products or nematicide and inoculation with RKN egg suspension) and untreated cassava (control 2). The commercial products were applied using recommendation rates to the cassava plants in pots. After 7, 5, 3 and 0 days of fungal application, the RKN egg suspension was inoculated in the soil. The experiments were carried out in a greenhouse comprised 19 treatments, 4 replications in CRD. After 45 days of RKN inoculation, cassava plants were determined and evaluated on RKN and growth parameters. The result of the experiment (March 16th - May 1st, 2018)

demonstrated that the 4 antagonistic products and carbosulfan were ($P<0.05$) effective on control RKN showing 60.35 - 276.80 egg masses/root system with gall reduction of 60.28 - 91.34% and better than control treatment (696.96 egg masses), even though on the application of 7, 5, 3 or 0 day before RKN inoculation. Especially, using *T. harzianum* at 7 days before RKN inoculation, gave rise to the lowest number of RKN parameters, compared to other treatments treated with RKN and showing the most reduction of gall 91.34%.

Keywords: Commercial product, antagonistic fungi, control, root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, cassava variety

บทคัดย่อ: การทดสอบพันธุ์มันสำปะหลังที่นิยมปลูกจำนวน 10 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 5, 7, 9, 11, 13, 72 และ 90, เกษตรศาสตร์ 50 ห้วยบง 60 และ 80 ต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (RKN) ในสภาพเรือนทดลอง โดยปลูกมันสำปะหลังในกระถาง ($\varnothing$ 15 เซนติเมตร) เมื่อมันสำปะหลังอายุ 21 วัน จึงราดไข่ไส้เดือนฝอย (3,000 ไข่/ต้นกระถาง) หลังจากนั้น 45 วัน จึงประเมินค่าตัวชี้วัดปริมาณไส้เดือนฝอย (จำนวนปมต่อระบบราก, จำนวนไข่ต่อราก 1 กรัม และจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียต่อราก 1 กรัม) รวมทั้งตัวชี้วัดการเจริญเติบโตของพืช (ความสูงของต้น, น้ำหนักต้นและรากสด และน้ำหนักรากสด) ผลการทดสอบ พบว่าพันธุ์ระยอง 9 อ่อนแอต่อ RKN มากที่สุด ส่วนในการทดสอบประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้ำ 4 ชนิด ได้แก่ *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae* และ *Trichoderma harzianum* เพื่อควบคุม RKN ของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ซึ่งปลูก 1 ต้นต่อกระถาง เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอย carbosulfan, กรรมวิธีควบคุม 1 (ต้นมันสำปะหลังที่มีการราดไข่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว) และกรรมวิธีควบคุม 2 (ต้นมันสำปะหลังที่ไม่มีการใช้ทั้งเชื้อราปฏิปักษ์และสารเคมี carbosulfan รวมทั้งไม่มีการราดไข่ไส้เดือนฝอย) โดยใช้ราปฏิปักษ์รูปการค้ำทั้ง 4 ชนิด ตามอัตราแนะนำในฉลาก ให้กับต้นมันสำปะหลังที่ 7, 5, 3 และ 0 วันก่อนการราดไข่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 19 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หลังจากนั้น 45 วัน จึงประเมินค่าตัวชี้วัดปริมาณไส้เดือนฝอยและตัวชี้วัดการเจริญเติบโตของพืช ผลการทดลอง (16 มีนาคม - 1 พฤษภาคม 2561) พบว่า ราปฏิปักษ์รูปการค้ำทั้ง 4 ชนิดและสารเคมี carbosulfan มีค่าจำนวนกลุ่มไข่ต่อระบบรากอยู่ระหว่าง 60.35 - 276.80 กลุ่มไข่ สามารถลดการเกิดปมลงได้ 60.28 - 91.34% ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่ากรรมวิธีควบคุม 1 อย่างชัดเจน (696.96 กลุ่มไข่) ($P<0.05$) ในการควบคุม RKN ทั้งการใช้ที่ 7, 5, 3 และ 0 วัน ก่อนการราดไข่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้รา *T. harzianum* 7 วัน ก่อนการราดไข่ มีค่าตัวชี้วัดปริมาณ RKN ทุกค่าน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ทั้งหมดที่มีการทดสอบด้วยไข่ RKN และสามารถลดการเกิดปมลงได้มากที่สุด 91.34%

คำสำคัญ: ราปฏิปักษ์รูปการค้ำ การควบคุม ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* พันธุ์มันสำปะหลัง

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่ อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งพันธุ์มันสำปะหลังที่นิยมปลูกขึ้นอยู่กับคุณสมบัติ ผลผลิต และสภาพพื้นที่ สำหรับในปัจจุบันการปลูกมันสำปะหลังมีการให้น้ำแบบระบบน้ำหยดเพื่อเพิ่มผลผลิต ซึ่งไส้เดือนฝอยสามารถแพร่ระบาด

ในสภาพดินปลูกที่มีความชื้น เช่นจากวิธีการให้น้ำดังกล่าว (Office of Expert, Department of Agriculture, 2019)

สำหรับโรครากปมนี้มีสาเหตุมาจากไส้เดือนฝอยรากปม (root-knot nematode, *Meloidogyne* spp.) ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่สำคัญทำลายพืชได้หลายชนิด ในประเทศไทยมีรายงานโรครากปมในมันสำปะหลังที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *M. incognita* เป็นครั้งแรกในแปลงปลูก

ของเกษตรกรบริเวณปากทางเข้าอุทยานแห่งชาติภูกระดึง จังหวัดเลย (Sonthirat et al., 1978) ต่อมา Maneechote et al. (2016) รายงานว่าโรครากปมของมันสำปะหลังมีการระบาดรุนแรงในปี พ.ศ. 2544 ที่จังหวัดชัยภูมิ ทำให้ผลผลิตเสียหายได้ตั้งแต่ 20-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในต่างประเทศนั้น จากการสำรวจในประเทศอุกันดาพบว่า มีไส้เดือนฝอยหลายชนิดที่มีความสัมพันธ์กับมันสำปะหลัง แต่มีบางชนิดที่ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ ทั้งนี้ชนิดที่ทำให้เกิดความเสียหายมากที่สุด คือ *M. incognita*, *M. javanica* และ *Pratylenchus brachyurus* ซึ่งการสูญเสียผลผลิตหัวมันสำปะหลังนั้นมีสูงถึง 98 เปอร์เซ็นต์ อันเนื่องมาจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. (Coyne, 1994)

สำหรับการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้สารเคมี การใช้สารอินทรีย์ การควบคุมทางชีววิธี การใช้พันธุ์ต้านทาน และวิธีทางเขตกรรม ซึ่งการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมแต่ละวิธีนั้นต่างมีข้อจำกัด เช่น การใช้สารเคมีเป็นวิธีที่ลงทุนสูง เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต และตกค้างในสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการนำวิธีการอื่นที่ปลอดภัย อาทิ ชีววิธีมาใช้ร่วมด้วยในการควบคุม จึงเป็นแนวทางที่ควรให้ความสำคัญ สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีรายงานควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมนั้น มีการใช้ราปฏิปักษ์ เช่น *Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* และ *Trichoderma* spp. เป็นต้น (Saksirirat, 2017) ทั้งนี้พบว่าในต่างประเทศมีการใช้ทั้งรา *P. lilacinus* และรา *B. bassiana* ซึ่งให้ผลดีใกล้เคียงกัน โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Ekanayake and Jayasundara, 1994) ส่วนในประเทศไทยมีการนำรา *P. lilacinus* บางรูปการค้ำมาใช้ และมีจุดเน้นเพื่อควบคุมโรครากปมของมันสำปะหลัง โดยทดสอบในระดับแปลงปลูกที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปม ซึ่งพบว่าการใช้สารเคมี oxamyl, carbofuran และรา *P. lilacinus* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากปมของมันสำปะหลังดีกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Lertsuchatavanich, 2015) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังที่อ่อนแอสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้ำในการควบคุมโรค

รากปมของมันสำปะหลังในสภาพเรือนทดลอง สำหรับการนำไปใช้โดยตรงหรือประยุกต์ใช้ในสภาพไร่ด้วยวิธีการผสมผสานเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป รวมทั้งเป็นข้อมูลประกอบสำหรับการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเปรียบเทียบพันธุ์มันสำปะหลังต่อการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม

1.1 พันธุ์มันสำปะหลัง

พันธุ์มันสำปะหลังที่นำมาศึกษาเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกจำนวน 10 พันธุ์ ได้แก่ ระยะเวลา 5, 7, 9, 11, 13, 72 และ 90, เกษตรศาสตร์ 50, ห้วยบง 60 และ 80 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเขต 3 จังหวัดขอนแก่น

1.2 การเตรียมดินและต้นมันสำปะหลัง

นำดินร่วนผสมกับทรายในอัตราส่วน 1 : 1 สำหรับใช้ทดสอบในข้อ 1 และดินร่วนผสมดินทรายผสมพีทมอสในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 สำหรับใช้ทดสอบในข้อ 2 บรรจุในถุงพลาสติกทึบร้อน และนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำมาบรรจุกระถาง (Ø15 เซนติเมตร) ปลูกมันสำปะหลังทุกพันธุ์ลงในกระถางที่มีดิน 1 ต้นต่อ 1 กระถาง โดยใช้ท่อนพันธุ์ความยาว 20 เซนติเมตร ให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 2 กรัมต่อต้นต่อกระถาง หลังการปลูกรดน้ำ 1 ครั้งต่อวัน เพื่อใช้สำหรับในการทดลองข้อ 1 และ 2

1.3 การแยกและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม

เก็บตัวอย่างโรครากปมของมันสำปะหลังที่มีสาเหตุมาจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จากแปลงของเกษตรกร ในพื้นที่อำเภอยางตลาด จังหวัดกาฬสินธุ์ นำตัวอย่างรากที่เป็นปมมาแยกกลุ่มไข่เดี่ยว ๆ ที่เป็นไข่แก่และมีสีน้ำตาล แล้วนำไปเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมนี้ โดยใช้มะเขือเทศพันธุ์สีดา เพื่อใช้เตรียมไข่และสารแขวนลอยไข่ไส้เดือนฝอยรากปมสำหรับใช้ทดลองการทดลอง (ประยุกต์ตามวิธีการของ Chupraphawan et al., 2007)

1.4 การเปรียบเทียบพันธุ์มันสำปะหลังต่อการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม

นำมันสำปะหลังทั้ง 10 พันธุ์ที่มีอายุ 21 วันซึ่งปลูกในกระถางตามข้อ 1.2 มาราดด้วยไข่ไส้เดือนฝอยที่เตรียมตามข้อ 1.3 ในอัตราไข่ 3,000 ฟองต่อกระถาง (ประยุกต์ตาม Kagoda *et al.*, 2004; Tangchitsomkid *et al.*, 2015; van Vuuren and Woodward, 2001) สำหรับกรรมวิธีควบคุม คือ มันสำปะหลัง 10 พันธุ์ที่ไม่มีการราดไข่ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) มีทั้งหมด 20 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ (กระถาง) วางกระถางให้ห่างกันประมาณ 25 เซนติเมตร เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน รดน้ำวันละ 1 ครั้ง ตรวจสอบผลหลังจากการราดไข่ 45 วัน โดยมีกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

กรรมวิธีควบคุมที่ 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 และ 19 คือมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5, 7, 9, 11, 13, 72 และ 90, เกษตรศาสตร์ 50, ห้วยบง 60 และ 80 ที่ไม่มีการราดไข่ไส้เดือนฝอย ตามลำดับ

กรรมวิธีทดลองที่ 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 คือมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5, 7, 9, 11, 13, 72 และ 90, เกษตรศาสตร์ 50, ห้วยบง 60 และ 80 ที่มีการราดไข่ไส้เดือนฝอย ตามลำดับ

หลังจากการราดไข่ได้ 45 วัน บันทึกข้อมูลตัวชี้วัดปริมาณไส้เดือนฝอย (quantitative nematode parameters) ได้แก่ จำนวนปมต่อระบบราก (ซึ่งใช้เป็นเกณฑ์หลักในการประเมินตัวชี้วัดปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมเพื่อบ่งบอกถึงความรุนแรง) ประยุกต์ตาม Begum *et al.* (2014) และ Tangchitsomkid *et al.* (2015) จำนวนไข่ต่อราก 1 กรัม และจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียต่อราก 1 กรัม โดยการย้อมสีตัวเต็มวัยเพศเมียด้วย acid fuchsin ตามวิธีการของ Byrd *et al.* (1983) และตัวชี้วัดการเจริญเติบโตของพืช (growth parameters) ได้แก่ ความสูงของต้น น้ำหนักต้นและรากสด และน้ำหนักรากสด ดำเนินการทดลองในฤดูร้อน (16 มีนาคม - 1 พฤษภาคม 2561) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่บันทึก (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. การทดสอบประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้ำต่อไส้เดือนฝอยรากปมของมันสำปะหลัง

2.1 ราปฏิปักษ์รูปการค้ำ

รวบรวมราปฏิปักษ์รูปการค้ำที่สำคัญ 4 ชนิดเพื่อทดสอบการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ได้แก่ Product 1 (รา *Beauveria bassiana*) อัตราแนะนำในการใช้ 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, Product 2 (รา *Paecilomyces lilacinus*) Product 3 (รา *Metarhizium anisopliae*) อัตราแนะนำในการใช้ 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ Product 4 (รา *Trichoderma harzianum*) อัตราแนะนำในการใช้ 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อมีการใช้จึงนำราปฏิปักษ์รูปการค้ำใส่ลงในน้ำในอัตราแนะนำ แล้วราดลงที่โคนต้นมันสำปะหลัง 250 มิลลิลิตรต่อต้น

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้ำ

ทดสอบราปฏิปักษ์รูปการค้ำทั้ง 4 ชนิด และสารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอย carbosulfan โดยใช้ตามอัตราที่แนะนำไว้ในฉลาก วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 19 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ (กระถาง) โดยมีรายละเอียดของกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1, 2, 3 และ 4 คือ มันสำปะหลัง + Product 1 (รา *B. bassiana*), Product 2 (รา *P. lilacinus*), Product 3 (รา *M. anisopliae*) และ Product 4 (รา *T. harzianum*) ก่อนการราดไข่ไส้เดือนฝอย 7 วัน ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 5, 6, 7 และ 8 คือ มันสำปะหลัง + Product 1 (รา *B. bassiana*), Product 2 (รา *P. lilacinus*), Product 3 (รา *M. anisopliae*) และ Product 4 (รา *T. harzianum*) ก่อนการราดไข่ไส้เดือนฝอย 5 วัน ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 9, 10, 11 และ 12 คือ มันสำปะหลัง + Product 1 (รา *B. bassiana*), Product 2 (รา *P. lilacinus*), Product 3 (รา *M. anisopliae*) และ Product 4 (รา *T. harzianum*) ก่อนการราดไข่ไส้เดือนฝอย 3 วัน ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 13, 14, 15 และ 16 คือ มันสำปะหลัง + Product 1 (รา *B. bassiana*), Product 2 (รา *P. lilacinus*), Product 3 (รา *M. anisopliae*) และ Product 4 (รา *T. harzianum*) ก่อนการราดไข่ไส้เดือนฝอย 0 วัน ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 17 มันสำปะหลัง + ราดไข่ไส้เดือนฝอย + สารเคมี carbosulfan

กรรมวิธีที่ 18 มันสำปะหลัง + ราดไข่ไส้เดือนฝอย (กรรมวิธีควบคุม 1)

กรรมวิธีที่ 19 มันสำปะหลังอย่างเดียว (กรรมวิธีควบคุม 2)

เตรียมท่อนพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมที่ได้จากการทดลองที่ 1.4) ปลูกลงในกระถาง ตามวิธีเดียวกันกับข้อ 1.2 เมื่อมันสำปะหลังมีอายุครบ 14 วัน จึงปลูกรากปฏิปักษ์ในกรรมวิธีที่ 1-4 โดยซึ่งรากปฏิปักษ์รูปการค้าทั้ง 4 ชนิด ตามอัตราที่ใช้ ซึ่งระบุไว้ในฉลากผลิตภัณฑ์ แล้วรดน้ำที่โคนต้นมันสำปะหลัง 250 มิลลิลิตร ต่อต้น หลังจากนั้น 2 วัน ปฏิบัติเช่นเดียวกันสำหรับกรรมวิธีที่ 5-8 อีก 2 วันปฏิบัติเช่นเดียวกันสำหรับกรรมวิธีที่ 9+12 และต่อมาอีก 3 วันปฏิบัติเช่นเดียวกันสำหรับกรรมวิธีที่ 13+16 และในกรรมวิธีที่ 17 ใส่สารเคมี carbosulfan ในอัตราแนะนำ 2.5 กรัมต่อต้น ใส่สารแขวนลอยไข่ไส้เดือนฝอยรากปมรอบโคนต้นมันสำปะหลังปริมาณไข่ 3,000 ฟองต่อต้นต่อกระถาง ในกรรมวิธีที่ 1-18 แต่ละกรรมวิธีทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ ๆ ละกระถาง แต่ละกระถางปลูกรากมันสำปะหลัง 1 ต้น โดยมีชุด

ควบคุม ได้แก่ กรรมวิธีที่ 18 ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปมอย่างเดียว และกรรมวิธีที่ 19 ไม่มีการราดรากปฏิปักษ์ใด ๆ และไม่มีการใช้สารเคมี carbosulfan รวมทั้งไม่มีการราดไข่ไส้เดือนฝอยรากปม คู่มือรักษาต้นมันสำปะหลัง เช่นเดียวกับข้อ 1.2

ประเมินประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้าและสารเคมี carbosulfan ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมของมันสำปะหลังหลังจากการราดไข่ 45 วัน บันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 1.4 แต่เป็นการเก็บข้อมูลจำนวนกลุ่มไข่ต่อระบบรากแทน (ประยุกต์ตามกรรมวิธีของ Begum *et al.*, 2014 และ Tangchitsomkid *et al.*, 2015)

ผลการศึกษา

1. การเปรียบเทียบพันธุ์มันสำปะหลังต่อการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม

ผลการทดสอบพบว่ามันสำปะหลังทั้ง 10 พันธุ์หลังการราดไข่ไส้เดือนฝอยรากปม 45 วัน (Table 1) นั้นไม่แสดงอาการผิดปกติในส่วนเหนือดินให้เห็น รวมทั้งอาการใบเหี่ยวเหลืองหรืออาการแคระแกร็น จึงไม่สามารถ

Table 1. Number of galls/root system, number of eggs/g root, number of female adults/g root, shoot height, shoot and root fresh weight and root fresh weight of different cassava varieties inoculated with root-knot nematode *Meloidogyne incognita*

Cassava varieties	Galls/root system		Eggs/g root		Female adults/g root		Shoot height (cm)		Shoot and root fresh weight (g)		Root fresh weight (g)	
	Control	Inoculation	Control	Inoculation	Control	Inoculation	Control	Inoculation	Control	Inoculation	Control	Inoculation
Rayong 5	0 d	159.67 ab	0 d	34.88 a	0 d	82.66 a	50.33 a	38.67 bcd	126.60 a	80.10 cde	7.49 bcd	6.92 bcd
Rayong 7	0 d	91.33 bc	0 d	13.21 c	0 d	60.66 abc	39.83 bcd	32.5 def	99.30 ab	40.80 h	7.21 bcd	7.33 bcd
Rayong 9	0 d	168.33 a	0 d	26.57 ab	0 d	83.00 a	48.67 a	45.23 ab	67.70 def	83.20 bcde	6.55 bcd	7.11 bcd
Rayong 11	0 d	117.00 abc	0 d	15.72 bc	0 d	54.00 abc	50.67 a	45.00 abc	126.20 a	107.80 ab	11.28 a	8.32 b
Rayong 13	0 d	53.66 cd	0 d	11.34 c	0 d	46.33 bc	38.17 bcd	36.17 de	63.20 efg	67.30 ef	4.83 d	5.76 bcd
Rayong 72	0 d	142.00 ab	0 d	18.13 bc	0 d	71.00 ab	37.00 cd	38.27 bcd	95.60 bc	83.60 bcde	6.41 bcd	8.05 bc
Rayong 90	0 d	60.00 cd	0 d	14.62 c	0 d	44.66 bc	35.27 de	27.03 f	53.30 fgh	46.80 gh	6.31 bcd	5.36 cd
Kasetsart 50	0 d	59.33 cd	0 d	12.20 c	0 d	36.33 c	40.03 bcd	35.00 def	80.80 cde	65.80 efg	6.69 bcd	6.25 bcd
Huay Bong 60	0 d	104.00 abc	0 d	14.31 c	0 d	55.00 abc	38.33 bcd	34.30 def	69.90 efg	64.30 efg	7.93 bc	6.12 bcd
Huay Bong 80	0 d	62.66 cd	0 d	10.59 cd	0 d	52.00 bc	28.27 ef	32.87 def	97.40 bc	88.50 bc	5.54 bcd	5.73 bcd
F-test	**		**		**		**		**		**	
C.V. (%)	46.99		41.39		33.66		6.7		10.02		13.72	

Means followed by the same letter(s) in the columns of control and inoculation are not significantly different ($P>0.05$, DMRT)

ประเมินด้วยสายตาว่าพันธุ์ใดอ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปม เมื่อนำรากมันสำปะหลังมาตรวจสอบ เพื่อประเมินพันธุ์มันสำปะหลังในสภาพที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยจากตัวชี้วัดปริมาณไส้เดือนฝอย แสดงให้เห็นว่าพันธุ์มันสำปะหลังกรรมวิธีที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยมากที่สุด ได้แก่ พันธุ์ระยอง 9 (168.33 ปม) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ระยอง 5 (159.67 ปม), ระยอง 72 (142.00 ปม), ระยอง 11 (117.00 ปม) และห้วยบง 60 (104.00 ปม) แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) กับพันธุ์ระยอง 7 (91.33 ปม), ห้วยบง 80 (62.66 ปม), ระยอง 90 (60.00 ปม), เกษตรศาสตร์ 50 (59.33 ปม) และ ระยอง 13 (53.66 ปม) ส่วนกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยทั้งหมด 10 พันธุ์นั้นไม่พบการเกิดปมใด ๆ เลย

ส่วนพันธุ์มันสำปะหลังในกรรมวิธีที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยที่มีจำนวนไข่ต่อราก 1 กรัมมากที่สุด ได้แก่ พันธุ์ระยอง 5 (34.88 ฟอง) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ระยอง 9 (26.57 ฟอง) แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) กับพันธุ์ระยอง 72 (18.13 ฟอง), ระยอง 11 (15.72 ฟอง), ระยอง 90 (14.62 ฟอง), ห้วยบง 60 (14.31 ฟอง), ระยอง 7 (13.21 ฟอง), เกษตรศาสตร์ 50 (12.20 ฟอง), ระยอง 13 (11.34 ฟอง) และห้วยบง 80 (10.59 ฟอง) โดยไม่พบไข่ไส้เดือนฝอยรากปมในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยหลังจาก 10 พันธุ์

สำหรับจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียต่อราก 1 กรัม นั้น พันธุ์ที่มีจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียมากที่สุดและรองลงมาตามลำดับโดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 9 (83.00 ตัว), ระยอง 5 (82.66 ตัว), ระยอง 72 (71.00 ตัว), ระยอง 7 (60.66 ตัว), ห้วยบง 60 (55.00 ตัว) และระยอง 11 (54.00 ตัว) แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) กับพันธุ์ห้วยบง 80 (52.00 ตัว), ระยอง 13 (46.33 ตัว), ระยอง 90 (44.66 ตัว) และเกษตรศาสตร์ 50 (36.33 ตัว) และสำหรับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยทั้งหมด 10 พันธุ์นั้น ไม่พบตัวเต็มวัยเพศเมีย

ในกรณีที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอย ความสูงของต้นนั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 27.03-45.23 เซนติเมตร มันสำปะหลังที่มีความสูงที่สุด ได้แก่พันธุ์ระยอง 9 ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ระยอง 11 (45.00 เซนติเมตร), ระยอง 5 (38.67 เซนติเมตร) และระยอง 72 (38.27

เซนติเมตร) ส่วนกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการระบาดของไส้เดือนฝอย พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 28.27-50.67 เซนติเมตร โดยพันธุ์ที่มีความสูงมากที่สุดคือระยอง 11 และพันธุ์ที่มีความสูงต่ำที่สุดคือห้วยบง 80

สำหรับน้ำหนักต้นและรากสดในกรณีที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอย มีค่าอยู่ระหว่าง 40.80-107.80 กรัม พบว่าที่มีค่ามากที่สุดคือ พันธุ์ระยอง 11 ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ห้วยบง 80 (88.50), ระยอง 72 (83.60) และระยอง 9 (83.20) ส่วนพันธุ์ที่มีค่าต่ำที่สุดคือระยอง 7 ทั้งนี้กรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 53.30-126.60 กรัม โดยพันธุ์ที่มีน้ำหนักมากที่สุดคือระยอง 5 และพันธุ์ที่มีน้ำหนักต่ำที่สุดคือระยอง 90

ส่วนน้ำหนักรากสดในกรณีที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอย มีค่าอยู่ระหว่าง 5.36-8.32 กรัม โดยพบว่าพันธุ์ระยอง 11 มีค่ามากที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ระยอง 72 (8.05 กรัม), ระยอง 7 (7.33 กรัม), ระยอง 9 (7.11 กรัม), ระยอง 5 (6.92 กรัม), เกษตรศาสตร์ 50 (6.25 กรัม), ห้วยบง 60 (6.12 กรัม), ระยอง 13 (5.76 กรัม) และห้วยบง 80 (5.73 กรัม) ทั้งนี้พันธุ์ที่มีน้ำหนักน้อยที่สุดคือระยอง 90 ส่วนกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 4.83-11.28 กรัม ทั้งนี้พันธุ์ที่มีน้ำหนักรากมากที่สุดได้แก่ พันธุ์ระยอง 11 และน้อยที่สุดคือพันธุ์ระยอง 13

ซึ่งเมื่อประเมินจากตัวชี้วัดปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมจากค่าของจำนวนปมต่อระบบรากเป็นประเด็นหลัก มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 มีความอ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปมมากที่สุด จึงเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดต่อการนำมาใช้ทดสอบประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้ำต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* นอกจากจำนวนปมต่อระบบรากแล้ว จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวนไข่ต่อรากและจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียต่อราก 1 กรัมก็ให้ผลในทางตรงกันอย่างแน่นอน

2. การทดสอบประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้ำต่อโรครากปมของมันสำปะหลัง

จากการใช้ราปฏิปักษ์รูปการค้ำ 4 ชนิด (รา *B. bassiana*, รา *P. lilacinus*, รา *M. anisopliae* และ รา *T. harzianum*) เพื่อควบคุมโรครากปมของมันสำปะหลัง

ในสภาพเรือนทดลองในฤดูร้อน เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี carbosulfan และการไม่ใช้ราปฏิปักษ์ ซึ่งแสดงใน Table 2 พบว่า การใช้ราปฏิปักษ์ 4 ชนิด ทั้งที่ 7, 5, 3 และ 0 วัน ก่อนการราดไข่ไส้เดือนฝอย (กรรมวิธีที่ 1-16) และการใช้สารเคมี carbosulfan (กรรมวิธีที่ 17) เมื่อประเมินจากตัวชี้วัดปริมาณไส้เดือนฝอยนั้น พบว่า มีจำนวนกลุ่ม

ไข่ต่อระบบรากอยู่ระหว่าง 60.35-276.80 กลุ่มไข่ ซึ่งมีค่าน้อยกว่ากรรมวิธีที่ 18 (กรรมวิธีควบคุม 1, มีการราดไข่ไส้เดือนฝอยเพียงอย่างเดียว โดยไม่มีการใช้ทั้งราปฏิปักษ์และสารเคมี) ที่มีจำนวนมากที่สุด (696.96 กลุ่มไข่) ซึ่งสามารถลดจำนวนกลุ่มไข่ลงได้ 60.28-91.34 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้การใช้รา *T. harzianum* ที่ 7 วัน ก่อนการราด

Table 2. Efficiency of commercial products of antagonistic fungi on infection of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and growth parameters of cassava plants tested in warm season (March 16th - May 1st, 2018)

Treatment	Egg masses/root system (egg mass)	Eggs/g root	Female adults /g root	Shoot height (cm)	Shoot and root fresh weight (g)	Root fresh weight (g)	Reduction of egg masses (%) ¹
1. Product 1 (7 days) + RKN eggs	179.60 bc	27.60 b	11.63 cde	22.03 c	133.80 abc	22.20 abc	74.23
2. Product 2 (7 days) + RKN eggs	194.46 bc	10.46 bcd	7.88 efgh	23.80 abc	149.06 abc	29.47 abc	72.10
3. Product 3 (7 days) + RKN eggs	195.62 bc	18.62 bcd	8.00 defgh	27.00 a	174.92 ab	26.82 abc	71.93
4. Product 4 (7 days) + RKN eggs	60.35 cd	5.54 cd	4.13 h	23.50 bc	135.43 abc	24.33 abc	91.34
5. Product 1 (5 days) + RKN eggs	154.90 bc	8.91 bcd	9.63 cdef	25.75 ab	177.77 a	27.89 abc	77.77
6. Product 2 (5 days) + RKN eggs	250.55 b	17.49 bcd	16.50 b	23.50 bc	144.49 abc	25.04 abc	64.05
7. Product 3 (5 days) + RKN eggs	211.40 bc	8.03 cd	6.00 fgh	24.73 abc	179.72 a	35.05 a	69.67
8. Product 4 (5 days) + RKN eggs	154.02 bc	23.08 bc	12.00 cde	23.13 bc	125.47 abc	18.013 c	77.90
9. Product 1 (3 days) + RKN eggs	276.80 b	15.92 bcd	13.13 bc	22.13 c	146.46 abc	29.10 abc	60.28
10. Product 2 (3 days) + RKN eggs	197.84 bc	20.91 bc	12.50 bcd	22.50 bc	135.98 abc	20.04 bc	71.61
11. Product 3 (3 days) + RKN eggs	185.03 bc	6.96 cd	10.75 cde	25.00 abc	161.68 abc	34.14 ab	73.45
12. Product 4 (3 days) + RKN eggs	177.68 bc	21.29 bc	10.88 cde	24.25 abc	136.08 abc	20.67 abc	74.50
13. Product 1 (0 day) + RKN eggs	171.77 bc	19.58 bc	8.63 cdefg	23.75 abc	129.77 abc	20.95 abc	75.35
14. Product 2 (0 day) + RKN eggs	163.05 bc	19.95 bc	9.50 cdef	22.10 c	129.62 abc	20.99 abc	76.61
15. Product 3 (0 day) + RKN eggs	175.35 bc	12.13 bcd	7.63 efgh	23.38 bc	147.95 abc	25.49 abc	74.84
16. Product 4 (0 day) + RKN eggs	238.32 b	10.04 bcd	7.75 efgh	24.50 abc	159.92 abc	32.09 abc	65.81
17. Nematicide (carbosulfan) (0 day)	76.37 cd	12.74 bcd	4.75 gh	23.25 bc	104.34 c	17.92 c	89.04
18. Control 1 + RKN eggs	696.96 a	92.24 a	39.75 a	18.75 d	116.89 bc	19.23 c	0
19. Control 2 (No RKN eggs)	0.00 d	0.00 d	0.00 i	22.25 bc	134.03 abc	22.56 abc	-
F-test	**	**	**	**	**	**	
C.V. (%)	46.40	60.46	25.78	8.85	24.02	34.55	

Means followed by the same letter(s) in the same column are not significantly different ($P>0.05$, DMRT).

RKN eggs = inoculation with root-knot nematode eggs, Product 1 = *Beauveria bassiana*, Product 2 = *Paecilomyces lilacinus*, Product 3 = *Metarhizium anisopliae*, Product 4 = *Trichoderma harzianum*

¹ Reduction of egg masses = $\frac{\text{No. egg masses from control 1} - \text{No. egg masses from treatment}}{\text{No. egg masses from control 1}} \times 100$

No. egg masses from control 1

ไข่ได้เดือนฝอย (กรรมวิธีที่ 4) ควบคุมไข่เดือนฝอยได้ดีที่สุด ซึ่งมีจำนวนกลุ่มไข่น้อยที่สุด (60.35 กลุ่มไข่) ทั้งนี้สามารถลดการเกิดปมลงถึง 91.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม 1 รองลงมาคือการใช้สารเคมี carbosulfan (กรรมวิธีที่ 17, 76.37 กลุ่มไข่) โดยทั้ง 2 กรรมวิธีนี้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ซึ่งทุกกรรมวิธีที่มีการใช้ราปฏิปักษ์และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี carbosulfan นั้น มีประสิทธิภาพพออย่างชัดเจน ($P < 0.05$) ในการควบคุมไข่เดือนฝอย

เมื่อพิจารณาจากการตรวจนับจำนวนไข่ต่อราก 1 กรัม นั้น พบว่าการใช้รา *T. harzianum* ที่ 7 วัน ก่อนการราดไข่ได้เดือนฝอย (กรรมวิธีที่ 4) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมไข่เดือนฝอย โดยพบเพียง 5.54 ฟอง ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกรรมวิธีที่ไม่มีการควบคุมใด ๆ (กรรมวิธีที่ 18, 92.24 ฟอง/ราก 1 กรัม) และ การใช้รา *B. bassiana* ที่ 7 วัน ก่อนการราดไข่ได้เดือนฝอย (กรรมวิธีที่ 1, 27.60 ฟอง/ราก 1 กรัม) แต่กรรมวิธีที่ 4 นี้ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้ราปฏิปักษ์อื่น ๆ ที่เหลือและสารเคมี carbosulfan ซึ่งมีประสิทธิภาพโดยเรียงจากมากไปหาน้อย ได้แก่กรรมวิธีที่ 11, 7, 5, 16, 2, 15, 17, 9, 6, 3, 13, 14, 10, 12 และ 8 ตามลำดับ

สำหรับจำนวนตัวเต็มวัยเพศเมียต่อราก 1 กรัม นั้น พบว่ากรรมวิธีที่ 18 (กรรมวิธีควบคุม 1) มีจำนวนไข่เดือนฝอยมากที่สุด 39.75 ตัว ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกรรมวิธีอื่น ๆ ทั้งหมด ในขณะที่การใช้รา *T. harzianum* ที่ 7 วัน (กรรมวิธีที่ 4) มีประสิทธิภาพดีที่สุด ซึ่งให้ค่าตัวเต็มวัยเพศเมียน้อยที่สุด 4.13 ตัว โดยไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีรองลงมาคือการใช้สารเคมี carbosulfan (กรรมวิธีที่ 17) 4.75 ตัวและกรรมวิธีที่มีการใช้ราปฏิปักษ์อื่น ๆ (เรียงจำนวนจากน้อยไปหามากคือกรรมวิธีที่ 7, 15, 16, 2 และ 3 ตามลำดับ)

ส่วนตัวชี้วัดการเจริญเติบโตของพืชนั้น พบว่าความสูงของต้นในกรรมวิธีที่ 3 ซึ่งใช้รา *M. anisopliae* 7 วันก่อนการราดไข่มีความสูงของต้นสูงที่สุด (27.00 เซนติเมตร) โดยไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้ราปฏิปักษ์กรรมวิธีอื่นซึ่งให้ค่ารองลงมาตามลำดับคือ กรรมวิธีที่ 5, 11, 7, 16, 12, 2 และ 13 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติกับการใช้ราปฏิปักษ์กรรมวิธีอื่น ๆ นอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้วข้างต้นและสารเคมี carbosulfan รวมทั้งกับกรรมวิธีควบคุม 1 (กรรมวิธีที่ 18) ซึ่งมีความสูงของต้นน้อยที่สุด (18.75 เซนติเมตร) สำหรับน้ำหนักต้นและรากสดพบว่า การใช้รา *M. anisopliae* (กรรมวิธีที่ 7, 5 วัน ก่อนการราดไข่) ให้ค่าน้ำหนักต้นและรากสดมากที่สุด (179.72 กรัม) รองลงมาคือการใช้รา *B. bassiana* (กรรมวิธีที่ 5, 177.77 กรัม) ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีดังกล่าวนี้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี carbosulfan (กรรมวิธีที่ 17) และกรรมวิธีควบคุม 1 (กรรมวิธี 18) ในขณะที่น้ำหนักรากสดนั้น การใช้รา *M. anisopliae* (กรรมวิธีที่ 7) ทำให้มีน้ำหนักมีน้ำหนักรากสดมากที่สุด (35.05 กรัม) ซึ่งกรรมวิธีที่ 11 (รา *M. anisopliae*, 34.14 กรัม) ให้ผลใกล้เคียงรองลงมาและไม่แตกต่างกันทางสถิติ อีกทั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ยกเว้นกรรมวิธีที่ 10 (รา *P. lilacinus*), 18 (กรรมวิธีควบคุม 1), 8 (รา *T. harzianum*) และโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรรมวิธีที่ 17 (สารเคมี carbosulfan) ซึ่งมีน้ำหนักรากสดต่ำที่สุดตามลำดับ

วิจารณ์

จากการทดสอบพันธุ์มันสำปะหลังทั้ง 10 พันธุ์ในสภาพการราดไข่ได้เดือนฝอยรากปม พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังที่มีจำนวนปมต่อระบบรากมากที่สุดคือพันธุ์ระยอง 9 (168.3 ปม) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ระยอง 5, 72, 11 และห้วยบง 60 ส่วนมันสำปะหลังที่มีจำนวนปมน้อยที่สุดคือพันธุ์ระยอง 13 แสดงให้เห็นว่ามันสำปะหลังที่มีความอ่อนแอต่อไข่เดือนฝอยรากปม คือพันธุ์ระยอง 9 เมื่อประเมินจากตัวชี้วัดปริมาณไข่เดือนฝอยโดยใช้จำนวนปมต่อระบบรากเป็นเกณฑ์ พบว่าพันธุ์อ่อนแอให้ผลไม่สอดคล้องกับรายงานของกรมวิชาการเกษตร ที่รายงานว่ามันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 72 เป็นหนึ่งในพันธุ์ต้านทานไข่เดือนฝอยรากปม (Office of Expert, Department of Agriculture, 2019; Tangchitsomkid et al., 2015) แต่ในการศึกษาค้นครั้งนี้พันธุ์ระยอง 72 มีแนวโน้มเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอซึ่งอยู่ในลำดับต้น ๆ โดยมีค่าตัวชี้วัด

ปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมจำนวนรองลงมาจากพันธุ์ระยอง 9 และระยอง 5 ซึ่งการทดสอบครั้งนี้เป็นการทดสอบเบื้องต้นในเรือนทดลองที่มีการรดน้ำไส้เดือนฝอยรากปมที่มีความสม่ำเสมอ โดยมุ่งหวังให้ได้พันธุ์อ่อนแอที่สุดสำหรับสำหรับใช้ทดสอบประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์ต่อไป ซึ่งมีโอกาสให้ผลที่ไม่เหมือนกันจากการทดสอบในสภาพที่แตกต่างกันเช่น สายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย ความเข้มข้นของน้ำ สภาพพื้นที่และดินทดลอง ฤดูกาล ตลอดจนอายุของพืช เป็นต้น อย่างไรก็ตาม สำหรับพันธุ์ระยอง 9 นั้นก็ให้ผลที่สอดคล้องกับรายงานของกรมวิชาการเกษตร (Office of Expert, Department of Agriculture, 2019; Tangchitsomkid *et al.*, 2015) ที่จัดเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปม ทั้งนี้ได้คัดเลือกพันธุ์ระยอง 9 ไปทดสอบการควบคุมโรครากปมนี้ด้วยราปฏิปักษ์รูปการค้ำ เพื่อให้ผลที่มีความชัดเจนสำหรับการนำมาประยุกต์ใช้โดยวิธีวิธีเช่นราปฏิปักษ์กับพันธุ์อื่น ๆ รวมทั้งในสภาพไร่อต่อไป สำหรับพันธุ์ที่แข็งแรงเมื่อประเมินจากค่าตัวชี้วัดที่สำคัญ (จำนวนปมต่อระบบราก) และมีค่าแตกต่างกันทางสถิติกับพันธุ์อ่อนแอแล้วพันธุ์แข็งแรงที่มีค่าตัวชี้วัดดังกล่าวอยู่ในกลุ่มน้อย - น้อยที่สุด 3 ลำดับ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 13, เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 90 ตามลำดับ จึงเป็นพันธุ์ที่น่าสนใจ เพื่อการนำไปศึกษาต่อไปในสภาพไร่อที่ความแตกต่างกันเช่น พื้นที่ชนิดดิน และฤดูกาล เป็นต้น

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์รูปการค้ำ 4 ชนิด เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีกำจัดไส้เดือนฝอย carbosulfan และการไม่ใช้ทั้งราปฏิปักษ์และสารเคมี carbosulfan (กรรมวิธีควบคุม 1, กรรมวิธีที่ 18) ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 โดยเป็นพันธุ์อ่อนแอที่สุดจากการคัดเลือกนี้ต่อการเข้าทำลายในสภาพเรือนทดลอง ซึ่งทำการทดสอบในฤดูร้อน พบว่าการใช้ราปฏิปักษ์รูปการค้ำทั้ง 4 ชนิดและสารเคมี carbosulfan มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ไม่ว่าจะเป็นการใช้ที่ 7, 5, 3 และ 0 วัน ก่อนการรดน้ำ โดยสามารถลดการเกิดปมลงได้ 60.28-91.34 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้การใช้รา *T. harzianum* 7 วัน ก่อนการรดน้ำ ทำให้ตัวชี้วัดปริมาณไส้เดือนฝอย มีค่าน้อยกว่าในกรรมวิธีอื่น ๆ ทั้งหมดที่มีการทดสอบกับ

ไส้เดือนฝอย (ลดการเกิดปมได้สูงที่สุด 91.34 เปอร์เซ็นต์) การใช้รา *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดังนี้ อาจเนื่องจากมีกลไกในการเป็นปฏิปักษ์ต่อไส้เดือนฝอยได้หลายอย่าง อาทิ การทำลายไข่ ที่เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase (Sahebani and Hadavi, 2008) และ protease (Sharon *et al.*, 2001) หรือแม้แต่การมีคุณสมบัติของการเจริญครอบคลุมรากพืชและกระตุ้นความต้านทานโรคพืช (induced systemic resistance) ได้ (Martinez-Medina *et al.*, 2016; Saksirirat, 2017) รวมทั้งการสร้างสารที่เป็นพิษต่อไส้เดือนฝอยเช่น 6-pentyl- α -pyrone เป็นต้น (Tranier *et al.*, 2014) สำหรับค่าตัวชี้วัดการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังที่ได้นั้น พบว่ากรรมวิธีควบคุม 1 มีความสูงของต้นน้อยที่สุด และมีน้ำหนักต้นและรากสดอยู่ในระดับต่ำเกือบที่สุด ในขณะที่การใช้รา *M. anisopliae* ต่างกรรมวิธีทำให้ต้นมันสำปะหลังมีความสูง รวมทั้งน้ำหนักต้นและรากสดอยู่ในระดับมาก - มากที่สุด ส่วนน้ำหนักรากสด กรรมวิธีควบคุม 1 นั้น ก็ตรวจพบไส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลายราก แต่ไม่แสดงอาการรากปมที่ชัดเจน ซึ่งอาจเนื่องมาจากการประเมินผลมันสำปะหลังที่อายุ 45 วัน หลังการรดน้ำ ทั้งนี้ Lertsuchatavanich (2015) ได้รายงานว่าการพัฒนาการโรครากปมของมันสำปะหลังนั้นจะสังเกตได้ชัดเจนที่บริเวณรากฝอย เมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 6 เดือน ดังนั้นน้ำหนักรากสดจึงมีโอกาสใกล้เคียงโดยไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีต่าง ๆ ซึ่งมีประสิทธิภาพ (การใช้ราปฏิปักษ์ส่วนใหญ่และสารเคมี carbosulfan) นอกจากนั้นการใช้ราปฏิปักษ์ยังให้ผลดี เช่น การเป็นราเอนโดไฟต์ (endophyte) ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช โดยมีราปฏิปักษ์หลายชนิดที่เป็นเอนโดไฟต์ (endophytic fungi) ซึ่งมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ทั้งนี้ Greenfield *et al.* (2016) ได้รายงานเป็นครั้งแรกว่ารา *B. bassiana* และรา *M. anisopliae* เป็นราเอนโดไฟต์ในมันสำปะหลัง โดยมีการเจริญครอบคลุมรากมันสำปะหลังได้มากที่บริเวณโคนรากมากกว่าปลายราก ซึ่งรา *M. anisopliae* นั้นมีความสามารถในการอาศัยอยู่ในต้นได้ยาวนานและดีกว่ารา *B. bassiana* อีกทั้งการใช้สารเคมี carbosulfan หรือแม้แต่กรรมวิธีควบคุม 2 (กรรมวิธีที่ 19, ไม่มีการใช้รา

ปฏิบัติไม่มีการใช้สารเคมี carbosulfan และไม่มีการราดไข่ได้เดือนฝอย) นั้น ยังให้ค่าตัวชี้วัดการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังที่มากในระดับไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้ราปฏิบัตินำการควบคุมวิธีอื่น ๆ ส่วนใหญ่ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของราปฏิบัตินำการควบคุมที่ควรพิจารณาเพื่อขยายผลการศึกษต่อไป

สรุป

การทดสอบพันธุ์มันสำปะหลังที่นิยมปลูกจำนวน 10 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ระยะของ 5, 7, 9, 11, 13, 72 และ 90, เกษตรศาสตร์ 50 หัวบง 60 และ 80 ต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *M. inognita* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่ามันสำปะหลังพันธุ์ที่อ่อนแอต่อไส้เดือนฝอยรากปมมากที่สุดคือ พันธุ์ระยะของ 9 เมื่อนำราปฏิบัตินำการควบคุม 4 ชนิด (รา *B. bassiana*, รา *P. lilacinus*, รา *M. anisopliae* และ รา *T. harzianum*) มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในมันสำปะหลังพันธุ์ระยะของ 9 พบว่าราปฏิบัตินำการควบคุม *T. harzianum* มีประสิทธิภาพเทียบเท่าสารเคมี carbosulfan ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในสภาพเรือนทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเขต 3 จังหวัดขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ก่อนพันธุ์มันสำปะหลัง ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน และกลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไหมปาและแมลงสำคัญทางเศรษฐกิจเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยบางส่วน รวมทั้งการให้ความอนุเคราะห์การใช้ครุภัณฑ์และอุปกรณ์ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Begum, K., N. Hasan, S. Khandker, F.M. Aminuzzaman, M. Asaduzzaman and N. Akhtar. 2014.

Evaluation of brinjal cultivars (*Solanum melongena*) against root-knot nematode *Meloidogyne* spp. Applied Science Reports 7(3): 129-134.

Byrd, D.W., T. Kirkpatrick and K.R. Barker. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. Journal of Nematology 15 (1): 142-143.

Chupraphawan, Y., W. Saksirirat, A. Hiransalee and N. Sanaomuang. 2007. Evaluation of soil fungi for suppressing root-knot nematode *Meloidogyne incognita* of chilli in microplot trials. Khon Kaen Agriculture Journal 35(2): 189-195. (in Thai)

Coyne, D. L. 1994. Nematode pests of cassava. African Crop Science Journal 2(4): 355-359.

Ekanayake, H.M.R.K. and N.J. Jayasundara. 1994. Effect of *Paecilomyces lilacinus* and *Beauveria bassiana* in controlling *Meloidogyne incognita* on tomato in Sri Lanka. Nematologia Mediterranea 22: 87-88.

Greenfield, M., M.I. Gomez-Jimenez, V. Ortiz, F.E. Vega, M. Kramer and S. Parsa. 2016. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation. Biological Control 95: 40-48.

Kagoda, F., D. Coyne, C. Kajumba and J. Dusabe. 2004. Early screening of cassava for resistance to root knot nematodes. Uganda Journal of Agricultural Sciences 9: 574-577.

Lertsuchatavanich, U. 2015. Efficiency of chemical and bioproduct on controlling root-knot nematode of cassava. pp. 1-7. In: Proceedings of the 53rd Conference of Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

- Maneechote, C., S. Sahaya, P. Ekkathin and Y. Anantanamane (eds.). 2016. Handbook of Integrated Pest Management of Cassava. Guarantee Co., Bangkok. 67 p. (in Thai)
- Martinez-Medina, A., I. Fernandez, G.B. Lok, M.J. Pozo, C.M.J. Pieterse and S.C.M. Van Wees. 2016. Shifting from priming of salicylic acid- to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. New Phytologist 213(3): 1363-1377.
- Office of Expert, Department of Agriculture. 2019. Plant Pest. (Online). Available: http://www.expertdoa.com/km_plant_info.php?ProductID=16 (May 10, 2019). (in Thai)
- Sahebani, N. and N. Hadavi. 2008. Biological control of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Soil Biology and Biochemistry 40(8): 2016-2020.
- Saksirrat, W. 2017. Antagonistic Fungi for Biological Control of Plant Diseases. Klung Nana Partnership, Khon Kaen. 212 p. (in Thai)
- Sharon, E., M. Bar-Eyal, I. Chet, A. Herrera-Estrella, O. Kleifeld and Y. Spiegel. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 91(7): 687-693.
- Sonthirat, S., K. Suthisuk, W. Norasing, S. Ratchatha and C. Suwannasam. 1978. Plant parasitic nematode in the northeast. Research Paper No.3, Agricultural Office of the Northeast, Khon Kaen. 50 p. (in Thai)
- Tangchitsomkid, N., P. Mulchanta, U. Lertsuchatwanit and O. Boonseng. 2015. Selection and evaluation of cassava germ plasm resistant to root-knot nematode. Full Report. NSTDA, Bangkok. 69 p. (in Thai)
- Tranier, M.-S., J. Pognant-Gros, R.D.C. Quiroz, C.N.A. Gonzalez, T. Mateille and S. Roussos. 2014. Commercial biological control agents targeted against plant-parasitic root-knot nematodes. Brazilian Archives of Biology and Technology 57(6): 831-841.
- van Vuuren, R.J. and B. Woodward. 2001. The response of cassava cultivars to root-knot nematode infestation: an *in vitro* method. Euphytica 120(1): 109-113.

ความสามารถในการผสมข้ามและการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ของกล้วยไม้ดินบางชนิดในสกุล *Habenaria* และ *Pecteilis*

Crossability and *In Vitro* Seed Germination of Some Terrestrial Orchid Species of Genus *Habenaria* and *Pecteilis*

ชฎาพร ทรายคำ¹ เกวลิน คุณาศักดากุล² และ นัฐา โพธาภรณ์^{1*}
Chadapawn Saikum¹, Kaewalin Kunasakdakul² and Nuttha Potapohn^{1*}

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

²ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

*Corresponding author: Email: natorchid@gmail.com

(Received: 1 April 2019; Accepted: 30 August 2019)

Abstract: *Habenaria* and *Pecteilis* are terrestrial orchids in subfamily Orchidoideae. Flowers are various in colors and shapes, have long blooming period and some species have fragrance. All of these characteristics are suitable for breeding program. This research was conducted to study crossability of nine species, *H. dentata*, *H. erichmichaelii*, *H. lucida*, *H. marginata*, *H. myriotricha*, *H. rhodocheila* (orange and red color), *H. rostelifera*, *P. hawkesiana* and *P. susannae*. They were employed for selfed, interspecific hybridization and intergeneric hybridization. It was found that number of fruit set of selfed was 60-100%, *H. dentata* had the greatest seed viable at 55.80%. Number of fruit set of interspecific hybridization was 0-100%, *H. marginata* × *H. rostelifera* had the greatest seed viable at 92.60%. Number of fruit set of intergeneric hybridization was 0-100%, *P. hawkesiana* × *H. myriotricha* had the greatest seed viable at 65.43%. *In vitro* seed culture was done using MS basal medium for seed germination. It was found that seed of selfed *H. erichmichaelii* could germinate within 99 days at 36.60% germination. Interspecific hybridization seed of *H. erichmichaelii* × *H. rhodocheila* (red) had the greatest germination at 98.00% within 154 days and intergeneric hybridization seed of *H. dentata* × *P. hawkesiana* had the greatest germination at 50.00% within 95 days. Species that were suitable for maternal plant for interspecific crosses were *H. erichmichaelii* and *H. dentata*.

Keywords: Interspecific hybridization, intergeneric hybridization, terrestrial orchid

บทคัดย่อ: กล้วยไม้สกุล *Habenaria* และสกุล *Pecteilis* เป็นกล้วยไม้ดินที่จัดอยู่ในวงศ์ย่อย Orchidoideae ลักษณะดอกมีความหลากหลายทั้งสีสันและรูปทรง ดอกบานทน บางชนิดมีกลิ่นหอม จากลักษณะเหล่านี้ทำให้กล้วยไม้ทั้งสองสกุลมีศักยภาพที่สามารถพัฒนาสู่ผสมสายพันธุ์ใหม่ งานวิจัยนี้ศึกษาความสามารถในการผสมข้ามชนิด โดยการนำกล้วยไม้ดินทั้ง 2 สกุล ทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ *H. dentata*, *H. erichmichaelii*, *H. lucida*, *H. marginata*, *H. myriotricha*, *H. rhodocheila* (สีส้มและสีแดง), *H. rostellifera*, *P. hawkesiana* และ *P. susannae* มาควบคุมให้เกิดการผสมตัวเอง ผสมข้ามชนิด และผสมข้ามสกุล พบว่าการผสมตัวเองของกล้วยไม้ดินทั้ง 9 ชนิดมีการติดฝักเท่ากับ 60-100% ซึ่ง *H. dentata* มีความมีชีวิตของเมล็ดมากที่สุดคือ 55.80% การผสมข้ามชนิดมีการติดฝัก 0-100% เมล็ดของลูกผสม *H. marginata* × *H. rostellifera* มีความมีชีวิตของเมล็ดมากที่สุดคือ 92.60% ส่วนการผสมข้ามสกุลมีการติดฝัก 0-100% ลูกผสมข้ามสกุลระหว่าง *P. hawkesiana* × *H. myriotricha* มีความมีชีวิตของเมล็ดมากที่สุดคือ 65.43% จากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร MS ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ พบว่า *H. erichmichaelii* มีการงอกมากที่สุดคือ 36.60% ใช้ระยะเวลาในการงอก 99 วัน ลูกผสมข้ามชนิดระหว่าง *H. erichmichaelii* × *H. rhodocheila* (สีแดง) มีการงอกมากที่สุดคือ 98.00% ใช้ระยะเวลาในการงอก 154 วัน และลูกผสมข้ามสกุลระหว่าง *H. dentata* × *P. hawkesiana* มีการงอกมากที่สุด 50.00% ใช้เวลาในการงอก 95 วัน กล้วยไม้ดินชนิดที่มีความสามารถเป็นแม่พันธุ์ในการผสมข้ามชนิดได้ดีคือ *H. erichmichaelii* และ *H. dentata*

คำสำคัญ: ผสมข้ามชนิด ผสมข้ามสกุล กล้วยไม้ดิน

คำนำ

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่มีความสำคัญและมีการแข่งขันกันในตลาดโลกมายาวนาน และมีแนวโน้มที่จะขยายตัวอย่างต่อเนื่อง ซึ่งประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตและส่งออกกล้วยไม้ เป็นอันดับต้น ๆ ของเอเชีย ในปี พ.ศ. 2561 มีมูลค่าการส่งออก 2,837.5 ล้านบาท (Ministry of Commerce, 2018) จากการขยายตัวของตลาดนั้น การปรับปรุงพันธุ์จึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในด้านการผลิตและพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้ให้มีลักษณะแปลกใหม่ ทั้งในด้านสีสันและรูปทรง เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภค กล้วยไม้สกุล *Habenaria* และสกุล *Pecteilis* เป็นกล้วยไม้ในวงศ์ย่อย Orchidoideae จัดอยู่ในกลุ่มของกล้วยไม้ดิน (terrestrial orchid) มักขึ้นตามพื้นดินหรือตามซอกหินที่มีอินทรีย์วัตถุแทรกอยู่ วงจรชีวิตของกล้วยไม้กลุ่มนี้มีระยะพักตัวที่ชัดเจนคือ มีการเจริญเติบโตทางใบ ดอก และฝัก ในช่วงฤดูฝน และจะพักตัวเหลือเพียงส่วนของหัวที่อยู่ใต้ดินในฤดูหนาว ประเทศไทยพบกล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* จำนวน 37 ชนิด ลักษณะทั่วไปคือ มีหัวอยู่ใต้ดิน ใบออกเหนือดินและไม่มีข้อต่อ เมื่อใบแก่จะเหี่ยวคาต้น ข้อดอกเป็นแบบกระจะ

ดอกมีหลายขนาด จำนวนดอกต่อช่อน้อยไปจนถึงมาก บานจากโคนสู่ปลาย กลีบดอกชั้นนอกด้านบนและกลีบดอกชั้นในชั้นนอกเกยกันอยู่ บางชนิดมีเดือยยาวรูปทรงกระบอก กลุ่มของเรณูอยู่ในเส้าเกสรข้างละ 1 กลุ่ม ประกอบด้วยเรณูย่อย ด้านปลายของก้านเรณูมีลักษณะเหนียว (Sitthisatchatham and Triphet, 2009) สกุล *Pecteilis* มีความคล้ายคลึงกับสกุล *Habenaria* แต่ต่างกันตรงที่มีเส้าเกสรและเดือยของปากสั้น ประเทศไทยพบ 3 ชนิด (Thaithong, 2006)

Habenaria และ *Pecteilis* เป็นกล้วยไม้ดินที่มีลักษณะดอกโดดเด่นเฉพาะตัว นักสะสมกล้วยไม้ให้ความสนใจทำให้กล้วยไม้ทั้งสองสกุลนี้มีศักยภาพที่สามารถพัฒนาสู่ผสมสายพันธุ์ใหม่ เพราะมีลักษณะดอกที่หลากหลาย ทั้งสีสันและรูปทรง บางชนิดดอกใหญ่ บางชนิดมีกลิ่นหอม ดอกบานทน จำนวนดอกต่อช่อมาก อีกทั้งมีข้อที่ตรง ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการผสมตัวเอง ผสมข้ามชนิด และผสมข้ามสกุล ของกล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* และสกุล *Pecteilis* เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้ดินในประเทศไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำต้นกล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* และ สกุล *Pecteilis* ทั้งหมด 9 ชนิด แบ่งเป็นสกุล *Habenaria* 7 ชนิด ได้แก่ 1) *H. dentata*, 2) *H. erichmichaelii*, 3) *H. lucida*, 4) *H. marginata*, 5) *H. myriotricha*, 6) *H. rhodocheila* (สีส้ม และ สีแดง), 7) *H. rostellifera* และสกุล *Pecteilis* 2 ชนิด ได้แก่ 1) *P. hawkesiana* และ 2) *P. susannae* (Figure 1) โดยนำต้นพันธุ์ปลูกลงในกระถางที่มีวัสดุปลูก คือ ทราโย : ขี้เถ้าแกลบ : กาบมะพร้าวสับ ในอัตราส่วน 1:1:1 ให้น้ำ 4-5 วันต่อครั้ง ให้อุณหภูมิ 21-21-21 และปุ๋ยละลายช้าสูตร 13-13-13 จำนวน 1 ครั้งต่อเดือน พ่นสารกำจัดโรคพืชและศัตรูพืช เมื่อพบว่าเริ่มมีการเข้าทำลาย ปลูกเลี้ยงภายในโรงเรือนที่มีหลังคาพลาสติกกันฝนและมีการพรางแสง 70%

นำกล้วยไม้ดินทั้ง 9 ชนิด ผสมตัวเอง ผสมข้าม ชนิดและผสมข้ามสกุล แบบพบกันทั้งหมด จำนวนคู่ละ 5 ดอก ผสมดอกในช่วงเช้าเวลา 7:00-10:00 น. โดยใช้ไม้จิ้มฟันที่สะอาดเช็ดเกสรเพศผู้ออกมา นำไปแตะที่ยอดเกสรเพศเมียที่มีน้ำเมือกเหนียว ในกรณีที่ดอกบานไม่พร้อมกัน สามารถเก็บเกสรเพศผู้ไว้ในหลอดแคปซูลชนิดใส เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เก็บได้นาน 6 เดือน เมื่อผสมเสร็จ ติดป้ายชื่อคู่ผสม เมื่อฝักมีอายุประมาณ

30-60 วัน คำนวณเปอร์เซ็นต์การติดฝักโดยกำหนดให้ 1 ฝัก เท่ากับ 20% จากนั้นเก็บฝักมาทดสอบความมีชีวิตของเมล็ด จำนวนคู่ผสมละ 1 ฝัก โดยใช้มีดผ่าตัดที่สะอาดเปิดฝักกล้วยไม้ ใช้เข็มเย็บที่สะอาดเขี่ยเมล็ดกล้วยไม้ลงบนสไลด์ให้เมล็ดกระจายสม่ำเสมอ หยดสีย้อม Lacto propionic orcein 1 หยด ทิ้งไว้ เป็น เวลา 40 นาที (Tongkham *et al.*, 2015) เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1-2 ครั้ง ปิดแผ่นปิดสไลด์ ใช้หัวแม่มือกดบนสไลด์เบา ๆ เพื่อขับสีส่วนเกิน นับจำนวนเมล็ดที่มีเอ็มบริโอ (embryo) ที่ติดสีแดงเข้มต่อเมล็ดทั้งหมด โดยสุ่มจากพื้นที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ OLYMPUS รุ่น CX31 จำนวน 1 ฝัก ทำ 3 ซ้ำ กำหนดพื้นที่ใต้กล้องเท่ากับ 100% คำนวณเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตตามวิธีของ Alomia *et al.* (2017)

$$\text{Viability (\%)} = (\text{Total number of viable seed} / \text{Total number of seed cultured}) \times 100$$

อีกส่วนหนึ่ง นำฝักไปเพาะเมล็ดภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยล้างทำความสะอาดฝักด้วยน้ำสะอาดผสมน้ำยาล้างจาน 1-2 หยด ซับให้แห้ง จากนั้นนำฝักเข้าตู้ปลอดเชื้อ แฉฝักในเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% เป็นเวลา 1 นาที ซับให้แห้งและฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox เข้มข้น 20% เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 3 ครั้ง ตัดเปิดฝักโดยตัดหัวและ

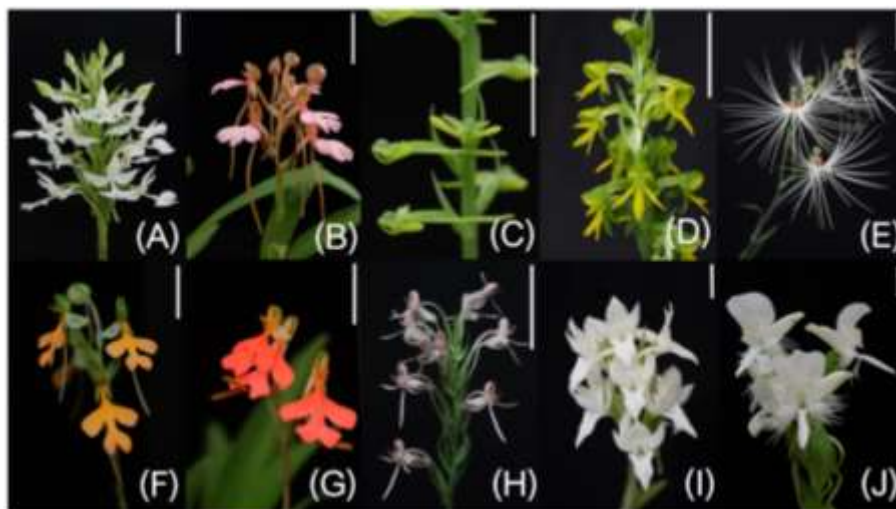


Figure 1. Seven species of *Habenaria* and two species of *Pecteilis* used in crossability study (A) *H. dentata*; (B) *H. erichmichaelii*; (C) *H. lucida*; (D) *H. marginata*; (E) *H. myriotricha*; (F) *H. rhodocheila* (orange); (G) *H. rhodocheila* (red); (H) *H. rostellifera*; (I) *P. hawkesiana* and (J) *P. susannae* (bar = 2 cm)

ปลายฝักออก ใช้มีดผ่ากลางฝักให้แยกออกจากนั้นเขี่ยเมล็ดลงขวดเพาะขนาด 8 ออนซ์ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร) ที่มีอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) จำนวน 1 ฝัก ต่อ 3 ขวด ปิดฝา เขียนชื่อคู่ผสมและวันที่เพาะ เพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง $29.88 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ หลังจากเมล็ดงอก นับจำนวนเมล็ดที่งอกต่อเมล็ดทั้งหมด โดยสุ่มจากพื้นที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ZEISS รุ่น Stemi 305 โดย 1 ขวดคู่ผสม ทำ 3 ซ้ำ กำหนดพื้นที่ใต้กล้องเท่ากับ 100% คำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกโดยดัดแปลงจาก Parthibhan *et al.* (2015)

$$\text{Seed germination (\%)} = (\text{Total number of seed germination} / \text{Total number of seed cultured}) \times 100$$

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การผสมตัวเอง

จากการศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองของกล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* และสกุล *Pecteilis* พบว่า ทั้ง 9 ชนิด มีการติดฝัก 60-100% (Figure 2) เมื่อนำฝักที่ได้จากการผสมตัวเองมาทดสอบความมีชีวิต พบว่า มีความมีชีวิตของเมล็ด 10.00-55.80% ซึ่ง

H. dentata และ *H. rhodocheila* (สีส้ม) มีความมีชีวิตของเมล็ดมากที่สุดคือ 55.80 (Figure 3A) และ 54.63% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลแตกต่างจากรายงานของ Kawchadee *et al.* (2012) ที่เมล็ดจากฝักที่ผสมตัวเองของ *H. rhodocheila* มีความมีชีวิตของเมล็ดเพียง 25.1% ในการศึกษาครั้งนี้ เมล็ดจากฝักของ *P. hawkesiana* และ *H. rostellifera* มีความมีชีวิตของเมล็ดน้อยที่สุดคือ 10.00 และ 15.14% ตามลำดับ ส่วนฝักของ *H. erichmichaelii*, *H. lucida*, *H. marginata*, *H. rhodocheila* (สีแดง) และ *P. hawkesiana* มีการติดฝัก 100% แต่มีความมีชีวิตของเมล็ดน้อยกว่า 50%

การผสมข้ามชนิด และการผสมข้ามสกุล

จากการผสมข้ามชนิดพบว่า มีการติดฝัก 0-100% และความมีชีวิตของเมล็ด 0-92.60% ซึ่งลูกผสมระหว่าง *H. marginata* × *H. rostellifera* มีความมีชีวิตของเมล็ดมากที่สุดคือ 92.60% (Figure 3B) ในขณะที่ความมีชีวิตของเมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเองของ *H. marginata* และ *H. rostellifera* เท่ากับ 39.30 และ 15.14% ตามลำดับ จากการที่ลูกผสมมีความมีชีวิตของเมล็ดมากกว่าการผสมตัวเอง อาจเกิดจากต้นพืชมีความสามารถในการผสมข้ามชนิดได้ดีกว่าการผสมตัวเอง (intercompatible) ซึ่งให้ผลคล้ายกันจากรายงานของ

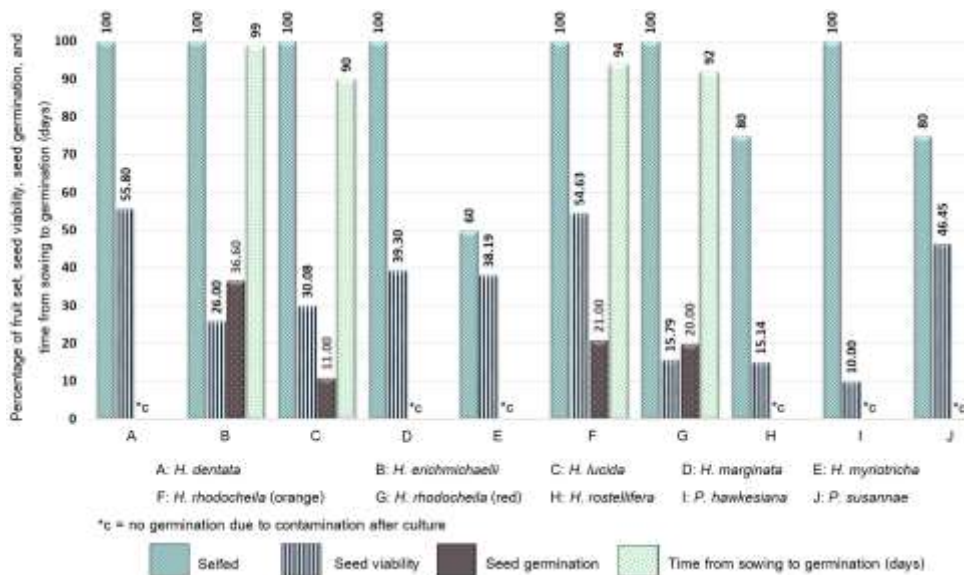


Figure 2. Percentage of fruit set, seed viability, seed germination and time from sowing to germination (days) of *Habenaria* and *Pecteilis* species derived from selfing

Johansan (1990) พบว่า กล้วยไม้สกุล *Dendrobium* มากกว่า 72% มีการผสมข้ามชนิดได้ดีกว่าการผสมตัวเอง และ Barbosa *et al.* (2009) รายงานว่า การผสมตัวเองของกล้วยไม้ *Octomeria* 3 ชนิด ไม่สามารถผสมตัวเองได้ (self-incompatible) ในการศึกษาครั้งนี้ ลูกผสมระหว่าง *H. rhodocheila* (สีส้ม) $\times$ *H. myriotricha* ไม่พบความมีชีวิตของเมล็ด และฝักของลูกผสม *H. rhodocheila* (สีแดง) $\times$ *H. myriotricha* ไม่มีเมล็ด (Table 1)

จากการผสมข้ามสกุลพบว่า มีการติดฝัก 0-100% โดยลูกผสมของ *P. hawkesiana* ที่เป็นแม่พันธุ์ผสมกับ *H. myriotricha* ที่เป็นพ่อพันธุ์ มีความมีชีวิตของเมล็ดมากที่สุด 65.43% (Figure 3C) ในขณะที่ เมื่อผสมกับ *H. dentata* ที่เป็นพ่อพันธุ์กลับมีความมีชีวิตของเมล็ดเพียง 1.11% (Table 2) ส่วนฝักที่ได้จากการผสมข้ามสกุลของ *H. rhodocheila* (สีส้ม) $\times$ *P. susannae*, *P. susannae $\times$ *H. lucida* และ *P. susannae $\times$ *H. rhodocheila* (สีแดง) มีการพัฒนาของฝักแต่ไม่มีเมล็ด ซึ่งให้ผลคล้ายกับรายงานของ Kawchadee *et al.* (2012) ที่ฝักของลูกผสมระหว่าง *P. susannae $\times$ *H. rhodocheila* ไม่มีเมล็ดที่มีชีวิต ส่วนคู่ผสมบางคู่ที่ไม่พบการติดฝัก เนื่องจาก ต้นแม่พันธุ์เป็นโรคและตายในระหว่างที่ถือฝักอยู่ ฝักจึงไม่สามารถพัฒนาต่อได้ จาก Figure 3D แสดงถึงความแตกต่างระหว่างเมล็ดที่ไม่มีชีวิต (non-viable seed) และเมล็ดที่มีชีวิต (viable seed) ซึ่งมีเอ็มบริโอ (embryo) อยู่ภายใน***

ในกล้วยไม้บางชนิด ฝักที่สามารถเจริญและพัฒนากลายเป็นฝักแก่มีโอกาสนี้จะไม่มีเมล็ด อาจเกิดจากสารจากเรณูเป็นตัวกระตุ้นให้มีการสร้างฝัก แต่ไม่เกิดการปฏิสนธิ (Soontornchainaksaeng, 2002) การที่ฝัก

ไม่มีเมล็ดหรือไม่สามารถผสมกันได้นั้น อาจเกิดจากความห่างไกลทางพันธุกรรม ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์ที่จะประสบความสำเร็จได้ คู่ผสมต้องมีพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกันมากที่สุด (Sagarik, 1973) และถึงแม้จำนวนโครโมโซมเท่ากัน แต่ลักษณะโครโมโซมที่แตกต่างกันจึงทำให้ไม่สามารถเข้าคู่กันได้ (Tongkham *et al.*, 2015) หรือเกิดจากการที่เกสรเพศผู้เป็นหมันเนื่องมาจากความผิดปกติของโครโมโซม ทำให้ต้นพืชผลิตเรณู (pollen grain) ที่ฝ่อจึงไม่สามารถผสมกันได้ (Pongtongkam, 2003) การศึกษาในครั้งนี้ ฝักของคู่ผสมระหว่าง *H. rhodocheila* (สีส้ม) $\times$ *P. susannae* และ *P. susannae $\times$ *H. rhodocheila* (สีแดง) ไม่มีเมล็ด อาจเกิดจากจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกัน ซึ่ง *H. rhodocheila* มีจำนวนโครโมโซม $2n = 38$ (Chardard, 1963) และ *P. susannae* มีจำนวนโครโมโซม $2n = 42$ (Bunnag and Theerakulpisut, 2007) ซึ่งคล้ายกับรายงานของ Pintajam *et al.* (2016) ที่ศึกษาความสามารถในการผสมข้ามชนิดและผสมข้ามสกุลของว่านอึ้ง (*Eulophia macrobulbon*) และว่านหัวครู (*E. spectabilis*) พบว่า คู่ผสมระหว่างว่านอึ้งและว่านหัวครู ไม่พบการติดฝัก ในขณะที่เมื่อให้ว่านหัวครูเป็นแม่พันธุ์ผสมกับว่านอึ้งสามารถผสมได้ มีการติดฝัก 100% จากการนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของว่านอึ้งและว่านหัวครู พบว่า มีจำนวนโครโมโซม $2n=48$ และ $2n=52$ ตามลำดับ การที่โครโมโซมแตกต่างกันหรือแม่พันธุ์มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่า อาจทำให้การผสมนั้นไม่สำเร็จ*

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้มีการเก็บเกสรเพศผู้ไว้เพื่อรอตันแม่พันธุ์บานพร้อมผสม เพราะการบานดอกของแต่ละสายพันธุ์เกิดขึ้นไม่พร้อมกัน ในการเก็บเกสรเพศผู้ไว้ อาจเกิดการเสื่อมสภาพของเกสรทำให้ส่งผลต่อการติดฝัก



Figure 3. Seed viability of selfed, interspecific hybridization and intergeneric hybridization of *Habenaria* and *Pecteilis* (A) *H. dentata* (40X); (B) *H. marginata* $\times$ *H. rostelifera* (40X); (C) *P. hawkesiana* $\times$ *H. myriotricha* (40X) and (D) seeds (100X). V = viable seed; NV= non-viable seed

รวมไปถึงลักษณะที่เข้ากันไม่ได้ของพ่อแม่พันธุ์ เนื่องจากโครงสร้างของเกสรเพศผู้หรือเพศเมีย และแม่พันธุ์อาจจะไม่สมบูรณ์เพียงพอที่จะถือฝักได้ การผสมพันธุ์ที่ได้นั้น ขึ้นอยู่กับความพร้อมในการผสม รวมไปถึง

ความแข็งแรงของต้นพันธุ์ ซึ่งลักษณะของพ่อแม่พันธุ์ที่ดี ต้องไม่เป็นหมัน ต้นสมบูรณ์ แข็งแรง ระบบรากแข็งแรงดี เพราะต้องหาอาหารเลี้ยงฝัก ซึ่งกล้วยไม้ใช้เวลาในการถือฝักเป็นระยะเวลาหลายเดือน (Rungruchkanont, 2012)

Table 1. Percentage of interspecific hybridization in terms of fruit set, seed viability, seed germination and time from sowing to germination between *Habenaria* and *Pecteilis*

Mother plant	Father plant	Fruit set (%)	Seed viability (%)	Seed germination (%)	Time from sowing to germination (days)
<i>H. dentata</i>	<i>H. erichmichaelii</i>	80	59.81	90.00	95
<i>H. dentata</i>	<i>H. lucida</i>	100	46.88	ng	-
<i>H. dentata</i>	<i>H. marginata</i>	100	52.07	ng	-
<i>H. dentata</i>	<i>H. myriotricha</i>	100	51.16	ng	-
<i>H. dentata</i>	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	80	43.17	c	-
<i>H. dentata</i>	<i>H. rhodocheila</i> (red)	100	48.28	45.00	82
<i>H. dentata</i>	<i>H. rostellifera</i>	0	-	-	-
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>H. dentata</i>	0	-	-	-
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>H. lucida</i>	100	43.10	16.00	185
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>H. marginata</i>	100	69.33	c	-
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>H. myriotricha</i>	0	-	-	-
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	80	70.43	36.60	133
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>H. rhodocheila</i> (red)	100	57.82	98.00	154
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>H. rostellifera</i>	60	32.63	1.00	122
<i>H. lucida</i>	<i>H. dentata</i>	100	58.85	c	-
<i>H. lucida</i>	<i>H. erichmichaelii</i>	80	14.47	-	-
<i>H. lucida</i>	<i>H. marginata</i>	0	-	-	-
<i>H. lucida</i>	<i>H. myriotricha</i>	0	-	-	-
<i>H. lucida</i>	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	60	13.49	c	-
<i>H. lucida</i>	<i>H. rhodocheila</i> (red)	100	19.77	c	-
<i>H. lucida</i>	<i>H. rostellifera</i>	nf	-	-	-
<i>H. marginata</i>	<i>H. dentata</i>	100	9.26	ng	-
<i>H. marginata</i>	<i>H. erichmichaelii</i>	80	36.00	3.00	85
<i>H. marginata</i>	<i>H. lucida</i>	20	21.67	c	-
<i>H. marginata</i>	<i>H. myriotricha</i>	0	-	-	-
<i>H. marginata</i>	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	0	-	-	-
<i>H. marginata</i>	<i>H. rhodocheila</i> (red)	100	9.71	c	-
<i>H. marginata</i>	<i>H. rostellifera</i>	80	92.60	ng	-

Table 1. Continued

Mother plant	Father plant	Fruit set (%)	Seed viability (%)	Seed germination (%)	Time from sowing to germination (days)
<i>H. myriotricha</i>	<i>H. dentata</i>	0	-	-	-
<i>H. myriotricha</i>	<i>H. erichmichaelii</i>	100	20.00	ng	-
<i>H. myriotricha</i>	<i>H. lucida</i>	0	-	-	-
<i>H. myriotricha</i>	<i>H. marginata</i>	0	-	-	-
<i>H. myriotricha</i>	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	0	-	-	-
<i>H. myriotricha</i>	<i>H. rhodocheila</i> (red)	100	20.88	ng	-
<i>H. myriotricha</i>	<i>H. rostellifera</i>	80	60.60	ng	-
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>H. dentata</i>	20	39.45	c	-
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>H. erichmichaelii</i>	80	51.71	31.00	95
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>H. lucida</i>	0	-	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>H. marginata</i>	100	35.16	ng	-
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>H. myriotricha</i>	40	0	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>H. rhodocheila</i> (red)	80	68.91	c	-
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>H. rostellifera</i>	80	38.87	ng	-
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>H. dentata</i>	0	-	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>H. erichmichaelii</i>	100	44.70	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>H. lucida</i>	0	-	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>H. marginata</i>	100	76.20	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>H. myriotricha</i>	60	sl	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	100	73.41	80.00	144
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>H. rostellifera</i>	0	-	-	-
<i>H. rostellifera</i>	<i>H. dentata</i>	0	-	-	-
<i>H. rostellifera</i>	<i>H. erichmichaelii</i>	40	10.00	c	-
<i>H. rostellifera</i>	<i>H. lucida</i>	20	10.07	c	-
<i>H. rostellifera</i>	<i>H. marginata</i>	0	-	-	-
<i>H. rostellifera</i>	<i>H. myriotricha</i>	100	14.29	c	-
<i>H. rostellifera</i>	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	0	-	-	-
<i>H. rostellifera</i>	<i>H. rhodocheila</i> (red)	0	-	-	-
<i>P. susannae</i>	<i>P. hawkesiana</i>	20	38.62	10.00	156
<i>P. hawkesiana</i>	<i>P. susannae</i>	80	1.00	c	-

c: no germination due to contamination after culture, ng: no germination was found within 365 days, sl: seedless

Table 2. Percentage of intergeneric hybridization in terms of fruit set, seed viability, seed germination and time from sowing to germination between *Habenaria* and *Pecteilis*

Mother plant	Father plant	Fruit set (%)	Seed viability (%)	Seed germination (%)	Time from sowing to germination (days)
<i>H. dentata</i>	<i>P. hawkesiana</i>	100	30.85	50.00	95
<i>H. dentata</i>	<i>P. susannae</i>	100	51.25	25.00	91
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>P. hawkesiana</i>	80	53.56	ng	-
<i>H. erichmichaelii</i>	<i>P. susannae</i>	60	64.00	c	-
<i>H. lucida</i>	<i>P. hawkesiana</i>	100	28.67	ng	-
<i>H. lucida</i>	<i>P. susannae</i>	100	36.18	c	-
<i>H. marginata</i>	<i>P. hawkesiana</i>	100	12.81	ng	-
<i>H. marginata</i>	<i>P. susannae</i>	0	-	-	-
<i>H. myriotricha</i>	<i>P. hawkesiana</i>	0	-	-	-
<i>H. myriotricha</i>	<i>P. susannae</i>	0	-	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>P. hawkesiana</i>	0	-	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (orange)	<i>P. susannae</i>	20	sl	-	-
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>P. hawkesiana</i>	80	40.60	ng	-
<i>H. rhodocheila</i> (red)	<i>P. susannae</i>	0	-	-	-
<i>P. hawkesiana</i>	<i>H. dentata</i>	100	1.11	c	-
<i>P. hawkesiana</i>	<i>H. erichmichaelii</i>	0	-	-	-
<i>P. hawkesiana</i>	<i>H. lucida</i>	0	-	-	-
<i>P. hawkesiana</i>	<i>H. marginata</i>	0	-	-	-
<i>P. hawkesiana</i>	<i>H. myriotricha</i>	100	65.43	c	-
<i>P. hawkesiana</i>	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	80	5.13	c	-
<i>P. hawkesiana</i>	<i>H. rhodocheila</i> (red)	20	0.50	c	-
<i>P. hawkesiana</i>	<i>H. rostellifera</i>	0	-	-	-
<i>P. susannae</i>	<i>H. dentata</i>	80	6.50	18.00	110
<i>P. susannae</i>	<i>H. erichmichaelii</i>	80	61.95	c	-
<i>P. susannae</i>	<i>H. lucida</i>	50	sl	-	-
<i>P. susannae</i>	<i>H. marginata</i>	100	6.30	c	-
<i>P. susannae</i>	<i>H. myriotricha</i>	100	40.34	12.00	88
<i>P. susannae</i>	<i>H. rhodocheila</i> (orange)	0	-	-	-
<i>P. susannae</i>	<i>H. rhodocheila</i> (red)	20	sl	-	-
<i>P. susannae</i>	<i>H. rostellifera</i>	0	-	-	-

c: no germination due to contamination after culture, ng: no germination was found within 365 days, sl: seedless

การเพาะเมล็ดและการเจริญเติบโตภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

จากการเพาะเมล็ดภายใต้สภาพปลอดเชื้อลงอาหารสูตร MS พบว่ามีการงอกของเมล็ด (Figure 4A) ที่ได้จากผสมตัวเอง 11.00-36.60% แม้ว่าฝักของ *H. rhodocheila* (สีส้ม) จะมีความมีชีวิตของเมล็ดมาก (54.63%) แต่กลับพบว่าการงอกของเมล็ดเพียง 21.00% เมื่อเทียบกับ *H. erichmichaelii* (Figure 4B) ที่มีความมีชีวิตของเมล็ดเท่ากับ 26.00% แต่กลับมีการงอกมากที่สุดคือ 36.60% จำนวนวันที่ใช้ในการงอกของเมล็ดจากฝักที่ได้จากการผสมตัวเอง อยู่ที่ 90-99 วัน (Figure 2) ลูกผสมข้ามชนิดมีการงอก 1.00-98.00% โดยลูกผสม *H. erichmichaelii* × *H. rhodocheila* (สีแดง) (Figure 4C) และลูกผสม *H. dentata* × *H. erichmichaelii* (Figure 4D) มีการงอกมากที่สุดคือ 98.00 และ 90.00% ตามลำดับ (Table 1) ในขณะที่ลูกผสม *H. erichmichaelii* × *H. rostellifera* มีการงอกน้อยที่สุดคือ 1.00% หลังจากการเพาะเมล็ดภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ลูกผสม *H. dentata* × *H. rhodocheila* (สีแดง) ใช้เวลาในการงอกเร็วที่สุดคือ

82 วัน ในขณะที่ *H. erichmichaelii* × *H. lucida* ใช้เวลาในการงอกช้าที่สุดคือ 185 วัน (Table 1)

ลูกผสมข้ามสกุลมีการงอก 0-50.00% ซึ่ง *H. dentata* × *P. hawkesiana* (Figure 4E) และ *H. dentata* × *P. susannae* (Figure 4F) มีการงอกมากที่สุดคือ 50.00 และ 25.00% ตามลำดับ ในขณะที่ *P. susannae* × *H. myriotricha* มีการงอกเพียง 12.00% แต่กลับงอกเร็วที่สุดคือ 88 วัน และ *P. susannae* × *H. dentata* ที่มีการงอก 18.00% ใช้เวลาในการงอกช้าที่สุดคือ 110 วัน (Table 2) ถึงแม้ว่าลูกผสมข้ามสกุลสามารถงอกได้ แต่มีการงอกน้อยและบางคู่ผสมไม่มีการงอกภายใน 365 วัน อาจเกิดจากความสมบูรณ์ของเมล็ด อายุของฝัก ซึ่งการเก็บฝักที่อ่อนเกินไป เมล็ดอาจมีการพัฒนาไม่เต็มที่ หรือฝักที่มีอายุมากเกินไปเมื่อนำไปเพาะเมล็ดจึงทำให้เกิดการปนเปื้อน จากการศึกษานี้พบว่า มีการปนเปื้อน 37.70% (ไม่ได้แสดงข้อมูล) จากรายงานของ Piyatrakul and Apavatjirut (2004) ที่ศึกษาผลของอายุฝักต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินชนิด *H. erichmichaelii* ในสภาพปลอดเชื้อพบว่า เมล็ดจากฝักที่มีอายุ 7 สัปดาห์

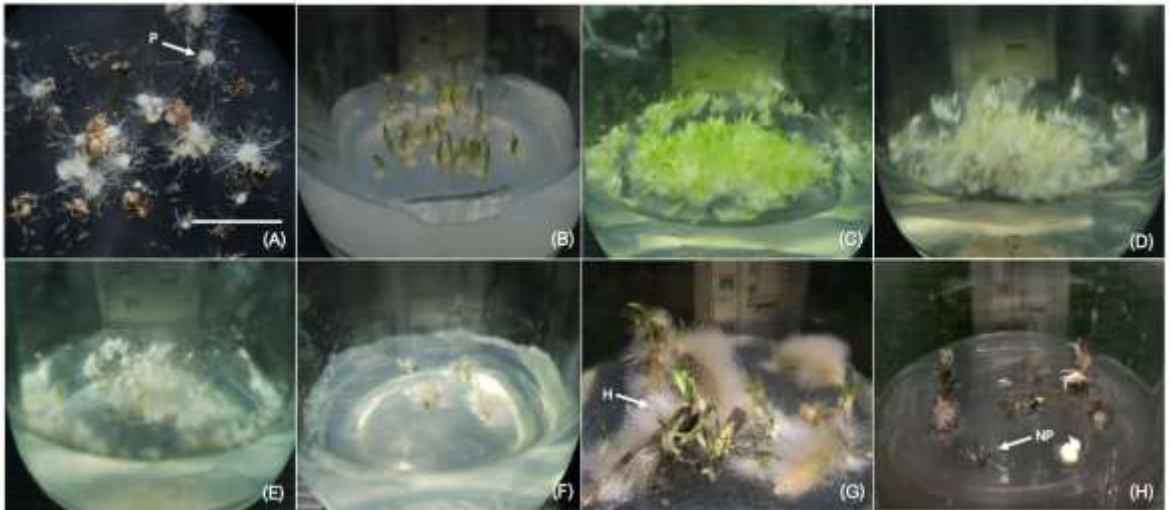


Figure 4. *In vitro* culture of seeding on MS basal medium. (A) seed germination (bar = 1 cm); (B) seed germination derived from selfed *H. erichmichaelii*; (C) seed germination derived from cross *H. erichmichaelii* × *H. rhodocheila* (red); (D) *H. dentata* × *H. erichmichaelii*; (E) *H. dentata* × *P. hawkesiana*; (F) *H. dentata* × *P. susannae*; (G) seed sowing on the same day had different stages of development and (H) necrotic protocorm of *H. erichmichaelii* × *H. lucida*; bottle diameter = 5.5 cm; P = protocorm; H = hair; NP = necrotic protocorm

(49 วัน) มีเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุดและมีโปรโตคอร์มขนาดใหญ่กว่าเมล็ดที่ได้จากผักที่มีอายุ 5 และ 6 สัปดาห์ (35 และ 42 วัน) ตามลำดับ ซึ่งให้ผลแตกต่างกับการทดลองครั้งนี้ โดยเมล็ดจากผักของ *H. erichmichaelii* ที่เพาะในการทดลองนี้ มีอายุ 33 วัน (ไม่ได้แสดงข้อมูล) มีการงอกมากที่สุด (36.60%)

จากการศึกษาในครั้งนี้ กล้วยไม้ดินทั้งสองสกุลสามารถงอกได้ดีในอาหารสูตร MS ซึ่งให้ผลคล้ายกับรายงานของ Giri *et al.* (2012) โดยทำการเพาะเมล็ด *H. edgeworthii* ลงสู่อาหาร MS พบว่า มีการงอกสูงที่สุด 94.7% เมื่อเทียบกับ 1/2 strength MS และ Knudson C (KC) ซึ่งมีการงอกเท่ากับ 93.4 และ 87.6% ตามลำดับ และ Mahendran and Bai (2009) รายงานว่ากล้วยไม้ *Satyrium nepalense* มีการงอกสูงที่สุด 86.7% เมื่อเพาะลงอาหารสูตร MS เทียบกับ Knudson C modified Morel medium (74%) และ Kundson C medium (61.2%) จากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร MS นั้นสามารถชักนำการงอกของเมล็ดลูกผสมโดยมีการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนและเกิดการสร้างหัวได้ แต่พบความไม่สม่ำเสมอของระยะการเจริญเติบโต (Figure 4G) ทั้งนี้อาจเกิดจากการเชื่อมเมล็ดลงแน่นเกินไป ทำให้บางเมล็ดไม่สัมผัสกับอาหารและเกิดการแย่งอาหารกัน เมล็ดของกล้วยไม้บางคู่ผสมสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ แต่ไม่พบระยะของการสร้างหัว เนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาลและตายไปในที่สุด (Figure 4H) การเลือกใช้สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีความเฉพาะเจาะจงต่อกล้วยไม้ดินแต่ละชนิด เนื่องจากเป็นส่วนสำคัญในการชักนำการงอกและการเจริญเติบโต เช่น รายงานของ Stewart and Kane (2006) พบว่ากล้วยไม้ *H. macroceratitis* สามารถงอกได้ดีในอาหารสูตร modified Knudson C และ Lindemann (LM) มีการงอกมากที่สุด 89.2 และ 89.1% ตามลำดับ และจากรายงานของ Johnson *et al.* (2007) พบว่า การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Eulophia alta* ลงในสูตรอาหาร phytotechnology orchid seed sowing medium (P723) ทำให้มีการงอกมากที่สุด 87.9% และการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น ออกซิน (auxins) และ ไซโทไคนิน (cytokinins) หรือการเติมสารประกอบจากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว หรือน้ำมัน

ลงในอาหารเพาะเลี้ยง สามารถเพิ่มอัตราการงอกของกล้วยไม้บางชนิดได้ (Pant *et al.*, 2011; Pant, 2013) เช่นเดียวกับรายงานของ Jala (2010) ทำการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดิน นางอ้วสาคริก (*P. sagarikii* Seidenf.) ลงในอาหารสูตร VW ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 10% พบว่า มีจำนวนของโปรโตคอร์มเกิดขึ้นมากที่สุด และอาหารสูตร VW ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15% มีจำนวนต้นอ่อนเกิดขึ้นมากที่สุด ทั้งนี้อัตราการงอกของเมล็ด การสร้างโปรโตคอร์ม และการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนยังขึ้นอยู่กับ ลักษณะทางพันธุกรรม ความสมบูรณ์ของเมล็ด และสภาพของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Bijaya, 2013)

สรุป

จากการผสมตัวเอง ผสมข้ามชนิด และผสมข้ามสกุลของกล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* และ *Pectellis* พบว่า การผสมตัวเองของกล้วยไม้ดินทั้ง 9 ชนิดมีการติดฝัก 60-100% การผสมข้ามชนิดมีการติดฝัก 0-100% และการผสมข้ามสกุลมีการติดฝัก 0-100% เมื่อนำเมล็ดมาเพาะลงอาหารสูตร MS ภายใต้อาณัติสภาพปลอดเชื้อ พบว่า *H. erichmichaelii* มีการงอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 36.60% ลูกผสมข้ามชนิดระหว่าง *H. erichmichaelii* × *H. rhodocheila* (สีแดง) มีการงอกมากที่สุดคือ 98.00% และลูกผสมข้ามสกุลระหว่าง *H. dentata* × *P. hawkesiana* มีการงอกมากที่สุด 50.00% ต้นพันธุ์ที่มีแนวโน้มใช้เป็นแม่พันธุ์ได้ คือ *H. erichmichaelii* และ *H. dentata* ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เรือนเพาะชำกล้วยไม้ ศูนย์วิจัย สาธิต และฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาชีววิทยาและโรคพืช และห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอำนวยความสะดวกต่าง ๆ ในระหว่างทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Alomia, Y.A., A.T. Mosquera-Espinosa, N.S. Flanagan and J.T. Otero. 2017. Seed viability and symbiotic seed germination in *Vanilla* spp. (Orchidaceae). Research Journal of Seed Science 10(2): 43-52.
- Barbosa, A.R., M.C. de Melo and E.L. Borba. 2009. Self-incompatibility and myophily in *Octomeria* (Orchidaceae, Pleurothallidinae) species. Plant Systematics and Evolution 283(1): 1-8.
- Bunnag, S. and P. Theerakulpisut. 2007. Cytogenetics of some orchid species in plant genetics conservation at Khok Phu Ta Ka, Amphoe Phu Wiang, Khon Kaen. KKU Research Journal 12(4): 393-401. (in Thai)
- Chardard, R. 1963. Contribution a l'etude cytologique des Orchidées (A contribution to the cytotaxonomy of the Orchidaceae). Revue de Cytologie et de Biologie Végétales 26: 1-58.
- Giri, L., A. Jugran, S. Rawat, P. Dhyani, H. Andola, I.D. Bhatt, R.S. Rawal and U. Dhar. 2012. *In vitro* propagation, genetic and phytochemical assessment of *Habenaria edgeworthii*: An important Astavarga plant. Acta Physiologiae Plantarum 34(3): 869-875.
- Jala, A. 2010. A tissue culture protocol for propagation of native and rare orchid, *Pecteilis sagarikii* Seidenf. Thai Science and Technology Journal 18(1): 28-39. (in Thai)
- Johansen, B. 1990. Incompatibility in *Dendrodium* (Orchidaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 103(2): 165-196.
- Johnson, T.R., S.L. Stewart, D. Dutra, M.E. Kane and L. Richardson. 2007. Asymbiotic and symbiotic seed germination of *Eulophia alta* (Orchidaceae) - preliminary evidence for the symbiotic culture advantage. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 90: 313-323.
- Kawchadee, C., W. Bundithya, C. Sotthikul and N. Potapohn. 2012. Interspecific and intergeneric crossability of some *Habenaria* and *Pecteilis*, terrestrial orchids. Journal of Agriculture 28(3): 263-272. (in Thai)
- Mahendran, G. and V.N. Bai. 2009. Mass propagation of *Satyrium nepalense* D. Don. - A medicinal orchid via seed culture. Scientia Horticulturae 119(2): 203-207.
- Ministry of Commerce. 2018. Thailand trading report. (Online). Available: <http://tradereport.moc.go.th/Report/Default.aspx?Report=MenucomRecode&ImExType=1&Lang=Th> (March 4, 2019). (in Thai)
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.
- Pant, B. 2013. Medicinal orchids and their uses: Tissue culture a potential alternative for conservation. African Journal of Plant Science 7(10): 448-467.
- Pant, B., S. Shrestha and S. Pradhan. 2011. *In vitro* seed germination and seedling development of *Phaius tancarvilleae* (L'Her.) Blume. Scientific World 9(9): 50-52.
- Parthibhan, S., M.V. Rao and T.S. Kumar. 2015. *In vitro* regeneration from protocorms in *Dendrobium aqueum* Lindley - An imperiled orchid. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 13(2): 227-233.
- Pintajam, P, C. Tiayon and N. Potapohn. 2016. Interspecific and intergeneric crossabilities of *Eulophia macrobulbon* (Par. & Pchb. f.)

- Hook. f. and *E. spectabilis* (Dennst.) Suresh. Journal of Agriculture 32(3): 299-308. (in Thai)
- Piyatrakul, P. and P. Apavatjirut. 2004. Effect of pod age on seed germination of *Habenaria rhodocheila* Hance in aseptic conditions. Journal of Agriculture 20(3): 230-234. (in Thai)
- Pongtongkam, P. 2003. Genetics. Kasetsart University Press, Bangkok. 398 p. (in Thai)
- Runggruchkanont, K. 2012. Orchids: Technologies and Application. Ubon Ratchathani University Press, Ubon Ratchathani. 252 p. (in Thai)
- Sagarik, R. 1973. Orchid Plantation in Thailand Environment. Chuanpim Publishing, Bangkok. 865 p. (in Thai)
- Sitthisatchatham, S. and P. Triphet. 2009. *Habenaria* Willd. pp. 282-297. In: O. Jiramongkolkarn (ed.). Wild Orchid of Thailand Vol. 2. Amarin Printing & Publishing Public Co., Ltd., Bangkok. (in Thai)
- Soontornchainaksaeng, P. 2002. Anatomy and Morphology of Flowering Plants. Top Printing & Publishing Public Co., Ltd., Bangkok. 400 p. (in Thai)
- Stewart, S.L. and M.E. Kane. 2006. Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Habenaria macroceratitis* (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 86(2):147-158.
- Thaithong, O. 2006. *Pecteilis*. pp. 92-95. In: P. Komaradat (ed.). Orchid in Thailand. Amarin Printing & Publishing Public Co., Ltd., Bangkok. (in Thai)
- Tongkham, W., N. Potapohn and C. Tiyaon. 2015. Intersubgeneric crossability of some *Paphiopedilum* species. Journal of Agriculture 31(3): 241-249. (in Thai)
-

ผลของสารไคโตซานและเมทิลจัสโมเนตต่อการแสดงออกของยีนฟีนิลอะลานีน
แอมโมเนีย ไลเอส และการผลิตสารประกอบฟีนอลิกในหนอนตายหยาก
ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Chitosan and Methyl Jasmonate on Phenylalanine Ammonia Lyase (PAL)
Gene Expression and Phenolic Compound Production
in *In Vitro* Plantlets of *Stemona collinsae* Craib.

สุภาพร ภัสสร* สุชาดา สูดแสง และ คชาภรณ์ ทองดอนยอด
Supaporn Passorn*, Suchada Sudsaeng and Khachapon Thongdonyod

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จ. พะเยา 56000
Department of Biotechnology, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao 56000, Thailand

*Corresponding author: Email: ppapon@hotmail.com

(Received: 8 March 2019; Accepted: 15 August 2019)

Abstract: The effect of chitosan and methyl jasmonate on the induction of phenylalanine ammonia lyase (PAL) and phenolic compound content in *Stemona collinsae* Craib. was conducted in this study. *In vitro* *S. collinsae* plantlets were stimulated for one and two weeks with various concentrations of elicitors. The observation found that PAL gene expression in root and shoot part of *S. collinsae* plantlets responded to elicitors depending on the concentration of stimulants, stimulation period and stage of plant growth. The shoot part of the 12 month-old *S. collinsae* plantlets stimulated with 100 mg/l chitosan showed the highest expression of PAL which was 3.93 fold higher than those determined in control and root part of stimulated plant. In addition, amount of total phenolic compound was 73.01 mg GAE/100g fresh weight which was 1.2 fold compared with the control. The 0.3 μ M methyl jasmonate stimulation for one week increased the PAL gene expression at the highest level in the root part by 8.66 times, resulting an increase of the total phenolic content at 88.37 mg gallic acid per 100 g fresh weight which was 1.2 times higher than control. Comparing the effect of stimulation on stage of growth between 6 month-old and 12 month-old *S. collinsae* plantlets by adding 100 mg/l chitosan and 0.3 μ M methyl jasmonate for one week, it was found that the amount of phenolic compounds obtained from all conditions were not significant different ($P > 0.05$) when compared to control.

Keywords: Phenylalanine ammonia lyase, phenolic compound, elicitors, *Stemona collinsae*

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการแสดงออกของยีน Phenylalanine ammonia lyase (PAL) และปริมาณสารออกฤทธิ์ในกลุ่มฟีนอลิกในหนอนตายหยาก *Stemona collinsae* Craib. โดยนำต้นหนอนตายหยากที่เพาะเลี้ยงแบบปลอดเชื้อมากระตุ้นด้วยสารกระตุ้นไคโตซานและเมทิลจัสโมเนท ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 1 และ 2 สัปดาห์ พบว่า การแสดงออกของยีน PAL ของต้นหนอนตายหยากตอบสนองต่อการกระตุ้นต่างกันทั้งส่วนรากและต้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นสารกระตุ้นระยะเวลาและอายุของต้นหนอนตายหยากที่ใช้ในการทดลอง โดยส่วนของต้นหนอนตายหยากอายุ 12 เดือน มีระดับการแสดงออกของยีน PAL สูงที่สุดและมากกว่าระดับการแสดงออกของยีนที่ตรวจพบในต้นควบคุมและส่วนของราก 3.93 เท่า เมื่อกระตุ้นด้วยไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 73.01 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งเพิ่มขึ้น 1.2 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่การกระตุ้นด้วยเมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ นาน 1 สัปดาห์ สามารถเพิ่มการแสดงออกของยีน PAL ในส่วนของรากได้สูงสุด 8.66 เท่า และพบปริมาณของสารฟีนอลิกทั้งหมด 88.37 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งเพิ่มขึ้น 1.2 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม สำหรับการศึกษาผลของอายุการเจริญของหนอนตายหยากเปรียบเทียบระหว่าง 6 กับ 12 เดือน ที่กระตุ้นด้วยไคโตซานความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ เมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ ระยะเวลา 1 สัปดาห์ ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกลับไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

คำสำคัญ: ฟีนอลอะลานีน แอมโมเนีย โลเอส สารประกอบฟีนอลิก สารกระตุ้น หนอนตายหยาก

คำนำ

ความนิยมใช้สมุนไพรเพื่อการรักษาโรคมีมาอย่างต่อเนื่อง โดยรายงานจากองค์การอนามัยโลกกล่าวว่าร้อยละ 80 ของประชากรโลกใช้พืชสมุนไพรในการรักษาโรคเบื้องต้น (Raskin *et al.*, 2002) การผลิตสารทุติยภูมิในพืชสมุนไพรทั่วไปพบว่ามีปริมาณต่ำกว่าร้อยละ 1 ของน้ำหนักแห้ง ขึ้นอยู่ชนิดของพืชและระยะการเจริญ จึงทำให้เกิดงานวิจัยพัฒนาการใช้สารกระตุ้น (elicitors) ในพืชสมุนไพรเพื่อช่วยในการแก้ปัญหาการผลิตสารทุติยภูมิที่มีความสำคัญในทางการแพทย์ (Singh and Dwivedi, 2018) สารกระตุ้นที่ใช้เพิ่มการสร้างสารทุติยภูมิจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม โดยอาศัยแหล่งที่มาของสารกระตุ้น ประกอบด้วย abiotic elicitor เป็นสารกระตุ้นที่ได้จากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น กลิ่นของโลหะหนัก รวมถึงสภาวะแวดล้อมภายนอก เช่น อุณหภูมิ รังสี กลุ่มที่สอง คือ biotic elicitor เป็นสารกระตุ้นที่ได้จากสิ่งมีชีวิต เชลล์จุลินทรีย์ หรือ สารสกัดจากเซลล์สิ่งมีชีวิต รวมไปถึงสารกลุ่มฮอร์โมนพืช ตัวอย่างเช่น ไคโตซาน และ เมทิลจัสโมเนท มักจะได้รับความนิยมเนื่องจากมีความปลอดภัยและสลายตัวได้ในธรรมชาติ และสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างทุติยภูมิเพิ่มขึ้นในพืชสมุนไพรหลากหลาย

ชนิด (Shakya, *et al.*, 2017; Thakur *et al.*, 2019) หนอนตายหยากเป็นสมุนไพรไทยอีกชนิดหนึ่งนำมาใช้ประโยชน์ทั้งด้านการเกษตรและการแพทย์ (Akanitapichat *et al.*, 2005) ดังเช่น สารประกอบฟีนอลิก stemanthrene B และ C เป็นสารอนุพันธ์ของ stilbenoid ที่สกัดจากหนอนตายหยาก พบว่ามีคุณสมบัติด้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และอาการโรคหอบหืด (antiasthmatic) เนื่องจากสามารถยับยั้งการสร้าง leukotriene เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับกลไกที่ทำให้เกิดการอักเสบ ปวดบวมของโรคต่าง ๆ (Adams *et al.*, 2005)

สารทุติยภูมิในกลุ่ม phenolic compound มีคุณสมบัติเป็นสารต้านจุลินทรีย์ก่อโรค รวมไปถึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และโรคมะเร็งต่าง ๆ ในกระบวนการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกเริ่มต้นใช้กระบวนการสังเคราะห์ที่เรียกว่า phenylpropanoid biosynthesis โดยมีเอนไซม์หลัก คือ phenylalanine ammonia lyase (PAL) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญและมีบทบาทเป็นตัวกำหนดความเร็วในการเร่งปฏิกิริยา (rate limiting step) เป็นกระบวนการสำคัญ ที่ก่อให้เกิดการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในพืชมากมาย เช่น flavonol, flavone, flavonone, catechin, anthocyanin, isoflavonoid dihydroflavonol และ stilbenoid (Roupe *et al.*, 2006)

จากรายงานของ Chang *et al.* (2009) โดยเพิ่มการแสดงออกของยีน (overexpression) ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิต chlorogenic acid (CGA) และ rutin ในต้นยาสูบ 2 ชนิด คือ ยีน PAL2 จากพืช *Arabidopsis thaliana* และ hydroxycinnamoyl-CoA quinate: hydroxycinnamoyl transferase (*NtHQT*) จากต้นยาสูบเอง ทำให้ transgenic plant สามารถสร้างสาร CGA และ rutin เพิ่มขึ้นสองถึงห้าเท่าเทียบกับ wild type นอกจากนี้พืชเมื่อถูกเชื้อโรคเข้าทำลายหรือได้รับการกระตุ้นจากสารเคมีบางชนิดทำให้พืชสร้างสารทุติยภูมิซึ่งมีคุณสมบัติต้านทานเชื้อโรคเหล่านั้น โดยมีผลเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ส่งผลให้พืชมีการสร้างและสะสมสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้นด้วย ตัวอย่างเช่น การใช้เมทิลจัสโมเนตซึ่งเป็นสารสื่อสัญญาณ (signal transduction) เกิดขึ้นในขณะที่ยีนอยู่ในสภาวะความเครียดทำให้เกิดการกระตุ้นระบบการป้องกันตัวเอง ดังรายงานผลของเมทิลจัสโมเนตที่มีต่อผักกาดหอมเรดโอ๊คปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ที่ความเข้มข้น 0, 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ในช่วงอายุ 20, 30 และ 40 วัน พบว่า ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์สามารถชักนำการผลิตสารแอนโทไซยานินได้สูงที่สุดเท่ากับ 10.7 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (Khitka, 2014) นอกจากนี้ยังพบรายงานการผลิตสารทุติยภูมิกลุ่มอัลคาลอยด์ในหนอนตายหยากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *S. curtisii* Hook. f. โดยเลี้ยงในสภาวะไฮโดรโปนิคส์ที่เติมไคโตซาน ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทำให้มีการผลิตสารอัลคาลอยด์ oxypotostemonine, stemocurtisine และ stemocurtisinol เพิ่มขึ้นในปริมาณที่แตกต่างกันคิดเป็น 1.9, 2.0 และ 1.5 เท่า ตามลำดับเทียบกับชุดควบคุม (Palee *et al.*, 2016) นอกจากนี้รากของหนอนตายหยากชนิดนี้ยังสามารถถูกกระตุ้นให้สร้างสารอัลคาลอยด์เพิ่มขึ้นได้โดยใช้สาร Paclobutrazol เช่นกัน (Montri and Saenphakdi, 2014)

การศึกษาการใช้สารกระตุ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างสารออกฤทธิ์ของหนอนตายหยากยังคงมีไม่มากนักและมุ่งสนใจในกลุ่มของสารอัลคาลอยด์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาเพื่อเพิ่มแนวทางพัฒนาศักยภาพการใช้ประโยชน์สมุนไพรหนอนตายหยากจากการผลิตสารออกฤทธิ์กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก โดยศึกษา

เปรียบเทียบการแสดงออกของยีน PAL และปริมาณการผลิตสารออกฤทธิ์กลุ่มสารประกอบฟีนอลิกในต้นหนอนตายหยาก *S. collinsae* ที่สภาวะการกระตุ้นด้วยไคโตซานและเมทิลจัสโมเนต โดยผลที่ได้สามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานระดับอนุพันธุศาสตร์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสร้างสารประกอบฟีนอลิกต่าง ๆ ในหนอนตายหยากต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการเตรียมต้นหนอนตายหยากสภาพปลอดเชื้อ

การชักนำให้เกิดเป็นต้นหนอนตายหยากที่สมบูรณ์ โดยตัดชิ้นส่วนของข้อจากต้นหนอนตายหยากที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มีความยาวประมาณ 2.0 เซนติเมตร ย้ายชิ้นส่วนของข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ naphthalene acetic acid (NAA) 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน แสงจันทร์ทั้งเป็นต้นสมบูรณ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การกระตุ้นหนอนตายหยากด้วยไคโตซานและเมทิลจัสโมเนต

ในเบื้องต้นทดสอบผลของความเข้มข้นไคโตซานและเมทิลจัสโมเนต ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในต้นหนอนตาย หยากสภาพปลอดเชื้อ โดยนำต้นที่มีอายุ 12 เดือน ย้ายลงเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS ที่เติมสารกระตุ้น (Figure 1) ดังนี้ ไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ เมทิลจัสโมเนต ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ โดยทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปเลี้ยงต่อบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 1 และ 2 สัปดาห์ เมื่อครบตามระยะเวลานำหนอนตายหยากที่ถูกกระตุ้นล้างด้วยน้ำกลั่น ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วด้วยไนโตรเจนเหลวและบดตัวอย่างให้ละเอียด เพื่อใช้ในการสกัดอาร์เอ็นเอและวัดปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด

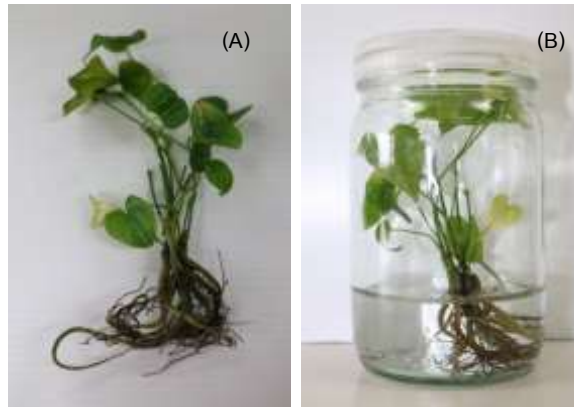


Figure 1. The *in vitro* 12 month-old *Stemona collinsae* Craib. plantlet (A) and plantlet in 1/2 MS supplemented with elicitors (B)

ลำดับต่อมาทดสอบเปรียบเทียบอายุการเจริญของต้นหนอนตายหายากสภาพปลอดเชื้อต่อการใช้สารกระตุ้น โดยใช้ต้นหนอนตายหายากที่มีอายุ 6 และ 12 เดือน โดยสภาวะการกระตุ้นที่เลือกใช้จากความเข้มข้นของสารและระยะเวลาการกระตุ้นที่สามารถทำได้ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในปริมาณสูงกว่าในชุดควบคุมจากผลการทดลองเบื้องต้น

การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน PAL ด้วยวิธี Real-time PCR

นำต้นหนอนตายหายากที่ผ่านการกระตุ้นด้วยไคโตซานและเมทิลจัสโมเนท มาสกัด total RNA แยกจากส่วนรากและต้น โดยใช้ TRIzol reagent (Invitrogen, USA) และตรวจสอบปริมาณของ total RNA ที่สกัดได้ด้วยเครื่อง spectrophotometer แล้วจึงนำ total RNA ปริมาณ 3 ไมโครกรัม มาใช้สร้าง first-strand cDNA (reverse transcription, RT) โดยใช้ M-MLV reverse transcriptase (Thermo Fisher Scientific, USA) ร่วมกับ Oligo (dT) primer และนำ first-strand cDNA ที่ได้ไปตรวจสอบการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค Real-Time PCR โดยใช้เครื่อง Mini Opticon Real-time System (Bio-Rad, USA) ด้วย Thermo Scientific Luminaris Color HiGreen qPCR Master Mix ในปฏิกิริยาปริมาตร 20 ไมโครลิตร โดยใช้ cDNA ที่ได้จากการสังเคราะห์ก่อนหน้านี้ 1 ไมโครลิตร เป็นดีเอ็นเอต้นแบบและใช้ forward primer และ reverse primer ที่ออกแบบโดยอาศัยข้อมูลดังแสดงใน Table 1

โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และใช้ยีน Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GADPH) เป็นยีนอ้างอิง การวิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีนด้วยวิธี Delta delta Ct โดยคำนวณสัดส่วนการแสดงออกของยีนจากสมการดังนี้คือ $2^{-\Delta\Delta C_T}$ (Livak and Schmittgen, 2001)

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมดในต้นหนอนตายหายาก

การสกัดสารตัวอย่างและวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดดัดแปลงจากวิธีของ Kim *et al.* (2003) โดยนำตัวอย่างต้นหนอนตายหายากที่ผ่านการกระตุ้นมาบดจนละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นนำตัวอย่าง 2 กรัม เติมสารละลายเมทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง homogenizer นาน 2 นาที แล้วนำไปปั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที แยกกากตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที แยกส่วนใสออกและปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างในขวดแก้วสีขาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไปด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method โดยทำการดูดสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ จำนวน 0.1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสารฟอลิน-ซีเคาตูรีเอเจนท์ 0.1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที แล้วจึงเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 จำนวน 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น จำนวน

Table 1. Primers used for *PAL* gene expression analysis by Real-Time PCR

Gene (Accession no.)	Primer sequence (5'-3')	Annealing temp. (°C)	Product size (bp)
<i>PAL</i> (MK490962)	F: CTg CAT gCT TCC ACT TCT TTg R: gAC AAC ggT gAC AAg gAg AA	68.88 68.25	107
<i>GAPDH</i> (MK490963)	F: ggC ATT gTT gAg ggT TTg ATg R: ggT gCT gCT Agg AAT gAT gT	68.88 68.25	129

1 มิลลิลิตร ทั้งไว้ 90 นาทีที่อุณหภูมิห้อง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก ในช่วงความเข้มข้น 20-100 ส่วนต่อล้าน รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการตรวจ 3 ซ้ำต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าสถิติและค่าเฉลี่ยระดับการแสดงออกของยีนโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Statistical Package for the Social Science for Windows (SPSS)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของไคโตซานที่มีต่อการแสดงออกของยีน *PAL* และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในหนอนตายหยาก

ต้นหนอนตายหยากที่ผ่านการกระตุ้นด้วยไคโตซาน แยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของราก และส่วนของต้นใบ ที่มีใบ นำไปวิเคราะห์การแสดงออกของยีน *PAL* ด้วยเครื่อง Real-time PCR ดังแสดงใน Figure 2 จากการศึกษาพบว่า การแสดงออกของยีนในรากเพิ่มขึ้นในสภาวะการกระตุ้นด้วยไคโตซานความเข้มข้น 25, 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร การแสดงออกของยีน *PAL* ในรากสูงสุด 7.96 เท่า เมื่อถูกกระตุ้นด้วยไคโตซานความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อเทียบกับ

ชุดควบคุม แตกต่างจากการกระตุ้นที่เกิดจากไคโตซาน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบมีการแสดงออกของยีน *PAL* ในต้นสูง 3.93 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และสูงกว่าในส่วนของราก นอกจากนี้พบว่าแนวโน้มการแสดงออกของยีน *PAL* ในใบและต้นเพิ่มสูงขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยไคโตซาน ที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาเพิ่มขึ้น ในขณะที่การแสดงออกของยีน *PAL* ในรากจะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนโดยเริ่มต้นการกระตุ้นที่ความเข้มข้นของไคโตซานในระดับ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูงสุด ที่ระดับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงที่ระดับ 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในหนอนตายหยากที่กระตุ้นด้วยไคโตซาน ในสัปดาห์ที่ 1 พบว่า การกระตุ้นด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้น 25 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงคือ 73.72 และ 73.90 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ โดยมีปริมาณสูงขึ้นจากชุดควบคุมคิดเป็น 1.2 เท่า และการกระตุ้นด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 2 ยังคงมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าการกระตุ้นจากระดับความเข้มข้นอื่น โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง 73.01 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด

จากการทดลองกระตุ้นด้วยไคโตซานที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 1 และ 2 สัปดาห์ ที่มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้นจากชุดควบคุมคิดเป็น 1.2 เท่า อย่างไรก็ตามในสภาวะนี้ไม่พบว่ามีปริมาณการแสดงออกของยีน *PAL* ในรากเพิ่มขึ้น แต่พบการแสดงออกในใบและลำต้นสูงขึ้น 3.93 เท่า ในสัปดาห์ที่ 2 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เหตุที่ไม่พบการกระตุ้นการแสดงออกของยีน *PAL* ในราก อาจเนื่องมาจากระยะเวลา

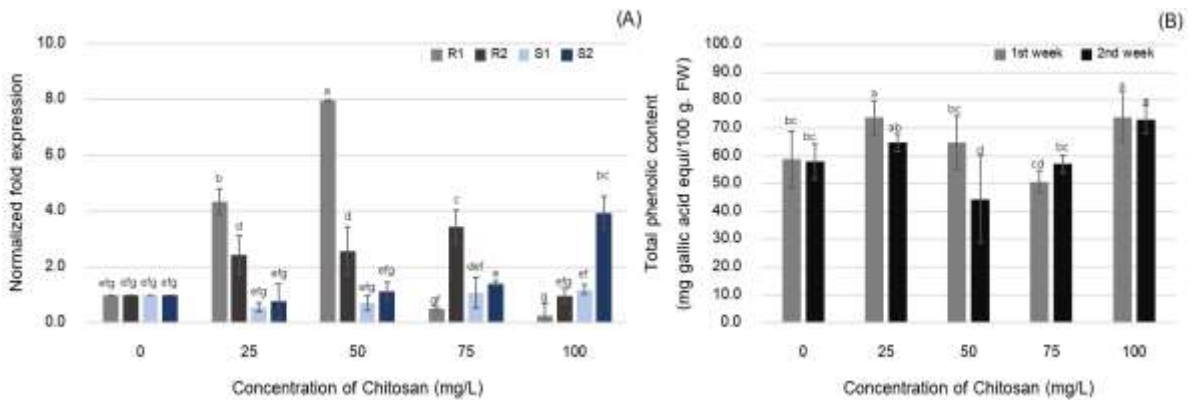


Figure 2. Effects of chitosan dosage on the expression of *PAL* gene in 12 month-old *Stemona collinsae* Craib. plantlet for 1- and 2-week treatment (A) and total phenolic contents (B). R1 and R2 indicate the *PAL* gene expression from root part at 1 and 2 weeks. S1 and S2 indicate expression level from shoot part at 1 and 2 weeks. (Different letters on the bar indicate the significant difference at $P < 0.05$)

ที่ใช้ในการตรวจสอบการแสดงออกของยีนนั้นผ่านช่วงเวลาที่รากหนอนตายหายากถูกกระตุ้นสร้าง mRNA ของยีน *PAL* ไปแล้ว ดังเช่นรายงานการศึกษาของ Kamalipourazad *et al.* (2016) โดยเติมสารไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ แขวนลอย *Scrophulara striata* Boiss. เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงในสภาวะปกติ และติดตามการแสดงออกของยีนต่อเนื่องในวันที่ 3, 5 และ 7 พบว่า การแสดงออกของยีน *PAL* ในพืชชนิดนี้มีปริมาณสูงสุดในวันที่ 5 และลดลงในวันที่ 7 สอดคล้องกับการตรวจสอบกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ *PAL* เช่นกัน อีกทั้งยีน *PAL* ที่พบในพืชเป็นกลุ่มของยีนที่ทำงานร่วมกัน (multi-gene family) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกันแต่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับช่วงระยะการเจริญและการพัฒนาของพืช การปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชกับสิ่งแวดล้อมในการศึกษาครั้งนี้ ตรวจสอบการแสดงออกของยีน *PAL* ในหนอนตายหายากเพียงชนิดเดียวทำให้ยังไม่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของยีนกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้มากนัก ดังเช่นที่พบในรายงานการศึกษายีน *PAL* ในพืช *Arabidopsis* ประกอบด้วยยีน 4 ชนิด โดยระบุว่ายีน *AtPAL1* และ *AtPAL2* ทำหน้าที่หลักเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก (Zhang and Liu, 2015)

ผลของเมทิลจัสโมเนทที่มีต่อการแสดงออกของยีน *PAL* และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในหนอนตายหายาก

จากการเพาะเลี้ยงต้นหนอนตายหายากอายุ 12 เดือน ในสารกระตุ้นเมทิลจัสโมเนท พบว่า การแสดงออกของยีน *PAL* ในรากเพิ่มสูงขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยเมทิลจัสโมเนทความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ มีการแสดงออกเพิ่ม 8.66 เท่า ในสัปดาห์ที่ 1 และ 7.55 เท่า ในสัปดาห์ที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยการแสดงออกยีน *PAL* เพิ่มขึ้นในรากมากกว่าในใบและลำต้น (Figure 3) เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 2 สัปดาห์ ในสภาวะการเติมสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้นอื่นนั้น การแสดงออกของยีน *PAL* มีความใกล้เคียงกับชุดควบคุม ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในต้นหนอนตายหายากที่ถูกกระตุ้นด้วยเมทิลจัสโมเนทที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ต้นหนอนตายหายากที่ถูกกระตุ้นด้วยเมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุด เท่ากับ 88.37 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด โดยคิดเป็น 1.2 เท่า เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

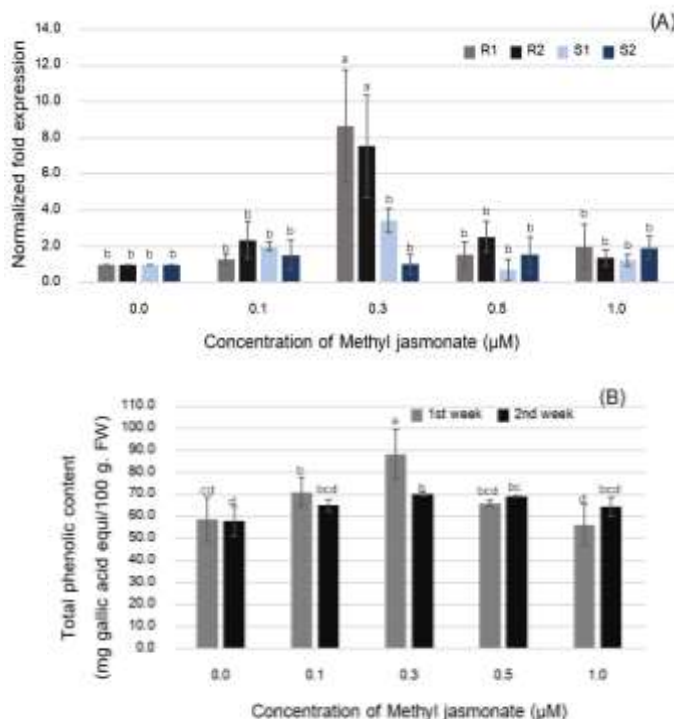


Figure 3. Effects of methyl jasmonate dosage on the expression of PAL gene in 12 month-old *Stemona collinsae* Craib. plantlet for 1- and 2-week treatment (A) and total phenolic contents (B). R1 and R2 indicate the PAL gene expression from root part at 1 and 2 weeks. S1 and S2 indicate expression level from shoot part at 1 and 2 weeks. (Different letters on the bar indicate the significant difference at $P < 0.05$)

จากผลการทดลองสภาวะการกระตุ้นด้วยเมทิลจัสโมเนต มีเพียงระดับความเข้มข้นที่ 0.3 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นแสดงออกของยีน PAL ที่เพิ่มขึ้นได้ แต่ยังไม่ส่งผลให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้นแตกต่างจากระดับการกระตุ้นอื่นมากนัก พบเช่นเดียวกับการทดลองในพืชสมุนไพรของ Jirapongpattana *et al.* (2017) โดยเพาะเลี้ยงยอดหัวข้าวเย็น *Dioscorea birmanica* Prain & Burkill บนอาหารที่เติม jasmonic acid (JA) ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ความสัมพันธ์ระหว่างอายุการเจริญที่เหมาะสมของต้นหนอนตายหยากต่อสภาวะการกระตุ้น

ผลการเปรียบเทียบของสารกระตุ้นไคโตซานและเมทิลจัสโมเนต ในต้นหนอนตายหยากอายุการเจริญ 6 และ 12 เดือน (Figure 4) เลือกระดับความเข้มข้นของสารกระตุ้นจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงกว่าระดับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงใน Figure 2B และ Figure 3B โดยใส่สารไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร และเมทิลจัสโมเนต ที่ความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ไคโตซานไม่สามารถกระตุ้นการเพิ่มการแสดงออกยีน PAL ในรากหนอนตายหยากอายุ 6 และ 12 เดือน แตกต่างจากผลของเมทิลจัสโมเนตกระตุ้นการแสดงออกของยีนในรากอายุ 12 เดือน เพิ่มสูงกว่าในรากของต้นหนอนตายหยากอายุ 6 เดือน (Figure 4A) ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณ

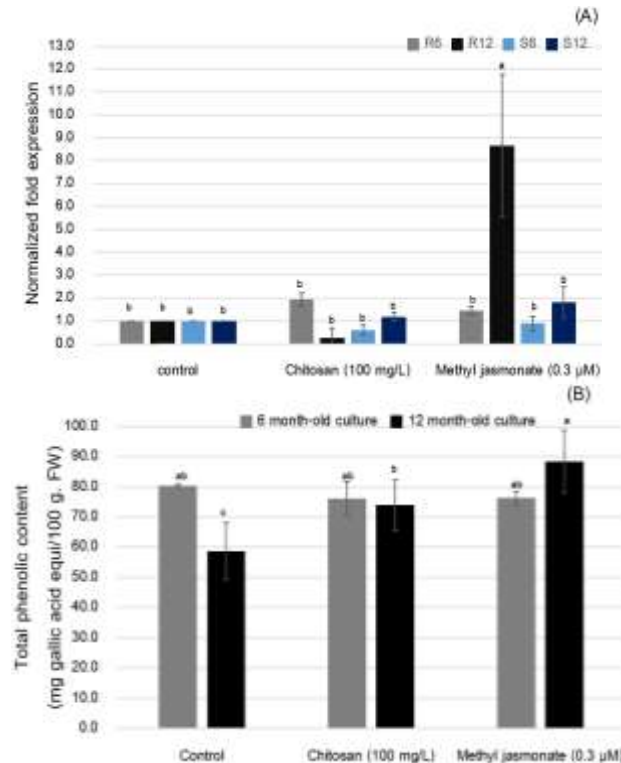


Figure 4. Effects of 100 mg/l chitosan and 0.3 μM methyl jasmonate on the expression of *PAL* gene in 6 and 12 month-old *Stemona collinsae* Craib. plantlet for 1 week period (A) and total phenolic contents (B). R6 and R12 indicate the *PAL* gene expression from root part of 6 and 12 month-old. S6 and S12 indicate expression from shoot part of 6 and 12 month-old. (Different letters on the bar indicate the significant difference at $P < 0.05$)

สารประกอบฟีนอลิกแสดงให้เห็นว่าสภาวะการกระตุ้นนี้ ยังไม่สามารถทำให้หนอนตายหยากสร้างสารประกอบ กลุ่มฟีนอลิกได้ในปริมาณที่แตกต่างจากชุดควบคุมในช่วง อายุ 6 เดือน แต่จะให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเฉพาะในอายุ 12 เดือน (Figure 4B) จากการทดลองใช้สารกระตุ้นในหนอนตาย หยากครั้งนี้ผลกระทบที่เกิดขึ้นอาจเกี่ยวข้องกับการเจริญ ของต้นหนอนตายหยาก นอกเหนือจากผลกระทบต่อการ กระบวนการชีวสังเคราะห์ของสารทุติยภูมิ

การเลือกความเข้มข้นของสารกระตุ้นเป็นปัจจัย สำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญของพืช เนื่องจากการ ตอบสนองของพืชมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการทำงาน ภายในเซลล์หลากหลายระบบ โดยมีรายงานการใช้ไคโตซาน ที่ความเข้มข้นสูงมากเกินไปจะทำให้รากพืชหยุดชะงักการ เจริญเติบโต พบได้ในพืช *Arabidopsis* มะเขือเทศ และ

ข้าวบาร์เลย์ กลไกเกิดจากการสะสมของฮอร์โมนออกซิน ในราก โดยเฉพาะในกลุ่ม indole acetic acid (IAA) และ กลุ่ม gibberellic acid รวมทั้งกลุ่มฮอร์โมนที่ถูกกระตุ้น ด้วยความเครียดด้วยกรด jasmonic (JA) และ salicylic (SA) (Lopez-Moya *et al.*, 2019) และยังมีรายงานว่า การ สะสมสารทุติยภูมิเพิ่มขึ้นจากการกระตุ้นของไคโตซาน เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นให้พืชมีความต้านทานเพิ่มขึ้นเพื่อ ป้องกันตนเองจากโรคพืช โดยมีโมเลกุลของพืชที่ทำหน้าที่ เป็นตัวตอบสนองการกระตุ้น (PRR, pattern recognition receptor) สามารถตรวจจับไคโตซานซึ่งโครงสร้าง เหมือนกับผนังเซลล์ของราสาเหตุโรคพืช (MAMP, microbe-associated molecular pattern) ทำให้เกิดการ ส่งสัญญาณภายในเซลล์ เช่น การเพิ่มขึ้นของไฮโดรเจน และแคลเซียมไอออน การกระตุ้นวิถีไมโทเจนแอกทีเวเตด โปรตีนไคเนส (MAP-Kinase) ส่งผลต่อไปถึงการ

แสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารทุติยภูมิเพิ่มขึ้น จึงทำให้พืชสังเคราะห์สารไฟโตเล็กซิน (phytoalexin) ที่เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก เทอร์ปีโนอยด์ และอัลคาลอยด์ที่มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ก่อโรค (Iriti and Faoro, 2009; Xing *et al.*, 2015) ส่วนกลไกการทำงานของเมทิลจัสโมเนตนั้นไม่เพียงแต่เป็นสารที่ส่งสัญญาณทำให้เกิดการสร้างทุติยภูมิชนิดต่าง ๆ เมื่อเกิดสภาวะเครียดทั้งจากสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิต ยังทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนควบคุมการเจริญของพืชในระยต่าง ๆ ดังนั้นกลไกจึงมีความซับซ้อนและเกี่ยวข้องกับการทำงานของกลุ่มยีนหลายกลุ่ม และสามารถกระตุ้นการทำงานของ transcription factor (TF) ที่หลากหลายแตกต่างกันในกระบวนการสร้างสารทุติยภูมิแต่ละชนิด เช่น การควบคุมการสร้างแอนโทไซยานินใน *A. thaliana* เกี่ยวกับการทำงานของโปรตีน Jasmonate ZIM-domain (JAZ) ร่วม กับ WD-repeat/bHLH/MYB complexes (Wasternack and Strnad, 2019)

สรุป

จากการศึกษาการใช้สารกระตุ้นไคโตซานและเมทิลจัสโมเนต เพื่อกระตุ้นการแสดงออกของยีน *PAL* และส่งผลให้เกิดการสร้างสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกในหนอนตายหยากนั้น ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารกระตุ้นทั้งสองชนิดสามารถทำให้เกิดการแสดงออกของยีน *PAL* เพิ่มขึ้น แต่ยังคงไม่ส่งผลให้เกิดปริมาณการเพิ่มของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกสูงมากนักโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเพียง 1.2 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นจึงควรศึกษาเพิ่มเติมในการคัดเลือกระยะเวลาการกระตุ้นและระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง เพื่อการวิเคราะห์หลังการกระตุ้นให้ละเอียดมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยพะเยา ประจำปี 2558 (สัญญาเลขที่ R020058209018) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Adams, M., T. Pacher, H. Greger and R. Bauer. 2005. Inhibition of leukotriene biosynthesis by stilbenoids from *Stemona* species. *Journal of Natural Products* 68(1): 83-85.
- Akanitapichat, P., P. Tongngok, A. Wangmaneerat and B. Sripanidkulchai. 2005. Antiviral and anticancer activities of *Stemona collinsae*. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences* 29(3-4): 125-136. (in Thai)
- Chang, J., J. Luo and G. He. 2009. Regulation of polyphenols accumulation by combined overexpression/silencing key enzymes of phenylpropanoid pathway. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 41(2): 123-130.
- Iriti, M and F. Faoro. 2009. Chitosan as a MAMP, searching for PRR. *Plant Signaling and Behavior* 4(1): 66-68.
- Jirapongpattana, R., Y. Jirakiattikul and P. Rithichai. 2017. Effects of jasmonic acid and yeast extract on secondary metabolite contents in shoot culture of *Dioscorea birmanica* Prain & Burkill. *Thai Journal of Science and Technology* 25(3): 485-496. (in Thai)
- Kamalipourazad, M., M. Sharifi, H.Z. Maivan, M. Behmanesh and N.A. Chashmi. 2016. Induction of aromatic amino acids and phenylpropanoid compounds in *Scrophularia striata* Boiss. cell culture in response to chitosan-induced oxidative stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 107: 374-384.
- Khitka, B. 2014. Influence of methyl jasmonate on antioxidant activity and nutritional value of Red oak lettuce in hydroponics farming system. *Khon Kaen Agricultural Journal* 42(Supplement 1): 652-657. (in Thai)

-
- Kim, D.O., S.W. Jeong and C.Y. Lee. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry* 81(3): 321-326.
- Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time qualitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods* 25(4): 402-408.
- Lopez-Moya, F., M. Suarez-Fernandez and L.V. Lopez-Llorca. 2019. Molecular mechanisms of chitosan interactions with fungi and plants. *International Journal of Molecular Sciences* 20(2): 332, doi: 10.3390/ijms20020332.
- Montri, N. and S. Saenphakdi. 2014. Effect of paclobutrazol on growth and development and total stemona alkaloids accumulation in root of *Stemona curtisii* Hook. F. *in vitro*. Khon Kaen Agricultural Journal. 42(Supplement 1): 602-608. (in Thai)
- Palee, J., S. Dheeranupattana, S. Wangkam, S.G. Pyne and A.T. Ung. 2016. Effects of chitosan and salicylic acid on *Stemona* alkaloid production in hydroponic culture of *Stemona curtisii* Hook. f. Chiang Mai Journal of Science 43(5): 1070-1076.
- Roupe, K.A., C.M. Remsberg, J.A. Yanez and N.M. Davies. 2006. Pharmacometrics of stilbenes: segueing towards the clinic. *Current Clinical Pharmacology* 1(1): 81-101.
- Raskin, I., D.M. Ribnicky, S. Komarnytsky, N. Illic, A. Poulev, N. Borisjuk, A. Brinker, D.A. Moreno, C. Ripoll, N. Yakoby, J.M. O'Neal, T. Cornwell, I. Pastor and B. Fridlender. 2002. Plants and human health in the twenty-first century. *Trends in Biotechnology* 20(12): 522-531.
- Shakya, A., G. Marslin, K. Siram, L. Beerhues and G. Franklin. 2017. Elicitation as a tool to improve the profiles of high-value secondary metabolites and pharmacological properties of *Hypericum perforatum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 71: 70-82.
- Singh, A. and P. Dwivedi. 2018. Methyl-jasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(1): 750-757.
- Thakur, M., S. Bhattachary, P.K. Khosla and S. Puri. 2019. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 12: 1-12.
- Wasternack, C. and M. Strnad. 2019. Jasmonates are signals in the biosynthesis of secondary metabolites - pathway, transcription factors and applied aspects - A brief review. *New Biotechnology* 48: 1-11.
- Xing, K., X. Zhu, X. Peng and S. Qin. 2015. Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development* 35: 569-589.
- Zhang, X. and C.J. Liu. 2015. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Molecular Plant* 8(1): 17-27.
-

ผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อสมบัติและการกักเก็บคาร์บอนในดินบนพื้นที่สูง อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน

Effects of Biochar Amendment on Soil Properties and Carbon Sequestration in Highland Areas of Pang Mapha District, Mae Hong Son Province

นิชาภัทร สิทธีวรนนท์ ชูชาติ สันธทรัพย์ และ ฟ้าไพลิน ไชยวรรณ
Nichapat Sittiworanon, Choochad Santasup* and Fapailin Chaiwan

ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200
Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: santasup@gmail.com

(Received: 13 March 2019; Accepted: 12 June 2019)

Abstract: The effect of biochar amendment on soil properties and carbon sequestration were evaluated using soil samples which were collected from Pang Mapha district, Mae Hong Son province. The study was conducted at the Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. This study was divided into two experiments, using completely randomized design (CRD) with 4 replications. Firstly, the effects of biochar amendment on soil properties were evaluated. Three different sizes of biochar (2-5, 1-2 and < 1 mm) were mixed with soil sample at the rates of 0.1, 1.0 and 3.0% (w/w). Soil moisture content were adjusted to the maximum water holding capacity (MWHC), then left to dry at room temperature. After that soil properties were analyzed. For the second experiment, effects of biochar on soil carbon sequestration were determined by mixing different rates of biochar with soil sample. The soil moisture content were maintained at 50% MWHC and then incubated at room temperature. After incubation, soil carbon content was analyzed. In addition, soil added with corn stubble (2 tons/rai) and soil without biochar were used for comparison. The results showed that addition of biochar >1.0% (w/w) reduced soil bulk density while MWHC, pH, EC, OM, available phosphorus and exchange potassium were significantly increased. In addition, carbon loss was found in the range of 0.16-0.26% with biochar treatment. However, it was not significantly different when compared to the control soil (0.17%). In contrast to the biochar treatments, corn stubble treatment showed significantly higher carbon loss (0.44%) than other treatments. These results suggested that biochar application as soil amendment was an alternative way to increase soil fertility and could lead to increased carbon sequestration in soil, 45% of carbon were captured.

Keywords: Biochar, soil properties, carbon sequestration

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อสมบัติของดินและการกักเก็บคาร์บอนในดินจาก อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน ได้ดำเนินการที่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลอง และวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของดิน โดยนำถ่านชีวภาพขนาดแตกต่างกัน 3 ขนาด (2-5, 1-2 และน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร) ไปผสมกับดินในอัตราที่แตกต่างกัน (0.1, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) นำไปปรับความชื้นของดินที่ความจุความชื้นสูงสุดของดิน แล้วปล่อยให้แห้งในสภาพอุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวิเคราะห์สมบัติของดิน สำหรับการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการกักเก็บคาร์บอนในดิน โดยการผสมถ่านชีวภาพลงในดินในอัตราที่แตกต่างกัน (0.1, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) เปรียบเทียบกับดินที่เติมตอซังข้าวโพด อัตรา 2 ตัน/ไร่ และกรรมวิธีควบคุม ทำการปรับความชื้นของดินให้อยู่ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ของความจุความชื้นสูงสุด นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังการบ่มดิน 1 เดือน ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนที่เหลือในดิน ผลการศึกษาพบว่า การใช้ถ่านชีวภาพในอัตราตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ความหนาแน่นรวมของดินลดลง ในขณะที่ความสามารถในการอุ้มน้ำของดิน ความเป็นกรดของดิน การนำไฟฟ้า อินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และนอกจากนั้นพบว่าดินที่เติมถ่านชีวภาพ มีการสูญเสียคาร์บอนในช่วง 0.16-0.26 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ดินที่เติมตอซังข้าวโพดในอัตรา 2 ตัน/ไร่ มีการสูญเสียคาร์บอนสูงถึง 0.44 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาชี้ให้เห็นว่า การนำถ่านชีวภาพมาใช้เป็นวัสดุปรับปรุงบำรุงดิน เป็นแนวทางหนึ่งที่จะเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ดิน และยังสามารถเพิ่มการกักเก็บคาร์บอนไว้ในดินได้มากกว่าการไถกลบตอซัง ซึ่งสามารถเก็บกักคาร์บอนในดินได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: ถ่านชีวภาพ สมบัติดิน การกักเก็บคาร์บอน

คำนำ

ปัจจุบันเศษวัสดุเหลือใช้หลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บนพื้นที่สูง มีการนำมาใช้ประโยชน์เพียงเล็กน้อย เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงในไถลอบแห้งเมล็ดข้าวโพด เป็นต้น ภายหลังจากการเก็บเกี่ยวข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ส่วนของซังหรือเปลือกของข้าวโพดที่เหลือจะถูกกองทิ้งไว้ในบริเวณที่สี และนำไปกำจัดโดยการเผาหรือปล่อยให้ย่อยสลายตามธรรมชาติ เช่นเดียวกับต้นตอ และใบ ซึ่งการเผาเศษวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรหลังเก็บเกี่ยวส่งผลให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และฝุ่นละอองขนาดเล็กเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในช่วงฤดูแล้งของทุก ๆ ปี (เดือนมกราคม ถึง เมษายน) เกษตรกรในเขตพื้นที่ภาคเหนือ 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน พะเยา แพร่ น่าน อุตรดิตถ์ แม่ฮ่องสอน และตาก จะเผาทำลายตอซัง ฟางข้าว และเศษวัสดุเหลือใช้ในไร่นา เพื่อเตรียมพื้นที่เพาะปลูกฤดูกาลใหม่ ซึ่งทำให้เกิดความร้อน และหมอกควัน ฝุ่นฟุ้งกระจายปกคลุมพื้นที่ในหลายจังหวัด

(Santasup et al., 2016) นอกจากนี้ การเผาเศษวัสดุเหลือใช้จากภาคการเกษตรหลังเก็บเกี่ยวทำให้เกิดการสูญเสียอินทรีย์วัตถุและธาตุอาหารในดินเป็นจำนวนมากจากการระเหินของกรรมพัฒนาที่ดิน พบว่า ปริมาณตอซังและฟางข้าวสูงถึงปีละ 50-60 ล้านตัน หากถูกเผาจะสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ถึง 27 ล้านตัน และมีคาร์บอนฟุ้งกระจายบนผิวโลก อีกทั้งพื้นดินต้องสูญเสียธาตุอาหารหลักที่เป็นไนโตรเจนถึง 90 ล้านกิโลกรัม ฟอสฟอรัส 20 ล้านกิโลกรัม และโพแทสเซียม 260 ล้านกิโลกรัม นอกจากนี้ยังมีการสูญเสียธาตุอาหารรอง เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟอร์ อีกกว่า 150 ล้านกิโลกรัม/ปี คิดเป็นมูลค่าว่าห่าพันล้านบาท เป็นผลทำให้เกษตรกรต้องใช้จ่ายเคมี เพื่อทดแทนธาตุอาหารที่สูญเสียไปจากการเผาตอซัง ส่งผลให้มีต้นทุนการผลิตสูงขึ้น (Land Development Department, 2005) ทางเลือกในการแก้ไขปัญหาอย่างหนึ่ง ได้แก่ ปรับเปลี่ยนวิธีการเผาในที่โล่งแจ้ง มาเป็นการเผาโดยไม่ใช้ออกซิเจน หรือใช้น้อยมาก เรียกว่า ไพโรไลซิส (pyrolysis) ผลผลิตถ่านที่ได้ เรียกว่า ถ่านชีวภาพ (biochar)

การตัดแล้วเผาในพื้นที่โล่งแจ้งทำให้เหลือปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเพียง 3 เปอร์เซ็นต์ แต่การตัดแล้วเผาแบบไพโรไลซิส จะได้ถ่านชีวภาพ ที่มีปริมาณคาร์บอนในรูปที่มีความเสถียรได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (Lehman and Rondo, 2006; Lehmann *et al.*, 2006) นอกจากความสามารถด้านการกักเก็บคาร์บอนแล้ว ถ่านชีวภาพยังเป็นแหล่งกักเก็บอาหาร และความชื้นอีกด้วย (Steinbeiss *et al.*, 2009) อีกทั้งลักษณะโครงสร้างที่มีผิวสัมผัสมากและมีลักษณะเป็นประจุลบบริเวณผิวสัมผัส ส่งผลให้ช่วยเพิ่มการแลกเปลี่ยนประจุภายในดิน (cation exchange capacity, CEC) กับธาตุอาหารที่มีลักษณะเป็นประจุบวก จึงเป็นอีกหนึ่งช่องทางสำหรับการสะสมธาตุอาหารให้กับพืช และด้วยคุณลักษณะของถ่านชีวภาพที่มีค่าความเป็นกรด ต่าง (soil pH) สูง จึงช่วยลดค่าความเป็นกรดของดิน โดยเฉพาะดินที่เสื่อมสภาพ และมีการสะสมของสารเคมีเป็นระยะเวลานาน (Liang *et al.*, 2006) ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของถ่านชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของดินและการกักเก็บคาร์บอนในดิน

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษามูลของถ่านชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดินและการกักเก็บคาร์บอนในดิน ได้ดำเนินการที่ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2558 ถึง เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2559 ประกอบด้วยการทดลอง 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของดิน และการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาผลของถ่านชีวภาพต่อการกักเก็บคาร์บอนในดิน

การศึกษามูลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของดิน

การศึกษามูลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของดิน เลือกใช้ถ่านชีวภาพที่ผลิตจากตอซังข้าวโพด (ลำต้น และใบข้าวโพด) เนื่องจากเป็นวัสดุ

เหลือใช้ทางการเกษตรที่มีมากในภาคเหนือ โดยนำตอซังข้าวโพด (อินทรีย์คาร์บอน 43.5 เปอร์เซ็นต์) มาตัดให้เป็นชิ้นส่วนที่เล็กลง นำไปเผาด้วยเตาเผาถ่านชีวภาพ ที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ณ โรงเรือนทดลอง ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถ่านชีวภาพที่ได้ มีความเป็นกรดต่าง (pH) เท่ากับ 8.90 ค่าการนำไฟฟ้า (EC) 5.95 mS/cm ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน 78 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 0.18 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียม 2.90 เปอร์เซ็นต์ นำถ่านชีวภาพที่ผลิตได้ มาบดและร่อนผ่านตะแกรง แยกเป็น 3 ขนาด คือ ขนาด 2-5 มิลลิเมตร ขนาด 1-2 มิลลิเมตร และน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร จากนั้นนำถ่านชีวภาพขนาดแตกต่างกัน 3 ขนาด ไปผสมกับตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากพื้นที่สูง อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน ซึ่งดินมีความเป็นกรดต่าง (pH) 5.20 ค่าการนำไฟฟ้า 39.27 μ S/cm ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 4.46 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 7.54 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 139 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดยวางแผนการทดลองแบบแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธีการทดลอง คือ กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (ดินไม่ผสมถ่านชีวภาพ) กรรมวิธีที่ 2-4 ดินผสมถ่านชีวภาพ ขนาดน้อยกว่า 1 มิลลิกรัม อัตรา 0.1, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 5-7 ดินผสมถ่านชีวภาพ ขนาด 1-2 มิลลิกรัม อัตรา 0.1, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ และกรรมวิธีที่ 8-10 ดินผสมถ่านชีวภาพ ขนาด 2-5 มิลลิกรัม อัตรา 0.1, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ ภายหลังจากผสมถ่านชีวภาพกับดินให้เข้ากันแล้ว ทำการบรรจุดินลงในคอร์พลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร ที่ปิดหุ้มปลายด้านหนึ่งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ให้ระดับของดินเสมอขอบคอร์พลาสติก นำไปแช่น้ำกลั่นจนกระทั่งดินดูดซับน้ำเต็มที่ (ประมาณ 2 ชั่วโมง) แล้วจึงนำไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกการเปลี่ยนแปลงความชื้นของดินจนกระทั่งน้ำหนักไม่เปลี่ยน แล้วทำการวิเคราะห์สมบัติพื้นฐานทางฟิสิกส์ และเคมีของดิน ได้แก่ ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density, Db) ด้วยวิธี core method (Klodpeng, 1985) ความจุความชื้นสูงสุดของดิน (maximum

water holding capacity, MWHC) ความเป็นกรด-ด่างของดิน (soil pH) อัตราส่วนของดินต่อน้ำเท่ากับ 1:2 โดยใช้ pH-meter (Siwasilp, 1984) การนำไฟฟ้าของดิน (electrical conductivity, EC) ปริมาณอินทรียวัตถุ (organic matter, OM) ในดิน ด้วยวิธีของ Walkley and Black (Siwasilp, 1984) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus, avail. P) โดยการสกัดด้วยสารละลาย Bray-II และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) (Bray and Kurtz, 1945) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable potassium, exch. K) โดยการสกัดด้วยสารละลาย ammonium acetate pH 7 และวัดปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AAS) (Siwasilp, 1984) นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีทดลองโดยวิธี least significant difference (LSD) ที่ค่าความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Statistic for Window version 9

การศึกษาผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการกักเก็บคาร์บอน (carbon sequestration) ในดิน

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ วางแผนการทดลองแบบ สุ่ม สมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี โดยใช้ถ่านชีวภาพที่ผลิตจากต่อซึ่งข้าวโพด (ลำต้น และใบข้าวโพด) ขนาด 1-2 มิลลิเมตร ผสมถ่านชีวภาพลงไปในดิน (ดินชนิดเดียวกับการทดลองที่ 1) ในอัตราที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0.1, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และเปรียบเทียบกับดินที่เติมต่อซึ่งข้าวโพดแห้ง (บดละเอียดผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร) ในอัตรา 2 ต้น/ไร่ และมีดินที่ไม่เติมถ่านชีวภาพเป็นกรรมวิธีควบคุม หลังจากผสมถ่านชีวภาพให้เข้ากับดินแล้ว ทำการปรับความชื้นของดินให้อยู่ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ MWHC ด้วยน้ำกลั่น นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 1 เดือน ก่อนทำการบ่ม และหลังการบ่มดินเสร็จสิ้น ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนในดิน ด้วยเครื่องวิเคราะห์

คาร์บอนแบบ combustion macro elemental analysis (รุ่น multi EA® 4000, Analytik Jena) วิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดลองด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีทดลองโดยวิธี least significant difference (LSD) ที่ค่าความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Statistic for Window version 9

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของดิน

ความหนาแน่นรวมของดิน

ผลของการเติมถ่านชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของดินแสดงไว้ใน Table 1 การเติมถ่านชีวภาพขนาดน้อยกว่า 1, 1-2 และ 2-5 มิลลิเมตร ลงไปในดินที่เก็บจากพื้นที่สูง อ. ปางมะผ้า จ. แม่ฮ่องสอน ในอัตราที่แตกต่างกัน พบว่า ความหนาแน่นรวมของดินลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความหนาแน่นรวมของดินในทุกกรรมวิธีการเติมถ่านชีวภาพแปรผกผันกับอัตราการใส่ถ่านชีวภาพที่เพิ่มขึ้น การเติมถ่านชีวภาพขนาดน้อยกว่า 1 และ 2-5 มิลลิเมตร ที่อัตรา 0.1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) พบว่า ความหนาแน่นรวมของดินไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับดินที่ไม่เติมถ่านชีวภาพ ซึ่งมีค่าความหนาแน่นของดิน 0.99 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร แต่เมื่อเติมถ่านชีวภาพในอัตรา 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) มีผลทำให้ค่าความหนาแน่นรวมของดินลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อยู่ในช่วง 0.82-0.94 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร เมื่อเทียบกับดินที่ไม่ได้เติมถ่านชีวภาพ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mankasingh *et al.* (2011) พบว่า การเติมถ่านชีวภาพลงในดิน ทำให้ความหนาแน่นของดินลดลงจาก 1.66 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร เป็น 1.53 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร ความหนาแน่นของดินเป็นตัวบ่งชี้อย่างหนึ่งของระดับการอัดตัวของอนุภาคของดิน โดยทั่วไปดินไร่ที่เหมาะสมต่อการเพาะปลูกจะมีค่าความหนาแน่นระหว่าง 1.1-1.5 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร และมีค่าประมาณ 1.61-1.80 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร สำหรับดินดานได้ชั้นไถพรวนในดินนา

Table 1. Effect of biochar applications on bulk density (Db), maximum water holding capacity (MWHC), pH, electrical conductivity (EC), organic matter (OM), available phosphorus (avail. P) and exchangeable potassium (exch. K) of soil collected from highland, Pang Mapha district, Mea Hong Son province

Treatment	Soil properties						
	Db (g/ml)	MWHC ¹ (%)	pH	EC (μS/cm)	OM (%)	Avail. P (mg/kg)	Exch. K (mg/kg)
1. MHS: Control	0.99 a ²	55.63 e	5.20 f	39.27 f	4.46 c	7.54 ef	139 i
2. MHS: S<1, P 0.1%	0.99 a	57.40 de	5.34 f	51.47 ef	4.53 bc	8.26 ef	258 e
3. MHS: S<1, P 1.0%	0.94 c	60.10 d	5.60 e	96.00 e	4.89 a	15.37 c	261 e
4. MHS: S<1, P 3.0%	0.84 e	69.86 b	6.58 b	350 c	4.80 a	38.87 a	588 b
5. MHS: S1-2, P 0.1%	0.97 b	58.28 df	5.99 d	61.80 ef	4.49 c	8.45 ef	196 g
6. MHS: S1-2, P 1.0%	0.92 d	63.47 c	6.38 c	188 d	4.79 a	13.35 cd	221 f
7. MHS: S1-2, P 3.0%	0.82 f	72.85 a	7.46 a	514 b	4.89 a	36.20 b	673 a
8. MHS: S2-5, P 0.1%	0.99 a	57.76 de	6.28 c	42.70 ef	4.48 c	6.50 f	162 h
9. MHS: S2-5, P 1.0%	0.94 c	57.67 de	6.66 b	218 d	4.60 b	9.03 e	312 d
10. MHS: S2-5, P 3.0%	0.84 e	64.96 b	7.44 a	602 a	4.82 a	11.76 d	523 c
LSD (0.05)	0.01	0.77	0.17	38.29	0.10	2.04	4.61
CV (%)	0.94	0.87	1.82	12.25	1.52	9.10	0.96

¹ zero day after water immersing

² Means in each column followed by different letter indicate significant difference using least significant difference (LSD) at 5% probability level

และค่าวิกฤตที่สูงกว่า 1.8 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร จะขัดขวางการซอมไซและการหยั่งรากของพืชไร่ทั่ว ๆ ไป (Panomtaranichagul, 1987) การลดลงของความหนาแน่นดินที่เติมถ่านชีวภาพเป็นผลจากลักษณะของถ่านชีวภาพที่เป็นผลึกคาร์บอนที่มีรูพรุน และมีพื้นที่ผิวจำเพาะสูงเมื่อเทียบกับอนุภาคดินเหนียว (มากกว่า 1,500 ตารางเมตร/กรัม) ซึ่งลักษณะดังกล่าวทำให้ถ่านชีวภาพมีความสามารถในการดูดซับโมเลกุลทั้งที่เป็นประจุบวกและประจุลบ เช่นเดียวกับสารอาหารของพืชและโมเลกุลน้ำ ซึ่งเมื่อเติมถ่านชีวภาพลงไปในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำจะทำให้ลดความหนาแน่นของดินและเพิ่มความจุในการอุ้มน้ำ (Atkinson *et al.*, 2010)

ความจุความชื้นสูงสุดของดิน

การเติมถ่านชีวภาพลงไปในดินยังส่งผลให้ความจุความชื้นสูงสุดของดินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ดินที่เติมถ่านชีวภาพขนาด 1-2 มิลลิเมตร อัตรา 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) จะทำให้ค่าความจุความชื้นสูงสุด

เพิ่มขึ้นมากที่สุดเท่ากับ 72.85 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (55.63 เปอร์เซ็นต์) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hemwong (2013) ที่ได้ทำการเติมถ่านชีวภาพลงในดินที่ปลูกข้าวโพดหวาน พบว่า ค่าความจุความชื้นสูงสุดของดินที่เติมถ่านชีวภาพ สูงกว่าดินที่ไม่เติมถ่านชีวภาพ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความเป็นกรด ต่างของดิน

ถ่านชีวภาพที่ใช้ในการปรับปรุงดินโดยทั่วไปมีคุณสมบัติเป็นด่าง ซึ่งจะมีผลต่อค่าความเป็นกรด ต่างของดิน โดยทั่วไปค่าความเป็นกรด ต่างของถ่านชีวภาพอยู่ระหว่าง 4-12 ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้และสภาพแวดล้อมของการเผา (Lehmann, 2007) สำหรับการศึกษาดังกล่าวนี้นี้ใช้ถ่านชีวภาพที่ผลิตจากตอซังข้าวโพด โดยอุณหภูมิการเผาประมาณ 400 องศาเซลเซียส มีค่าความเป็นกรด ต่างเท่ากับ 8.90 เมื่อเติมถ่านชีวภาพลงไปในดินมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด ต่างของดินเพิ่มขึ้นตามปริมาณถ่านชีวภาพที่เติมลงไป โดยการเติมถ่านชีวภาพขนาด 1-2 มิลลิเมตร

ในอัตรา 3.0 เปอร์เซนต์ (w/w) ทำให้ค่าความเป็นกรด ต่างของดิน เพิ่มมากที่สุดคือ 7.46 และการเติมถ่านชีวภาพทุกขนาด ในอัตราตั้งแต่ 1.0-3.0 เปอร์เซนต์ (w/w) ทำให้ค่าความเป็นกรด ต่างของดินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 5.60-7.46 การเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรด ต่างของดินที่มีการเติมถ่านชีวภาพเป็นผลมาจากค่าความเป็นกรด ต่าง เดิมของถ่านชีวภาพที่มีค่าสูง หรืออยู่ในช่วงที่เป็นด่าง นอกจากนี้ขี้เถ้า (ash) ที่อยู่ในถ่านชีวภาพในรูป oxides, hydroxides และ carbonate ของ Ca, Mg, K และ Na ซึ่งเกิดจากกระบวนการ pyrolysis มีผลทำให้ถ่านชีวภาพทำหน้าที่เสมือนปูน สามารถนำไปใช้ในการปรับสภาพความเป็นกรดของดิน (liming agent) ได้ อีกด้วยเช่นกัน (Houben *et al.*, 2013)

การนำไฟฟ้าของดิน

การเติมถ่านชีวภาพลงในดินมีผลทำให้ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ในดินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามปริมาณ และขนาดของถ่านชีวภาพที่เติมลงไป ซึ่งพบว่าการเติมถ่านชีวภาพขนาด 2-5 มิลลิเมตร ในอัตรา 3.0 เปอร์เซนต์ (w/w) ส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าของดินมีค่าสูงที่สุดคือ 602 $\mu\text{S}/\text{cm}$ เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุมประมาณ 20 เท่า (39.27 $\mu\text{S}/\text{cm}$) นอกจากนี้ ขนาดของถ่านชีวภาพยังส่งผลต่อค่า EC คือขนาดของถ่านชีวภาพที่ใหญ่ขึ้นจะส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าของดินมีค่ามากขึ้น เช่น ในกรรมวิธีที่เติมถ่านชีวภาพในอัตรา 3.0 เปอร์เซนต์ (w/w) ค่าการนำไฟฟ้าของดินมีค่าเท่ากับ 350, 514 และ 602 $\mu\text{S}/\text{cm}$ สำหรับถ่านชีวภาพขนาดน้อยกว่า 1, 1-2, และ 2-5 มิลลิเมตร ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของค่าการนำไฟฟ้าของดินนั้นเป็นผลมาจาก cation เช่น Ca, Mg, K และ Na ที่อยู่ในถ่านชีวภาพปริมาณมาก (Houben *et al.*, 2013)

อินทรีย์วัตถุในดิน

การเติม ถ่านชีวภาพ เพื่อศึกษาปริมาณอินทรีย์วัตถุ (OM) ในดิน พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ตามปริมาณของถ่านชีวภาพที่เติมลงไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งดินที่มีการเติมถ่านชีวภาพในอัตรา มากกว่า 0.1 เปอร์เซนต์ (w/w) ทำให้ปริมาณอินทรีย์วัตถุเพิ่มขึ้นมาอยู่ในช่วง 4.60-4.89 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน

ควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.46 เปอร์เซนต์ และนอกจากนี้ เป็นที่น่าสังเกตว่า ถ่านชีวภาพที่มีขนาดเล็กมีแนวโน้มจะช่วยเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินได้สูงกว่าถ่านชีวภาพที่มีขนาดใหญ่กว่า ในอัตราการใช้ที่เท่ากัน ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจนในอัตราการใช้ถ่านชีวภาพที่ 1.0 เปอร์เซนต์ (w/w) การเติมถ่านชีวภาพขนาดน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร ช่วยเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินได้สูงที่สุด คือ 4.89 เปอร์เซนต์ เมื่อเทียบกับการใช้ถ่านชีวภาพขนาด 1-2 มิลลิเมตร และ 2-5 มิลลิเมตร ซึ่งทำให้ดินมีอินทรีย์วัตถุ 4.79 และ 4.60 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของปริมาณอินทรีย์วัตถุเมื่อใช้ถ่านชีวภาพที่มีขนาดเล็ก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ เป็นการวิเคราะห์หาคาร์บอนที่ถูกออกซิไดซ์ได้ (oxidized carbon) ตามกรรมวิธีของ Walkley and Black (Siwasilp, 1984) แล้วจึงคำนวณเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุ ในการใช้ถ่านชีวภาพในปริมาณที่เท่ากัน ถ่านชีวภาพที่มีขนาดเล็กกว่าจะมีพื้นที่ผิวมากกว่าถ่านชีวภาพที่มีขนาดใหญ่กว่า จึงสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารออกซิไดซ์ได้ดีกว่าถ่านชีวภาพที่มีขนาดใหญ่ จึงมีแนวโน้มทำให้มีปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินสูงกว่าการใช้ถ่านชีวภาพที่มีขนาดที่ใหญ่มากกว่า

ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์

สมบัติดินที่ใช้ในการทดลอง มีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) 5.20 ค่าการนำไฟฟ้า 39.27 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 4.46 เปอร์เซนต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 7.54 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 139 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เมื่อเติมถ่านชีวภาพ ในอัตรา มากกว่า 1.0 เปอร์เซนต์ (w/w) พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (avail. P) ในดินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการเติมถ่านชีวภาพที่ขนาดน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร อัตรา 3 เปอร์เซนต์ (w/w) ส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มีค่าสูงสุดที่ 38.87 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับดินในกรรมวิธีควบคุมที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 7.54 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อย่างไรก็ตาม การใช้ถ่านชีวภาพที่มีขนาดใหญ่ขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ลดลง เนื่องจากถ่านชีวภาพที่มีขนาดใหญ่นั้น มีพื้นที่ผิวในการดูดซับ (sorption capacity) น้อยกว่าถ่านชีวภาพที่มี

ขนาดเล็ก อีกทั้งยังมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลคือการเพิ่มขึ้นของความเป็นกรด ด่างของดิน ทำให้การดูดซับฟอสฟอรัสลดลง เนื่องจากเกิดแรงผลักทางไฟฟ้า (electrostatic repulsion) บนพื้นผิวของอนุภาคดิน ทำให้การดูดซับฟอสฟอรัสลดลง (Chen *et al.*, 2018)

โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

การเติมถ่านชีวภาพลงในดินส่งผลให้ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exch. K) มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามปริมาณของถ่านชีวภาพที่เติมลงไป ซึ่งการเติมถ่านชีวภาพขนาด 1-2 มิลลิเมตร ในอัตรา 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ช่วยเพิ่มปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงถึง 673 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในขณะที่ดินในกรรมวิธีควบคุม มีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 139 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แสดงให้เห็นว่าการเติมถ่านชีวภาพช่วยเพิ่มปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินได้ประมาณ 5 เท่า

ผลการศึกษาผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการกักเก็บคาร์บอน (carbon sequestration) ในดิน

การศึกษากการกักเก็บคาร์บอนในดิน โดยการนำถ่านชีวภาพขนาด 1-2 มิลลิเมตร ผสมลงไปดินในอัตราที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 0.1-3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) เปรียบเทียบกับดินที่เติมตอซังข้าวโพด อัตรา 2 ตัน/ไร่ และกรรมวิธีควบคุม (ดินที่ไม่มีการเติมถ่านชีวภาพ) แล้วนำตัวอย่างดินมาวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอน ก่อนที่จะทำการบ่มพบว่า การเติมถ่านชีวภาพทำให้ปริมาณคาร์บอนในดินเพิ่มขึ้นจาก 3.42 เปอร์เซ็นต์ ในกรรมวิธีควบคุมเป็น 3.53, 4.00 และ 5.13 เปอร์เซ็นต์ ในดินที่เติมถ่านชีวภาพอัตรา 0.1, 1.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ นอกจากนี้ ปริมาณคาร์บอนในดินที่เติมถ่านชีวภาพนั้นยังสูงกว่าดินที่เติมตอซังข้าวโพดในอัตรา 2 ตัน/ไร่ หลังจากทำการปรับความชื้นของดินที่ 50 เปอร์เซ็นต์ MWHC และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน แล้วนำตัวอย่างดินมาวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนเหลืออยู่ในดิน พบว่า ดินที่เติมตอซังข้าวโพดในอัตรา 2 ตัน/ไร่ มีการสูญเสียคาร์บอน (carbon loss) มากกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 0.44 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็น 1.63 กรัม CO₂/100 กรัม ในขณะที่ดินที่เติมถ่านชีวภาพทุก

อัตรา มีการสูญเสียคาร์บอนอยู่ในช่วง 0.16-0.26 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าอินทรีย์คาร์บอนที่อยู่ในถ่านชีวภาพอยู่ในรูปที่ค่อนข้างเสถียรทนทานต่อการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์มากกว่าอินทรีย์คาร์บอนที่อยู่ในตอซังข้าวโพด ซึ่งจากการศึกษาของ Schweikle *et al.* (2016) เกี่ยวกับสมบัติทางเคมีของถ่านชีวภาพที่ผลิตได้จากซังข้าวโพด โดยการเผาที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส พบว่าถ่านชีวภาพที่ผลิตได้ มีอินทรีย์วัตถุ 10.14 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็นอินทรีย์คาร์บอน 5.80 เปอร์เซ็นต์ (วิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในถ่านชีวภาพด้วยวิธี Walkley and Black) ซึ่งจะเห็นได้ว่าอินทรีย์คาร์บอนที่ถูกออกซิไดซ์ได้ในถ่านชีวภาพมีปริมาณค่อนข้างต่ำ (5.80 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็น 7.44 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดในถ่านชีวภาพ (78 เปอร์เซ็นต์) ข้อมูลจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ถ่านชีวภาพประกอบไปด้วยอินทรีย์คาร์บอนสองส่วน คือส่วนที่สามารถถูกออกซิไดซ์ได้ ซึ่งเป็นคาร์บอนส่วนน้อย และส่วนที่ไม่ถูกออกซิไดซ์หรือถูกออกซิไดซ์ได้ยาก ซึ่งเป็นคาร์บอนส่วนใหญ่ของถ่านชีวภาพหรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นคาร์บอนที่อยู่ในรูปที่เสถียร ดังนั้นเมื่อใส่ถ่านชีวภาพลงไปในดิน การเปลี่ยนแปลงของคาร์บอนในดินจึงไม่แตกต่างกับดินชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การเติมตอซังข้าวโพดแห้งลงไปในดิน อินทรีย์คาร์บอนลดลงแตกต่างจากการเติมถ่านชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจาก ในตอซังข้าวโพดแห้งมีอินทรีย์คาร์บอนในส่วนที่สามารถย่อยสลายได้มีปริมาณสูงกว่าในถ่านชีวภาพ ซึ่งจากผลการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนที่สามารถย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ (biodegradable organic carbon, BOC) ในตอซังข้าวโพดแห้งที่นำมาใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ โดยใช้เทคนิค pyrolysis ด้วยเครื่อง multi EA® 4000, Analytik Jena (Analytik Jena AG, 2017; Jezierski, 2015) พบว่ามีปริมาณ 34.43 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็น 79.15 เปอร์เซ็นต์ ของอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดในตอซังข้าวโพดแห้ง (43.5 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่มีคาร์บอนในรูปที่เสถียร 7.24 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็น 20.85 เปอร์เซ็นต์ ของอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดในตอซังข้าวโพดแห้ง จึงทำให้

ดินที่มีการเติมตอซังแห้งข้าวโพด มีการลดลงของอินทรีย์คาร์บอนสูงที่สุด

โดยทั่วไปแล้วตอซังข้าวโพดหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้วจะเหลือน้ำหนักแห้งอยู่ในช่วง 700-1,500 กิโลกรัม/ไร่ ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวโพด ฤดูกาล และระยะปลูก ตอซังข้าวโพดที่นำมาใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ มีอินทรีย์คาร์บอน 43.5 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่อยู่ในตอซังข้าวโพดเท่ากับ 305-653 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อนำตอซังข้าวโพดทั้งหมดมาผลิตเป็นถ่านชีวภาพ โดยอุณหภูมิการเผาอยู่ระหว่าง 400-500 องศาเซลเซียส จะได้ถ่านชีวภาพ 25 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งวัตถุดิบ (Schweikle *et al.*, 2016) ซึ่งจะได้ถ่านชีวภาพ 175-375 กิโลกรัม/ไร่ ถ่านชีวภาพที่ผลิตได้มีอินทรีย์คาร์บอน 78 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็นอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด 137-293 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อนำถ่านชีวภาพใส่ลงไปในดิน ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า มีการสูญเสียคาร์บอนจากดินในรูปก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เนื่องจากกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์น้อยมาก ไม่แตกต่างจากดินชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงอาจกล่าวได้ว่า อินทรีย์คาร์บอนในถ่านชีวภาพทั้งหมด (137-293 กิโลกรัม/ไร่) อยู่ในรูปที่เสถียรและถูกเก็บไว้ในดิน หรือคิดเป็นการเก็บกักคาร์บอน

ที่เสถียรไว้ในดินได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคำนวณได้จากปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดในถ่านชีวภาพ (137 กิโลกรัม/ไร่) หารด้วยปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดในตอซังข้าวโพด (305 กิโลกรัม/ไร่) คูณด้วย 100; $((137/305) \times 100 = 45 \text{ เปอร์เซ็นต์})$ ในขณะที่การเผาทำลายตอซังข้าวโพดทั้งหมด อินทรีย์คาร์บอนเกือบทั้งหมดจะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซทั้งในรูปคาร์บอนมอนอกไซด์และคาร์บอนไดออกไซด์สู่บรรยากาศ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Lehmann *et al.* (2006) ที่พบว่าการตัดแล้วเผาได้เหลืออินทรีย์คาร์บอนเพียง 3 เปอร์เซ็นต์ แต่การตัดแล้วเผาแบบให้ได้ถ่านชีวภาพเพื่อนำมาใช้เป็นวัสดุบำรุงดิน สามารถเหลือคาร์บอนในรูปที่มีความเสถียรในดินได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ถ่านชีวภาพจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในแง่ของการกักเก็บคาร์บอน เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีความเสถียรมีปริมาณคาร์บอนสูง และคงทนอยู่ในดินได้นาน จึงทำให้ดินที่เติมถ่านชีวภาพมีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ช้ากว่าดินที่เติมสารอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เช่น ชากพืช ปุ๋ยพืชสด ปุ๋ยหมัก และปุ๋ยคอก จึงช่วยลดการเกิดสภาวะเรือนกระจกได้ (Table 2)

Table 2. Effect of biochar application on carbon sequestration in highland soil of Pang Mapha district, Mea Hong Son province

Treatments	%TC		Carbon loss	
	Before incubation	After incubation	(%)	(g CO ₂ /100g)
1.Control (Soil)	3.42 d ¹	3.25 c	0.17 b	0.63
2.Soil+Biochar 0.1%	3.53 d	3.30 c	0.23 b	0.85
3.Soil+Biochar 1.0%	4.00 b	3.74 b	0.26 b	0.95
4.Soil+Biochar 3.0%	5.13 a	4.97 a	0.16 b	0.58
5.Soil+Corn stubble 2 tons/rai	3.80 c	3.36 c	0.44 a	1.63
LSD (0.05)	0.13	0.11	0.16	
CV (%)	2.14	1.92	41.35	

¹ Means in each column followed by different letters indicate significant difference using least significant difference (LSD) at 5% probability level

สรุป

การใช้ถ่านชีวภาพ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางประชากรของดิน โดยถ่านชีวภาพที่ใส่ลงไปในดิน ทำให้ความหนาแน่นรวมของดินลดลง สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำของดินช่วยยกระดับความเป็นกรดต่างของดิน และทำให้ค่าการนำไฟฟ้าของดินเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นดัชนีชี้ให้เห็นว่าดินมีปริมาณธาตุอาหารเพิ่มสูงขึ้นจากการทดลอง พบว่าการเติมถ่านชีวภาพขนาด 1-2 มิลลิเมตร ในอัตรา 3.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ทำให้ค่าความจุความชื้นสูงสุดของดิน โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และความจุประจุบวกที่แลกเปลี่ยนได้มีค่าสูงที่สุด นอกจากนี้การเติมถ่านชีวภาพในอัตรามากกว่า 1.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) สามารถยกระดับความเป็นกรดต่างของดินให้สูงขึ้นเพิ่มฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินชี้ให้เห็นว่า การนำถ่านชีวภาพมาใช้เป็นวัสดุปรับปรุงบำรุงดิน เป็นอีกหนึ่งแนวทางที่จะช่วยลดต้นทุนของการผลิตของเกษตรกร นอกจากนี้ การเติมถ่านชีวภาพเป็นการเก็บกักคาร์บอนในดินได้ดีกว่าการไถกลบตอซัง โดยสามารถเก็บกักคาร์บอนในรูปที่เสถียรไว้ในดินได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนทุนวิจัย ห้องปฏิบัติการปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และบริษัท อนาคตคิด เยน่า ฟาร์อีสต์ (ประเทศไทย) จำกัด ที่อนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์และพื้นที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Analytik Jena AG. 2017. Operating manual multi EA 4000 Elemental analyzer C, S and Cl solid analysis. Instruction Manual. Analytik Jena AG. Konrad-Zuse-Str.1, Germany. 302 p.
- Atkinson, C.J., J.D. Fitzgerald and N.A. Hipps. 2010. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. *Plant and Soil* 337(1-2): 1-18.
- Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* 59(1): 39-45.
- Chen, M., N. Alim, Y. Zhang, N. Xu and X. Cao. 2018. Contrasting effects of biochar nanoparticles on the retention and transport of phosphorus in acidic and alkaline soils. *Environmental Pollution* 239: 562-570.
- Hemwong, S. 2013. Biochar: carbon sequestration and soil fertility. *King Mongkut's Agricultural Journal* 31(1): 104-113. (in Thai)
- Houben, D., L. Evrard and P. Sonnet. 2013. Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc and lead in a contaminated soil amended with biochar. *Chemosphere* 92(11): 1450-1457.
- Jezierski, S. 2015. Determination of different carbon species in solids - using the real chemistry to obtain the right results. (Online). Available: <https://www.envirotech-online.com/article/environmental-laboratory/7/analytik-jena-ag/determination-of-different-carbon-species-in-solids-ndash-using-the-real-chemistry-to-obtain-the-right-results/1938> (April, 30, 2019)
- Klodpeng, T. 1985. Methods of Soil Physical Analysis. Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 205 p. (in Thai)
- Land Development Department. 2005. Manual for Stop Slash Burning, Sustainable Soil and Environmental Restorations. Land Development Department, Bangkok. 20 p. (in Thai)

-
- Lehmann, J. 2007. Bio-energy in the black. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5(7): 381-387.
- Lehmann, J. and M. Rondon. 2006. Bio-char soil management on highly weathered soil in the humid tropics. pp. 517-530. *In*: N. Uphoff, A.S. Ball, E. Fernandes, H. Herren, O. Husson, M. Laing, C. Palm, J. Pretty, P. Sánchez, N. Sanginga and J. Thies (eds.). *Biological Approaches to Sustainable Soil Systems*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Lehmann, J., J. Gaunt and M. Rondon. 2006. Biochar sequestration in terrestrial ecosystems - a review. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 11(2): 403-427.
- Liang, B., J. Lehmann, D. Solomon, J. Kinyangi, J. Grossman, B. O'Neill, J.O. Skjemstad, J. Thies, F.J. Luizao, J. Petersen and E.G. Neves. 2006. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. *Soil Science Society of America Journal* 70: 1719-1730.
- Mankasingh, U., P.C. Choi and V. Ragnarsdottir. 2011. Biochar application in a tropical, agricultural region: A plot scale study in Tamil Nadu, India. *Applied Geochemistry* 26(Suppl.): S218-S221.
- Panomtaranichagul, M. 1987. *Soil Physics*. Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 514 p. (in Thai)
- Santasup, C., K. Inthani, K. Sringarm, W. Spreer and T. Supriyasilp. 2016. Reduced CO₂ Emissions, Enhanced Soil Fertility and High Water Holding Capacity by Improved Fallow Management Based on Biochar Application in Highland Agriculture. Research report. Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 105 p. (in Thai)
- Schweikle, J., W. Spreer, K. Sringarm, S. Karaj, C. Santasup and J. Müller. 2016. Analysis of biochar from different kinds of feedstock and varying pyrolysis temperature I: Chemical and microscopic properties. *Journal of Agriculture* 32(Suppl.): 43-53.
- Siwasilp, N. 1984. *Manual of Soil and Plant Analysis*. Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 138 p. (in Thai)
- Steinbeiss, S., G. Gleixner and M. Antonietti. 2009. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry* 41(6): 1301-1310.
-

ความสามารถของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในการส่งเสริมการเจริญเติบโต ของต้นกล้ากาแฟอาราบิกา

Abilities of Nitrogen Fixing Bacteria in Enhancing Growth of Arabica Coffee Seedling

อนันญพร ทำของดี กวิพร จินะจันตา ยูปา จอมแก้ว ฟ้าไพลิน ไชยวรรณ และ อรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง*
Ananyaphon Thamkhongdee, Kawiporn Chinachanta, Yupa Chromkaew, Fapailin Chaiwan
and Arawan Shutsrirung*

ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200
Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: arawan.s@cmu.ac.th

(Received: 1 April 2019; Accepted: 18 June 2019)

Abstract: Nitrogen is an important element for coffee production since it is the component of caffeine. The use of chemical nitrogen fertilizer poses a high risk to environmental pollution. The application of N_2 fixing bacteria is an alternative to reduce the use of chemical fertilizer. Therefore, in the present study, bacteria were isolated from rhizosphere soils and rhizoplane of coffee grown in two site plantations. Sixty-five isolates of N_2 fixing bacteria were obtained, accounting for 41.9 % of the total isolates (155 isolates). There were only 23 isolates of N_2 fixing bacteria that showed dual abilities in phosphate and potassium solubilization. These isolates could release phosphate both from $Ca_3(PO_4)_2$ and $AlPO_4$ with values of 103.58-406.11 and 8.86-183.82 mg P/L, respectively. The value of solubilized potassium was 23.41-44.67 mg K/L. Isolate S2-4a1 and S1-2a4 showed highest ability in solubilizing two phosphate sources, and potassium, respectively. All the N_2 fixing bacterial isolates were able to produce Indole 3-acetic acid (IAA) (0.58-22.80 mg IAA/L). Eight isolates that showed different potential in phosphate and potassium solubilization, and IAA production were selected to test their effectiveness with coffee seedlings. The results indicated that isolate S2-4a1 gave significantly higher root and leaves growth, and nutrients uptake than the control. This isolate also exhibited 76, 211 and 252 % higher N, P and K uptake than the control, respectively.

Keywords: Arabica coffee, N_2 fixing bacteria, phosphate solubilization, potassium solubilization

บทคัดย่อ: ไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีความสำคัญมากในการผลิตกาแฟ เนื่องจากเป็นองค์ประกอบของคาเฟอีน การใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจน บนพื้นที่สูงซึ่งเป็นแหล่งผลิตกาแฟมีความเสี่ยงทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม การใช้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจึงเป็นทางเลือกในการลดการใช้ปุ๋ยเคมี การทดลองครั้งนี้จึงได้ทำการแยกแบคทีเรียจากดินรอบรากและเนื้อเยื่อผิวรากกาแฟจากพื้นที่ปลูกกาแฟ 2 พื้นที่ ได้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน 65 ไอโซเลท คิดเป็น 41.9 % ของไอโซเลททั้งหมด (155 ไอโซเลท) แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีความสามารถทั้งละลายฟอสเฟต และ โฟแทสเซียม ได้มีเพียง 23 ไอโซเลท เท่านั้น โดยเชื้อกลุ่มนี้สามารถปลดปล่อยฟอสเฟตจากทั้ง $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ และ AlPO_4 ได้ 103.58-406.11 และ 8.86-183.82 mg P/L ตามลำดับ ส่วนการละลายโฟแทสเซียมมีค่า 23.41-44.67 mg K/L โดยที่ไอโซเลท S2-4a1 มีความสามารถละลายฟอสเฟตจากทั้งสองแหล่งได้สูงที่สุด ในขณะที่ S1-2a4 มีความสามารถละลายโฟแทสเซียมได้สูงที่สุด แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนทุกไอโซเลทมีความสามารถในการสร้าง Indole 3-acetic acid (IAA) ได้ (0.58-22.80 mg IAA/L) เมื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการละลายฟอสเฟต โฟแทสเซียม และการสร้าง IAA ที่ต่างกัน 8 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพกับต้นกล้ากาแฟพบว่า ไอโซเลท S2-4a1 ให้ค่าการเจริญเติบโตของรากและใบสูง รวมทั้งการดูดใช้ธาตุอาหารสูงกว่า กรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยให้ N, P และ K uptake สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม 76, 211 และ 252% ตามลำดับ

คำสำคัญ: กาแฟอะราบิกา แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน การย่อยละลายฟอสฟอรัส การย่อยละลายโฟแทสเซียม

คำนำ

กาแฟเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Rubiaceae ซึ่งมีประมาณ 650 สกุล และมีมากกว่า 13,000 ชนิด (Delprete and Jardim, 2012) กาแฟที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย คือ กาแฟอะราบิกา (*Coffea arabica* L.) และ กาแฟโรบัสตา (*Coffea canephora* var. *robusta*) กาแฟอะราบิกาได้รับความนิยมมากกว่าโรบัสตา และให้มูลค่าที่สูงกว่าทางเศรษฐกิจ เนื่องจากปริมาณคาเฟอีนของ อะราบิกามี้น้อยกว่าโรบัสตา อีกทั้งกาแฟอะราบิกายังให้ความรู้สึกดีต่อประสาทสัมผัส มีรสชาติดี มีกลิ่นหอม ภูมิประเทศที่เหมาะสมสำหรับการปลูกกาแฟอะราบิกาต้องมีระดับความสูง เหนือระดับน้ำทะเล 700 เมตรขึ้นไป จึงจะทำให้ได้กาแฟคุณภาพดี ทำให้แหล่งปลูกของกาแฟอะราบิกาส่วนใหญ่จึงอยู่ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย กาแฟอะราบิกาปัจจุบันมีแหล่งปลูกที่สำคัญ อยู่ในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และ แม่ฮ่องสอน และด้วยลักษณะของพื้นที่ซึ่งมีความลาดชันสูงการใส่ปุ๋ยในรูปของปุ๋ยเคมี มักส่งผลต่อสิ่งแวดล้อมในระยะยาว เช่น เกิดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมตกค้างในดิน ส่งผลต่อการอาศัยอยู่ร่วมกันของของสิ่งมีชีวิตในดินและระบบนิเวศต่าง ๆ ในดิน จากการวิจัยประสิทธิภาพการผลิตกาแฟบนพื้นที่สูงในภาคเหนือของประเทศไทยยังพบว่า ปัจจัยการผลิต เช่น

ปริมาณปุ๋ยที่ใส่ยังอยู่ในระดับที่สูงกว่าระดับเหมาะสม โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่ใช้ในแปลงปลูกกาแฟจะขึ้นอยู่กับอายุกาแฟ ซึ่งปริมาณการใส่ตั้งแต่ 36-180 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี (Angkasith and Yimyam, 2000) ซึ่งเกษตรกรยังขาดความรู้ความเข้าใจในการใช้ปุ๋ย ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของต้นทุนการผลิต และผลผลิตที่ไม่มีความสมบูรณ์ในระยะเก็บเกี่ยว (Suwanwisolkiet, 2011)

ดังนั้นจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน ที่สามารถย่อยละลายฟอสฟอรัส และโฟแทสเซียม รวมทั้งสร้างฮอร์โมนพืช เช่น กรดอินโดล-3-อะซีติก (indole-3-acetic acid: IAA) จึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการปลูกกาแฟบนพื้นที่สูง เนื่องจากช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมี และลดการปนเปื้อนของสารเคมีสู่สิ่งแวดล้อมได้ อีกทั้งยังช่วยลดต้นทุนในการผลิตทำให้เกษตรกรสามารถได้กำไรจากการผลิตมากขึ้น Wedhastri *et al.* (2012) ได้ทดลองใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากบริเวณรอบรากกาแฟในการเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟ พบว่า *Achromobacter* sp., *Stenotrophomonas maltophilia* และ *Leifsonia aquatica* ที่แยกได้บริเวณรอบรากกาแฟมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟอะราบิกาที่ปลูกในโรงเรือนมากกว่าการไม่ใส่เชื้อ Yiam-on *et al.* (2012) พบว่าแบคทีเรีย 4 ไอโซเลทที่คัดแยกได้จากอ้อยมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตสูง

(179-196 mg P/L) และการปลูกย่อยโดยใช้แบคทีเรีย ร่วมกับการใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟต ทำให้ย่อยมีการเจริญเติบโต ในทุกด้านและมีการสะสมธาตุฟอสฟอรัสในลำต้นสูงกว่า อ้อยชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Huangmee *et al.* (2016) พบว่าการบ่มดินด้วยเชื้อแบคทีเรียละลาย โปแทสเซียม (potassium solubilizing bacteria: KSB) ที่ คัดเลือกจากดินบริเวณรากข้าว ร่วมกับแรมไมกาสามารถ ละลายโปแทสเซียมออกมาได้สูงสุด (126.15 mg/kg) การ ใส่เชื้อ KSB ร่วมกับแรมไมกาในดินจึงสามารถช่วยเพิ่ม ความเป็นประโยชน์ของโปแทสเซียมในดินได้ Hartono *et al.* (2016) พบว่าการใส่เชื้อแบคทีเรีย ที่แยกได้จาก บริเวณรอบรากข้าวโพด ซึ่งมีความสามารถในการตรึง ไนโตรเจน ผลิตภัณฑ์อินทรีย์ indole-3-acetic acid (IAA) และละลายฟอสเฟตได้ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของ ข้าวได้ดี

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทำ การแยกและคัดกรองแบคทีเรีย จากดินบริเวณรอบราก (rhizosphere soils: RS soils) และจากเนื้อเยื่อผิวราก (rhizoplane: RP) ของกาแฟอาราบิกา ที่มีความสามารถ ในการตรึงไนโตรเจน แล้วจึงทำการทดสอบศักยภาพของ แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนได้ในการส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืชด้านอื่น ได้แก่ การละลายฟอสเฟต และโปแทสเซียม และการสร้าง IAA แล้วจึงทำการ คัดเลือกไอโซเลท ที่มีศักยภาพสูงในการส่งเสริมการ เจริญเติบโตของพืชไปทดสอบประสิทธิภาพในการเพิ่ม การเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟอาราบิกา แบคทีเรียที่มี ประสิทธิภาพสูงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการส่งเสริม การเจริญเติบโตและลดการใช้ปุ๋ยเคมีของกาแฟบนพื้นที่ สูงต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่และการเก็บตัวอย่างดินและราก

พื้นที่ปลูกกาแฟอาราบิกาที่ได้คัดเลือกเพื่อเก็บ ตัวอย่างดินและรากของกาแฟอาราบิกา มี 2 พื้นที่ ได้แก่ พื้นที่ปลูกกาแฟโดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพ ผสม กับปุ๋ยเคมี เกรด 16-20-0 (สัดส่วน 2:1 v/v) โดยใส่ก่อนปลูกอัตรา 1 kg/tree อายุต้นกาแฟเฉลี่ย 12 ปี (site1: S1) N 18° 92'32

N 99° 32'81 E และ พื้นที่ปลูกกาแฟที่ปล่อยทิ้งตาม ธรรมชาติโดยไม่มีการใส่ปุ๋ยมากกว่า 17 ปี อายุต้น กาแฟเฉลี่ย 20 ปี (site 2: S2) 18° 92'37 N 99° 32'78 E ทั้งสองพื้นที่อยู่ในเขตตำบลเทพเสด็จ อำเภอคลองยสะเกิด จังหวัดเชียงใหม่

การเก็บดินและรากจากต้นกาแฟ ทำโดยการขุด ดินบริเวณราก ได้ทรงพุ่มจำนวน 5 ต้น ต่อ พื้นที่ ต้นละ 3 ซ้ำ แล้วนำมาผสมกันเป็น 1 ตัวอย่างต่อต้น นำตัวอย่างใส่ ในกล่องที่บรรจุน้ำแข็ง แล้วนำมาแยกดินและรากใน ห้องปฏิบัติการ ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินรอบราก และ รากฝอย นำดินส่วนที่เหลือนำไปดำเนินการวิเคราะห์ สมบัติทางเคมี

การคัดแยกเชื้อไรโซแบคทีเรียจากผิวรากกาแฟ

คัดแยกเชื้อไรโซแบคทีเรียจากผิวรากกาแฟ (Rhizoplane) (Yupa, 2017) โดยทำการตัดตัวอย่างปลาย รากยาว 1 mm ใส่ใน microcentrifuge tube (1.5 mL) เติมน้ำกลั่น 30 μ L ใช้แท่งแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อบดราก เบา ๆ นำแท่งแก้วที่มี root suspension ติดปลายแท่งมา ขีดเป็นแนว (streak) ในจานอาหาร tryptic soy agar (TSA) ทำการบ่ม (incubate) จานอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนด ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์อีก ครั้งโดยวิธี streak plate บนในอาหาร TSA ซึ่ง ประกอบด้วย (g/L); 3 g glucose, K_2HPO_4 2.5 g, NaCl 5 g, Soy 3 g, trypton 7g และ วุ้น (agar) 15 g ปรับ pH เป็น 7.0 ± 0.2

การคัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างดินบริเวณรอบ รากกาแฟ

คัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างดินบริเวณรอบ รากกาแฟ (Rhizosphere) (Yupa, 2017) โดยทำการชั่ง ดินบริเวณรอบรากกาแฟ (rhizosphere soil) ตัวอย่างละ 10 กรัม นำไปทำชุดสารละลายดินเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-5} แล้วนำเฉพาะ 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} ปริมาตร 0.1 mL หยดลงบนอาหาร TSA แล้วใช้แท่งแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เกลี่ยให้ทั่วจานเพาะเชื้อ โดยทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ทำ การบ่ม ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนด ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ในอาหาร TSA โดยวิธี streak plate

การวิเคราะห์ตัวอย่างดิน

ทำการวิเคราะห์สมบัติดิน ได้แก่ ความเป็นกรดต่าง (pH) โดยใช้ pH meter อินทรีย์วัตถุ (organic matter: OM) โดยวิธี Walkley & Black ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus: Available P) โดยวิธี Bray II และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable potassium: Extractable K) โดยใช้ NH_4OAc เป็นน้ำยาสกัด (Land Development Department, 2010)

การคัดกรองความสามารถในการตรึงไนโตรเจน

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้งหมดมาทำการคัดกรองความสามารถในการตรึงไนโตรเจน (Weaver and Danso, 1994) โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว tryptic soil broth (TSB) หลังการบ่มเชื้อได้ 3 วัน เชื้อจะมีความขุ่นสูงสุด (Yupa, 2017) นำเชื้อที่เจริญเต็มที่ มาทำการหยดลงบนอาหารที่ปราศจากไนโตรเจน คือ Burk's N free medium ซึ่งประกอบด้วย (g/L); glucose 10 g, KH_2PO_4 0.41 g, K_2HPO_4 0.52 g, Na_2SO_4 0.05 g, CaCl_2 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.005 g, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.0025 g และ agar 15 g ปรับ pH เป็น 7.2 ± 0.2 โดยทำการหยดไอโซเลทละ 3 หยดต่อจานอาหาร ปริมาตรหยดละ 0.02 mL บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 °C เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงคัดเลือกเชื้อที่สามารถเจริญบนอาหาร Burk's N free medium ได้ ไปทำการทดสอบขั้นต่อไป

การประเมินความสามารถเชิงคุณภาพในการละลายฟอสเฟต

นำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์เฉพาะไอโซเลทที่สามารถเจริญบนอาหาร Burk's N free medium มาทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต (Gaur, 1990) โดยนำเชื้อเหลวที่เจริญเต็มที่ในอาหาร TSB 0.02 mL หยดลงบนอาหาร Pikovskaya agar medium (PVKA) ซึ่งประกอบด้วย (g/L); glucose 10 g, CaHPO_4 5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g, NaCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g, KCl 0.2 g, yeast extract 0.5 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.002 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.002 g โดยมี AlPO_4 หรือ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ เป็น

แหล่งฟอสเฟต โดยปรับ pH อาหารเป็น 4.8 และ 7.0 ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 °C เป็นเวลา 7 วัน

การประเมินความสามารถเชิงปริมาณในการละลายฟอสเฟต

ทำการคัดเลือกเฉพาะไอโซเลทที่สามารถเจริญได้ดีบน PVKA มาทำการประเมินความสามารถเชิงปริมาณในการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว Pikovskaya broth (PVKB) 25 mL ที่เติมฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ หรือ AlPO_4 5 g/L โดยทำชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปเขย่าด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน แยกเฉพาะส่วนใส (supernatant) โดยปั่นเหวี่ยงที่ 4,500 รอบต่อนาที 10 นาที วัดฟอสฟอรัสใน supernatant โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ wavelength 820 nm (ดัดแปลงจากวิธีของ Gaur, 1990) ทำการลบค่าดูดกลืนแสงของชุดควบคุมจากทุกตัวอย่างก่อนการคำนวณ

การประเมินความสามารถเชิงคุณภาพในการละลายโพแทสเซียม

ทำการคัดเลือกเฉพาะไอโซเลทที่สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PVKA (AlPO_4 และ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) โดยนำเชื้อเหลวที่เจริญเต็มที่ในอาหาร TSB มาทำการหยดเชื้อเหลว 0.02 mL ไอโซเลทละ 3 หยด ลงบนอาหารแข็ง silicate bacteria agar medium (SBA) ซึ่งประกอบด้วย (g/L); Na_2HPO_4 2 g, CaCO_3 5 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, yeast extract 0.5 g, $\text{FeCl}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.005 g, แร่ feldspar 5.88 g pH 7 ± 0.2 บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 °C เป็นเวลา 7 วัน

การประเมินความสามารถเชิงปริมาณในการละลายโพแทสเซียม

ทำการคัดเลือกเฉพาะไอโซเลทที่สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร SBA มาทำการประเมิน ความสามารถเชิงปริมาณในการละลายโพแทสเซียมจากแร่ feldspar (ดัดแปลงจากวิธีการของ Hebei Academic of Sciences (1996)) เลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว 25 mL ที่มีการเติมแร่ feldspar เป็นแหล่งให้โพแทสเซียม (0.15 g/L) และทำชุดควบคุม โดยไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย ทำการทดลอง 3

ซ้ำ นำเชื้อไปบ่มที่ความเร็ว 125 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 3 วัน วัดความเข้มข้นของโพแทสเซียมที่ละลายได้ใน supernatant โดยใช้ atomic absorption spectrophotometer ที่ wavelength 766.5 nm ทำการลบค่าดูดกลืนแสงของชุดควบคุมจากทุกตัวอย่างก่อนการคำนวณ

การประเมินความสามารถในผลิต Indole 3-acetic acid (IAA)

ทำการคัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียไฮโซเลทที่สามารถเจริญได้ดีบนอาหารแข็ง PVKA และ SBA มาประเมินความสามารถในการผลิต IAA (ดัดแปลงจากวิธีของ Gordon and Weber, 1951) โดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร NB 25 mL ที่เติม L-tryptophan 0.2 g/L หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยความเร็ว 125 รอบต่อนาที วัดปริมาณ IAA ที่เกิดขึ้นหลังจากบ่มเป็นระยะเวลา 3 วัน ซึ่งจะทำให้การวัด IAA ที่เกิดขึ้นใน supernatant โดยใช้ spectrophotometer ที่ wavelength 530 nm

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟ

พันธุ์กาแฟอะราบิกาที่ใช้ทดสอบคือ เชียงใหม่ 80 โดยก่อนทำการเพาะเมล็ด ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดโดยแช่ในสารละลาย 3% hydrogen peroxide เป็นเวลา 3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำเมล็ดกาแฟที่ผ่านการเชื้อแล้วไปเพาะในกระบะทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เป็นระยะเวลา 1 เดือน หลังจาก ครบ 1 เดือน คัดเลือกต้นที่มีการเจริญเติบโตส่วนรากและส่วนใบเท่ากัน มาทำการทดลอง วัสดุที่ใช้ปลูกคือ วัสดุปลูกผสมทรายในอัตราส่วน 1:1 (วัสดุปลูก w/w: ขุยมะพร้าว 70.5% แหะ 2.5% ปุ๋ยหมัก 15% มูลค่างควา 0.5% ฮิวมัส 1.5% ไดอะตอมไมค์ 10%) สำหรับแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง ได้คัดเลือกจากแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่างกัน มาทดสอบประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟ ทำการทดลองในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 cm กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) และเมื่อครบ 1 เดือน ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกในอาหารเหลว NB ให้ได้ปริมาณเชื้อ

สูงสุด (10^9 cfu/g) แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วอัตรา 1:50 (v/v) ใส่ลงในต้นกล้ากาแฟที่คัดเลือกไว้ต้นละ 1 mL ทำการใส่เชื้อเพิ่มต้นละ 1 mL ตามกรรมวิธีทุก 1 เดือน เมื่อครบ 6 เดือน บันทึกการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟ โดยทำการวัด ความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักแห้งใบ น้ำหนักแห้งราก และทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจน (% total N) โดยวิธี mixed Kjeldahl catalyst (Bremner, 1965) ฟอสฟอรัส (% total P) และโพแทสเซียม (%total K) (Land Development Department, 2010) นำผลไปคำนวณหาการดูดใช้ธาตุอาหารในใบกาแฟ ดังสมการ (น้ำหนักใบแห้ง x ความเข้มข้นของธาตุอาหาร)/100

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้เก็บบันทึกมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีทดลองโดยใช้วิธี least significant difference (LSD) ที่ค่าความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม statistic for window version 8

ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ดินกาแฟจากพื้นที่ศึกษา

ผลการวิเคราะห์สมบัติของดินในพื้นที่แปลงกาแฟอะราบิกา ที่มีการใส่ทั้งปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยเคมี (site 1) มีค่า pH เฉลี่ย 4.98 โดยมีความเป็นกรดมากกว่าดินในพื้นที่ปลูกกาแฟที่ปล่อยทิ้งตามธรรมชาติโดยไม่มีการใส่ปุ๋ยมานาน (site 2) ซึ่งมีค่า pH เฉลี่ย 5.93 (Table 1) เปรียบอินทรียวัตถุ (OM) ของทั้งสองพื้นที่ไม่แตกต่างกันมากนัก site 1 มีอินทรียวัตถุ 0.7% ส่วน site 2 มีอินทรียวัตถุ 0.8% สำหรับความเข้มข้นของ available P ของดินพบว่า site 1 มีค่าเฉลี่ย 220.64 mg/kg ส่วนดินพื้นที่ site 2 มีค่าเฉลี่ย 12.11 mg/kg ซึ่งแตกต่างกันมากเกือบ 20 เท่า ส่วนความเข้มข้นของ extractable K site 1 มีเฉลี่ย (174.57 mg/kg) ซึ่งสูงกว่าค่าของ site 2 มากกว่า 2 เท่า (71.60 mg/kg)

การแยกแบคทีเรียจากดินและรากกาแฟ

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบราก (rhizosphere soils: RS soils) และจากเนื้อเยื่อผิวราก (rhizoplane: RP) ของกาแฟจำนวน 2 พื้นที่ สามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 155 ไอโซเลท (Table 2) แยกเป็นไอโซเลทจาก RS soils ของ site1 และ 2 จำนวน 70 และ 25 ไอโซเลทตามลำดับ และเป็นไอโซเลทจาก RP ของ site 1 และ 2 จำนวน 41 และ 19 ไอโซเลทตามลำดับ

การคัดกรองความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของไรโซแบคทีเรียในอาหาร Burk's N-free media

จากการทดลองนี้พบว่าไอโซเลทที่สามารถเจริญในอาหาร Burk's N-free media มีจำนวนทั้งหมด 65 ไอโซเลท จาก 155 ไอโซเลทที่คัดแยกได้จาก RS soils และ RP ซึ่งถือว่าเป็นแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้เนื่องจาก

สามารถเจริญได้บนอาหารที่ปราศจากไนโตรเจน สำหรับ site 1 ได้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจำนวน 28 ไอโซเลท จากทั้งหมด 111 ไอโซเลท คิดเป็น 25.2 % ของไอโซเลททั้งหมดที่คัดแยกได้ ส่วน site 2 ได้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจำนวน 37 ไอโซเลท จากทั้งหมด 44 ไอโซเลท คิดเป็น 84 % ของไอโซเลททั้งหมดที่คัดแยกได้ (Table 2, 3)

การคัดกรองจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตและโพแทสเซียม

นำไอโซเลทที่สามารถเจริญบนอาหาร Burk's N-free media ได้ (N_2 fixing isolates) ทั้งหมด 65 ไอโซเลท ไปทดสอบความสามารถในการเจริญบนอาหาร PVK พบว่า ไอโซเลทที่สามารถเจริญบนอาหาร PVK+ $Ca_3(PO_4)_2$ มีทั้งหมด 42 ไอโซเลท แยกเป็นไอโซเลทจาก RS soils และ RP 19 และ 23 ไอโซเลท ตามลำดับ และ

Table 1. Chemical properties of the soil samples

Site ¹	Agricultural practice	pH ²	OM ² (%)	Available P ² (mg/kg)	Extractable K ² (mg/kg)
1	Compost + Bio-organic fertilizer + Chemical fertilizer	4.9 ± 0.2 ³	0.7 ± 0.2	220.6 ± 4.5	174.5 ± 15.8
2	No fertilization for > 17 years	5.9 ± 0.1	0.8 ± 0.2	12.1 ± 2.1	71.6 ± 7.4

¹ Site 1 = Coffee plantation with the application of compost and bio-organic fertilizer; Site 2 = Abandoned coffee plantations without fertilization more than 17 years

² Mean from 5 replications

³ Standard deviation (SD)

Table 2. Number of bacteria isolated from rhizosphere soil and coffee root

Coffee Tree	Number of bacterial Isolates			
	Rhizosphere soil samples		Root samples	
	Site 1	Site 2	Site 1	Site 2
Tree 1	19	6	7	6
Tree 2	20	2	6	5
Tree 3	15	9	12	2
Tree 4	12	4	9	3
Tree 5	4	4	7	3
	70	25	41	19
Total	95		60	

Site 1 = Coffee plantation with the application of compost and bio-organic fertilizer; Site 2 = Abandoned coffee plantations without fertilization more than 17 years

ไอโซเลทที่เจริญบนอาหาร PVK+AlPO₄ มีทั้งหมด 28 ไอโซเลท แยกเป็นไอโซเลทจาก RS soils และ RP 18 และ 10 ไอโซเลท ตามลำดับ (Table 3) เมื่อนำ ทั้ง 65 ไอโซเลท มาทดสอบโดยใช้อาหารที่มีแร่ฟอสเฟตสปาร์เป็นแหล่ง โฟสเฟสเทียมพบว่า มี 23 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้บน อาหารโพแทสเซียม แยกเป็นไอโซเลทจาก RS soils 16 ไอโซเลทและจาก RP 7 ไอโซเลท จากผลการทดลองนี้ มี 23 ไอโซเลทที่สามารถเจริญได้ดีในทุกอาหารที่ใช้ทดสอบจึง ได้คัดเลือกไปทำการทดลองขั้นต่อไป

ผลการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าจำนวนของ N₂ fixing bacteria ที่แยกได้จาก RS soils และ RP ที่มีความสามารถในการละลายธาตุฟอสฟอรัสและ โพแทสเซียมในอาหารแข็งมีความแตกต่างกัน (Table 3) โดยพบว่า แบคทีเรียที่แยกได้จาก RS soils เจริญได้ดีบนอาหาร PVK+AlPO₄ (51.4% ของไอโซเลททั้งหมดจาก RS soils) มากกว่าแบคทีเรียที่แยกได้จาก RP (33.3% ของ ไอโซเลททั้งหมดจาก RP) ในทำนองเดียวกันแบคทีเรียที่แยกได้จาก RS soils เจริญได้บนอาหาร silicate bacteria medium (45.7% ของไอโซเลททั้งหมดจาก RS soils) มากกว่าแบคทีเรียที่แยกได้จาก RP (23.3% ของไอโซเลททั้งหมดจาก RP) ในทางกลับกันพบว่า แบคทีเรียที่แยกได้จาก RP เจริญได้ดีบนอาหาร PVK+ Ca₃(PO₄)₂ (76.7% ของไอโซเลททั้งหมดจาก RP) มากกว่าแบคทีเรียที่แยกได้จาก RS soils (54.2% ของไอโซเลททั้งหมดจาก RS soils)

ผลการประเมินความสามารถเชิงปริมาณในการ ย่อยละลายฟอสเฟต ของ N₂ fixing isolates ที่คัดเลือกมา 23 ไอโซเลท พบว่า ทุกไอโซเลทสามารถย่อยละลาย ฟอสเฟตได้จากทั้งสองแหล่ง (Ca₃(PO₄)₂ และ AlPO₄) โดยค่าการละลายของ Ca₃(PO₄)₂ อยู่ในช่วง 101.7 - 406.1 mgP/L ส่วนค่าการละลายของ AlPO₄ อยู่ในช่วง 8.9-183.8 mgP/L ไอโซเลทที่สามารถย่อยฟอสเฟตได้สูง ที่สุดทั้งจาก Ca₃(PO₄)₂ และ Al(PO₄)₂ เป็นเชื้อเดียวกันคือ S2-4a1 (406.11 และ 183.82 mgP/L ตาม ลำดับ) (Figure 1) โดยที่ค่าการละลายนี้สูงกว่าไอโซเลทอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่าการละลาย Ca₃(PO₄)₂ และ Al(PO₄)₂ ต่ำที่สุดได้จากไอโซเลท R1-1a1 (101.7 mgP/L) และ R2-3b1 (8.9 mgP/L) ตามลำดับ

ส่วนความสามารถในการละลายโพแทสเซียม ของเชื้อคัดเลือก พบว่า อยู่ในช่วง 23.41-44.67 mg K/L ไอโซเลทที่สามารถละลายโพแทสเซียมได้สูงที่สุดคือ S1-2a4 เท่ากับ 44.67 mg/L รองลงมาที่มีความสามารถย่อย ละลายโพแทสเซียมได้ใกล้เคียงกัน ได้แก่ R1-1a3, R1-3b2, R2-4a2, S1-1b1 และ S1-1a5 โดยสามารถละลาย โพแทสเซียมได้ 44.3, 43.41, 42.28, 41.93 และ 41.77 mg K/L ตามลำดับ และ ไอโซเลทที่ละลายโพแทสเซียมได้ น้อยที่สุดคือ S1-4b7 (23.41 mg K/L) (Figure 2)

Table 3. Number of N₂ fixing isolates¹ that exhibited phosphate and potassium solubilizing abilities

Site ²	Number of isolates						
	Isolated from soil sample (rhizosphere)				Isolated from root sample (rhizoplane)		
	Total	Phosphate		Potassium	Total	Phosphate	Potassium
	tested isolates ²	solubilizing ability		solubilizing ability	tested isolates ²	solubilizing ability	
		Ca ₃ (PO ₄) ₂	AlPO ₄	ability		Ca ₃ (PO ₄) ₂	AlPO ₄ ability
1	15	10 (66.7) ⁴	7 (46.7)	13 (86.7)	13	8 (61.5)	8 (61.5) 4 (30.8)
2	20	9 (45.0)	11 (55.0)	3 (15.0)	17	15 (88.2)	2 (11.8) 3 (33.3)
Total	35	19 (54.3)	18 (51.4)	16 (45.7)	30	23 (76.7)	10 (33.3) 7 (33.3)

¹ Isolates that could grow on Burk's N-free media

² Site; 1 = Coffee plantation with the application of chemical fertilizer, compost and bio-organic fertilizer; Site 2 = Abandoned coffee plantations without fertilization more than 17 years

³ Nitrogen fixing isolates; 35 isolates from rhizosphere soils and 65 isolates from rhizoplane

⁴ Percent of total tested isolates

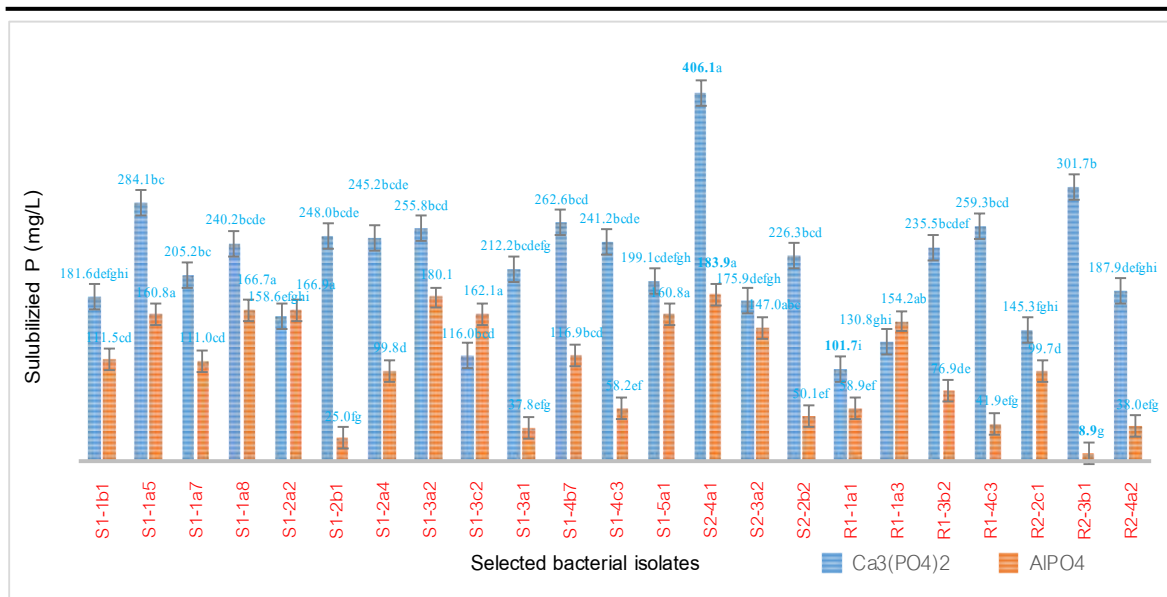


Figure 1. Phosphate solubilizing ability of selected nitrogen fixing bacteria

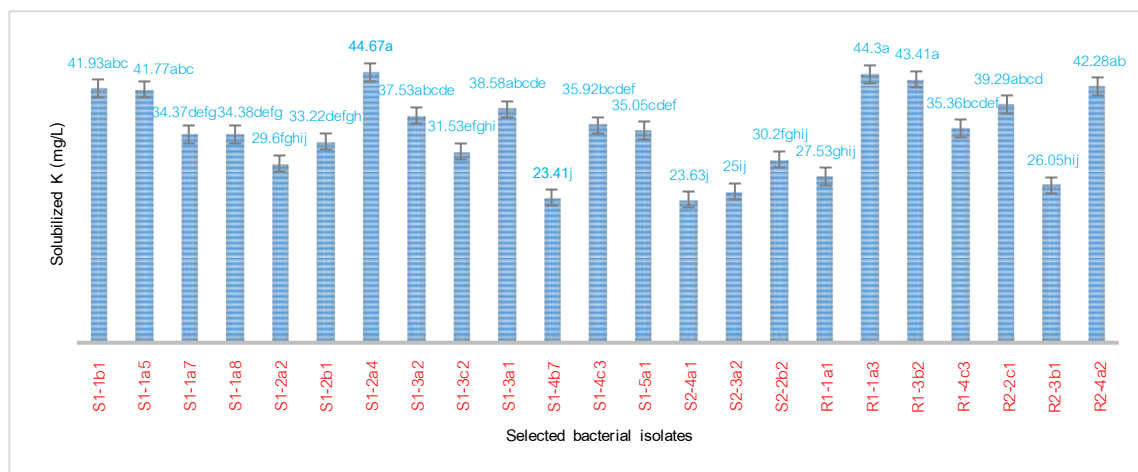


Figure 2. Potassium solubilizing ability of selected nitrogen fixing bacteria

จากการทดลองความสามารถในการสร้างฮอร์โมนพืช IAA พบว่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.58-22.80 mg/L โดยไอโซเลทที่สามารถสร้างฮอร์โมนพืชได้สูงที่สุดคือ S1-1a7 เท่ากับ 22.90 mg/L รองลงมาได้แก่ S1-2a4 และ R1-1a3 เท่ากับ 20.80 และ 19.74 mg/L ตามลำดับ ซึ่งค่าการผลิต IAA ของทั้งสามไอโซเลทนี้สูงกว่าไอโซเลทที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนไอโซเลทที่ผลิต IAA ได้ต่ำที่สุดคือ R1-1a1 เท่ากับ 0.58 mg/L (Figure 3)

หลังจากได้นำ N₂ fixing isolates ที่คัดเลือก 23 ไอโซเลท มาประเมินความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชแล้ว แล้วจึงได้คัดเลือกไอโซเลทที่มีความแตกต่างของความสามารถในการละลายฟอสฟอรัสละลายโพแทสเซียม และสร้างฮอร์โมนพืช (IAA) รวมถึงลักษณะที่แตกต่างกันทางกายภาพบนจานอาหารของเชื้อแบคทีเรีย มาทดสอบประสิทธิภาพต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้ากาแฟ แบคทีเรียที่ได้คัดเลือกมีจำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ S1-1a5, S2-4a1, S1-2a4, R1-1a1, R2-3b1, S1-1a7, R1-1a3 และ R2-2c1 (Figure 4)

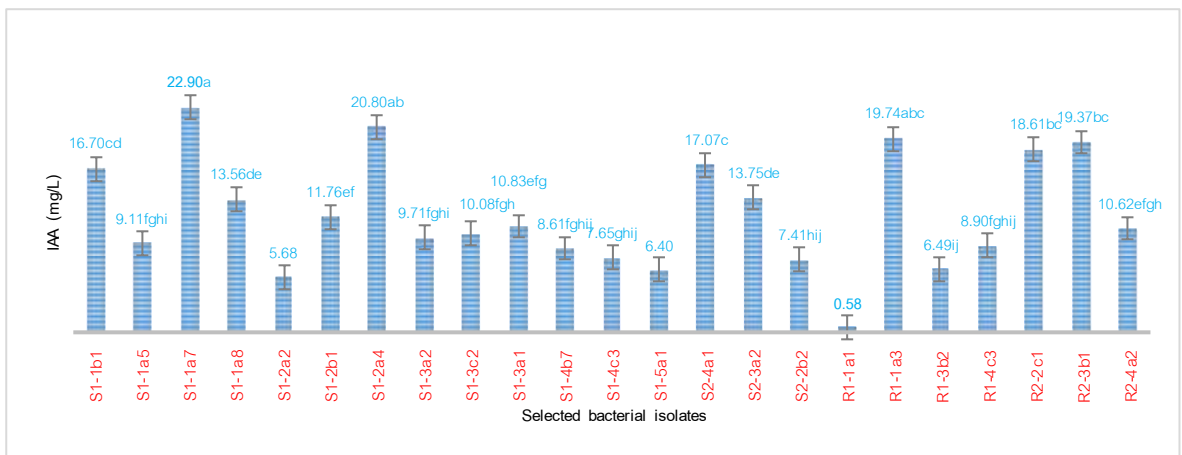


Figure 3. The amount of IAA produced by selected nitrogen fixing bacteria

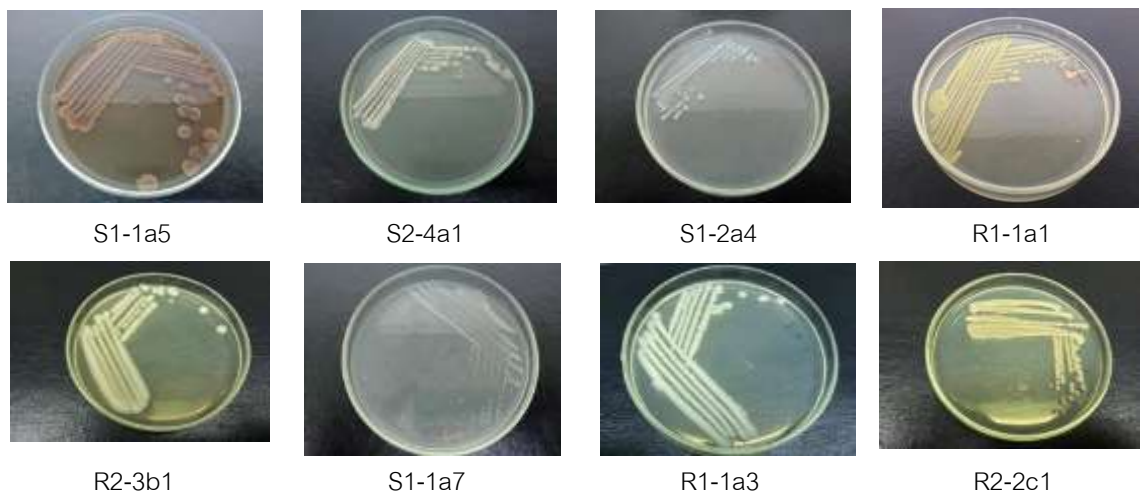


Figure 4. Selected bacterial isolates from rhizosphere soil and rhizoplane for coffee seedling experiment

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟและการดูดใช้ธาตุอาหาร

ผลการประเมินประสิทธิภาพของ N_2 fixing isolates ที่คัดเลือก พบว่าการใช้ N_2 fixing isolates ที่คัดเลือกทำให้การเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟและราก แตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม อย่างชัดเจน โดยเฉพาะ T2 (S2-4a1) และ T5 (R2-3b1) (Figure 5) และเมื่อทำการวัดการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟพบว่าการใส่เชื้อแบคทีเรียคัดเลือก ทุกไฮโซเลท โดยเฉลี่ยแล้ว ให้ค่าความยาวราก ความสูง น้ำหนักแห้ง ของรากและใบ รวมทั้งการดูดใช้ธาตุอาหาร ไนโตรเจน (N uptake) ฟอสฟอรัส (P uptake) และ โพแทสเซียม (K uptake) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ (Table 4)

การใส่เชื้อ S2-4a1 ให้ค่า ความยาวราก ความสูง น้ำหนักแห้ง ของราก และ ใบ สูงที่สุด โดยมีความสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟได้ใกล้เคียงกันกับ R2-3b1 และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 4) นอกจากนี้ S2-4a1 และ R2-3b1 ยังให้ ค่า N uptake (226.9 และ 198.4 mg N/3 plants, ตามลำดับ) สูงกว่าไฮโซเลทอื่น และสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับ P uptake ไฮโซเลท S2-4a1 ให้ค่าสูงที่สุด (15.46 mg P/3 plants) รองลงมา ได้แก่ S1-1a5 (14.28 mg P/3 plants) การใส่เชื้อแบคทีเรียคัดเลือกทุกไฮโซเลท ยังส่งผลให้ K uptake ของต้นกล้ากาแฟ สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม



Figure 5. Coffee seedlings inoculated with selected N_2 fixing isolates; control = no inoculation; T1 = S1-1a5; T2= S2-4a1; T3= S1-2a4; T4= R1-1a1; T5=R2-3b1; T6=S1-1a7; T7= R1-1a3 and T8= R2-2c1

Table 4. Effect of bacterial inoculation on growth and nutrients content of coffee seedling

Treatment	Root length (cm)	Plant height (cm)	Dry weight (g/plant)		Nutrient uptake (mg/plant)		
			Root	Shoot	N	P	K
Control	9.16c	6.16c	1.94de	1.71c	112.5d	4.97d	28.46f
S1-1a5	13.83ab	11.66ab	2.16bc	3.92a	191.8abc	14.28ab	114.07a
S2-4a1	14.5 ab	13.0 a	2.37a	3.83a	198.4ab	15.46a	100.25ab
S1-2a4	10.0 bc	9.0 bc	2.11bcd	2.71b	167.0bc	9.77c	74.84cd
R1-1a1	12.83abc	10.0 abc	1.95de	2.35bc	146.8cd	8.10cd	82.82bcd
R2-3b1	14.83a	13.0 a	2.27ab	3.52a	226.9a	8.62cd	94.22abc
R1-1a7	12.0 abc	8.0 bc	1.91e	2.25bc	169.9bc	9.80c	84.55bc
R1-1a3	10.0 bc	7.66 c	2.03cde	2.27bc	146.0cd	10.50bc	62.62de
R2-2c1	14.0 a	8.0 bc	1.99cde	2.29bc	161.6bc	10.10bc	50.15e
Average	12.35	9.65	2.08	2.76	168.98	10.17	76.88
F-test	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	21.46	23.59	4.75	14.49	15.87	24.53	10.16

¹ Means within the same column follow by different letters showed significantly difference between treatment by LSD test at $P \leq 0.05$

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่า K uptake ที่เพิ่มขึ้นสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมประมาณ 2 ถึง 4 เท่า

วิจารณ์

การจัดการปลูกกาแฟที่แตกต่างกันของพื้นที่เก็บตัวอย่างในการทดลองนี้ ส่งผลให้มีสมบัติของดินและความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารต่างกัน site 1 (pH 4.98)

มีการใช้การใส่ปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพ ร่วมกับปุ๋ยเคมี อาจมีส่วนทำให้ค่า pH ของดินต่ำมากกว่า site 2 (pH 5.98) ซึ่งปล่อยให้กาแฟเจริญเติบโตในธรรมชาติเองโดยไม่มีการใส่ปุ๋ยเลย สำหรับความเข้มข้นของ available P ของดินพบว่า site 1 สูงกว่า site 2 มาก ประมาณ 20 เท่า (Table 1) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการใส่ปุ๋ยเคมีทำให้มีฟอสฟอรัสตกค้างในดินสูงมาก โดยเฉลี่ยแล้วได้จำนวนไอโซโทปจาก site 1 ทั้งจากดินและรากมากกว่า site 2 ซึ่งอาจเป็นเพราะ

ดิน site 1 มีการใส่ทั้งปุ๋ยเคมี ปุ๋ยหมัก และปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพ ประกอบกับมีอายุของต้นกาแฟน้อยกว่า site 2 อย่างไรก็ตามถึงแม้ site 1 จะมีจำนวนแบคทีเรียที่แยกได้มากกว่า site 2 ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนได้ใน site 2 (84%) มีสูงกว่า site 1 (25%) ประมาณ 3 เท่า ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่ site 2 มีการใส่ปุ๋ยเคมีทำให้มีปริมาณไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์สูง ซึ่งปริมาณของ แอมโมเนียม (NH_4^+) ไนเตรต (NO_3^-) และสารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ มีผลต่อการตรึงไนโตรเจน ถ้ามีปริมาณมากเกินไปในดิน จุลินทรีย์จะไม่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศเนื่องจากใช้สารประกอบในดินง่ายกว่า Wang-nai (1985) ดังนั้นแบคทีเรียที่แยกได้จาก site 1 บางไอโซเลทอาจสูญเสียความสามารถในการตรึงไนโตรเจนไป

N_2 fixing bacteria ที่แยกได้จากดินรอบรากพืช (RS soils) (35 ไอโซเลท) ซึ่งมีความสามารถในการย่อยละลายฟอสเฟต ในอาหาร PVK+ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ มีเปอร์เซ็นต์จาก N_2 fixing bacteria ทั้งหมด (54.3%) ใกล้เคียงกับในอาหาร PVK+ AlPO_4 (51.4%) และมีความแตกต่างเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ดังกล่าวระหว่างพื้นที่แยกเชื้อ (Table 3) อย่างไรก็ตาม พบว่าเปอร์เซ็นต์ของ N_2 fixing bacteria ที่แยกได้จากบริเวณเนื้อเยื่อผิวราก (rhizoplane: RP) ที่สามารถย่อยละลายฟอสเฟตจาก $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ของ site 2 (88.2%) สูงกว่าของ site 1 (61.5%) ในทางตรงข้ามเมื่อมี AlPO_4 เป็นแหล่งฟอสเฟต เปอร์เซ็นต์ดังกล่าวของ site 1 (61.5%) สูงกว่าของ site 2 (11.8%) อย่างชัดเจนเช่นกัน ซึ่งเปอร์เซ็นต์ที่ต่างกันนี้อาจเป็นผลมาจากการที่ดินของ site 1 มีค่า pH (4.98) ต่ำกว่า pH ของ site 2 (5.98) แล้วส่งผลให้ N_2 fixing bacteria ที่แยกได้จาก RP และซึ่งมีปฏิสัมพันธ์ใกล้ชิดกับรากพืชมีความสามารถละลายฟอสเฟตจากสองแหล่งต่างกัน จากรายงานการวิจัยเกี่ยวกับ phosphate solubilizing bacteria (PSB) ที่แยกได้จากทั้งในดินกรดและดินแคลคาเรียส (calcareous soils) พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตจาก $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (30.2-523.7 mgP/L) ได้ดีกว่าจาก AlPO_4 (18.5-61.3 mgP/L) หรือ FePO_4 (17.8-103.4 mgP/L) (Lui *et al.*, 2015; Panda *et al.*, 2016) ซึ่งสอดคล้องกับ

งานทดลองครั้งนี้ ที่พบว่า N_2 fixing bacteria มีความสามารถในการละลายของ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ อยู่ในช่วง 101.7-406.1 mgP/L ส่วนค่าการละลายของ AlPO_4 อยู่ในช่วง 8.9-183.8 mgP/L

นอกจากความสามารถของ N_2 fixing bacteria ในการละลายฟอสเฟตแล้ว ยังมีความสามารถในการย่อยละลายโพแทสเซียมจากแร่ feldspar อีกด้วย (23.41-44.67 mg K/L) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Parmar and Sindhu (2013) ซึ่งพบว่าค่าการละลายโพแทสเซียมจากไอโซเลทที่แตกต่างกัน โดยใช้ แร่ ไมก้า เป็นแหล่งของโพแทสเซียมอยู่ในช่วงระหว่าง 15-48 mg K/L ส่วนงานทดลองของ Hartono *et al.* (2016) พบว่า N_2 fixing bacteria มีความสามารถในการผลิต IAA ได้ (5-59 mg/L) สำหรับ N_2 fixing bacteria ที่แยกได้จากงานทดลองครั้งนี้สามารถผลิตได้อยู่ในช่วง 0.58-22.80 mg IAA/L

เมื่อทำการคัดเลือกเชื้อ N_2 fixing bacteria ที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมาทดสอบประสิทธิภาพกับต้นกล้ากาแฟ พบว่า ทุกไอโซเลทให้การเจริญเติบโตและการดูดใช้ธาตุอาหาร สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ โดยเฉลี่ยแล้วไอโซเลท S2-4a1 มีความโดดเด่นกว่าไอโซเลทอื่น ๆ โดยสามารถเพิ่ม N, P และ K uptake สูงกว่า กรรมวิธีควบคุม โดยคิดเป็น 76, 211 และ 252% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Wedhastri *et al.* (2012) ได้ทำการทดลองใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากบริเวณรอบรากกาแฟในการเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟในโรงเรือน ในประเทศอินโดนีเซียและพบว่าจุลินทรีย์ชนิด *Achromobacter* sp., *Stenotrophomonas maltophilia* และ *Leifsonia aquatica* ที่แยกได้บริเวณรอบรากกาแฟมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟและอะราบิกาที่ปลูกในโรงเรือนมากกว่าต้นกล้ากาแฟอะราบิกาที่ไม่ได้ใส่เชื้อ จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า N_2 fixing bacteria ไอโซเลท S2-4a1 สามารถนำไปพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพสำหรับการผลิตต้นกล้ากาแฟและการปลูกกาแฟในพื้นที่สูงได้ อย่างไรก็ตามควรนำไปทดสอบประสิทธิภาพในโรงเรือนและภาคสนามเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของการใช้ N_2 fixing bacteria ก่อนนำไปผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพสำหรับการปลูกกาแฟ

สรุป

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (N_2 fixing bacteria) ที่คัดแยกได้มีประมาณ 42% (65 ไอโซเลท) ของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด (155 ไอโซเลท) site 1 ได้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน จำนวน 28 ไอโซเลท จากจำนวน ไอโซเลททั้งหมด 111 ไอโซเลท คิดเป็น 25.2 % ส่วน site 2 ได้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจำนวน 37 ไอโซเลท จากทั้งหมด 44 ไอโซเลท คิดเป็น 84 % มี N_2 fixing bacteria เพียง 23 ไอโซเลท ที่สามารถย่อยละลายทั้งฟอสเฟต และ โพแทสเซียม ได้ ความสามารถในการละลายธาตุอาหารนี้มีความแปรผันค่อนข้างสูงขึ้นอยู่กับ ชนิดของแบคทีเรีย และ แหล่งของฟอสเฟต หรือ โพแทสเซียม (8.86-406.11 mg P/L และ 23.41-44.67 mg K/L ตามลำดับ) การสร้าง IAA ก็มีความแปรผันสูงเช่นกันตามชนิดของแบคทีเรีย (0.58-22.80 mg IAA/L) เมื่อคัดเลือกเชื้อ 8 ไอโซเลท ที่มีศักยภาพต่างกัน ในการละลายฟอสเฟต โพแทสเซียม และ สร้าง IAA มาทดสอบประสิทธิภาพกับต้นกล้ากาแฟพบว่า S2-4a1 และ R2-3b1 ให้ค่าความสูง น้ำหนักแห้งของราก และใบสูงที่สุดใกล้เคียงกัน และให้ค่า N, P และ K uptake สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมประมาณ 2 ถึง 3.5 เท่า และเมื่อเทียบกันระหว่าง 2 ไอโซเลทจะเห็นว่า S2-4a1 มีศักยภาพสูงโดดเด่นที่สุดในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพสำหรับการผลิตกาแฟเพื่อลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี อย่างไรก็ตาม ควรนำไอโซเลทที่มีศักยภาพสูงนี้ไปทดสอบในภาคสนามเพื่อเป็นการยืนยันผลของการใช้แบคทีเรียเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟแล้วจึงสามารถนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในการผลิตกาแฟเพื่อลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และ กระทรวงการต่างประเทศ ฝรั่งเศส ซึ่งเป็น โครงการวิจัยร่วมภายใต้ความร่วมมือด้านอุดมศึกษาและการวิจัย ระหว่างไทย-ฝรั่งเศสประจำปี 2559-2560 และได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยของนักศึกษา

ระดับบัณฑิตศึกษาจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- Angkasith, P. and N. Yimyam. 2000. Cultivation and Production of Arabica Coffee on Highland. Ming Mueang, Chiang Mai, 229 p. (in Thai)
- Bremner, J.M. 1965. Total nitrogen. pp. 1001-1015. *In*: R.W. Weaver, J.S. Angle and P.S. Bottomley (eds.). Methods of Soil Analysis. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties. Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.
- Delprete, P.G. and J.G. Jardim. 2012. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. *Rodriguesia* 63(1): 101-128.
- Gaur, A.C. 1990. Physiological functions of phosphate solubilizing micro-organisms. pp.16-72. *In*: A.C. Gaur (ed.). Phosphate Solubilizing Micro-organisms as Biofertilizers. Omega Scientific Publishers, New Delhi.
- Gordon, S.A. and R.P. Weber. 1951. Colorimetric estimation of indole acetic acid. *Plant Physiology* 26(1): 192-195.
- Hartono, N., F. Asnawati, H. Citra, N.I. Hanhayani, M. Junda, A. Ali, Y. Hala and O. Jumadi. 2016. Ability of ammonium excretion, indol acetic acid production, and phosphate solubilization of nitrogen-fixing bacteria isolated from crop rhizosphere and their effect on plant growth. *ARNP Journal of Engineering and Applied Sciences* 11(19): 11735-11741.

- Hebei Academy of Sciences. 1996. Bio-fertilizer Production. The International Science and Technology Cooperation. The Institute of Microbiology, Hebei. 25 p.
- Huangmee, K., T. Punsak, P. Kanghae, W. Homhaul and W. Punsak. 2016. The influence of potassium-solubilizing bacteria to release exchangeable K. pp. 1-7. *In: Proceedings of 14th National Conference "Naresuan Research". Naresuan University, Phitsanulok. (in Thai)*
- Land Development Department. 2010. Handbook of Soil Chemical Analysis. Document No. OSD-03. Land Development Department, Bangkok. 52 p. (in Thai)
- Liu, Z., Y.C. Li, S. Zhang, Y. Fu, X. Fan, J.S. Patel and M. Zhang. 2015. Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils. *Applied Soil Ecology* 96: 217-224.
- Panda, B., H. Rahman and J. Panda. 2016. Phosphate solubilizing bacteria from the acidic soils of eastern Himalayan region and their antagonistic effect on fungal pathogens. *Rhizosphere* 2: 62-71.
- Parmar, P. and S.S. Sindhu. 2013. Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: Influence of nutritional and environmental conditions. *Journal of Microbiology Research* 3(1): 25-31.
- Suwanwisolkrit, P. 2011. Efficiency of arabica coffee production in northern Thailand. Research report. Highland Research and Training Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 68 p. (in Thai)
- Wang-nai, S. 1985. Soil Microorganism and Activity in Soil. Thai Watana Panich, Bangkok 193 p. (in Thai)
- Weaver, R.W. and Seth K.A Danso. 1994. Dinitrogen fixation. pp. 1019-1043. *In: R.W. Weaver, J.S. Angle and P.S. Bottomley (eds.). Methods of Soil Analysis. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties. Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.*
- Wedhastri, S., N.F. Yudianti, J. Widada and J.B. Baon. 2012. Ability of non-symbiotic nitrogen-fixing bacteria isolated from coffee plant rhizosphere and their effects on robusta coffee seedlings. *Journal of Agricultural Science and Technology A* 2(5): 660-666.
- Yiam-on, T., N. Riddech, P. Jaisil and S. Boonlue. 2012. Growth promotion of sugarcane by phosphate solubilizing bacteria in green house condition. *Khon Kaen Agricultural Journal* 40(Suppl. 3): 185-193. (in Thai)
- Yupa, C. 2017. Isolation and characterization of rhizobacteria obtained from arabica coffee. Progress report. PHC SIAM Program 2016-2017. Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 10 p.

ผลของอัตราและความถี่ในการให้ปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโต ของกล้วยไม้แวนดาพันธุ์แพตดีไลท์

Effects of Rate and Frequency of Foliar Fertilizer Application on Growth and Development of *Vanda* Orchid 'Pat Delight'

ทีปกร รื่นเรืองใจ¹ ชัยอาทิตย์ อินคำ² และ โสระยา ร่วมรังษี*

Teepakorn Ruenroengchai¹, Chaiatid Inkham² and Soraya Ruamrungsri*

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

²หน่วยวิจัยธาตุอาหารพืชและการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

²Plant Nutrition and Hydroponics Research Unit, Science and Technology Research Institute,
Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: sorayaruamrung@gmail.com

(Received: 1 April 2019; Accepted: 19 September 2019)

Abstract: For *Vanda* production, fertilizer application was one of the factors which affected plant quality. This research was aimed to study the effects of fertilizer application methods on growth and development of *Vanda*. Five year olds of *Vanda* 'Pat Delight' plants were selected for experiment. Plants were supplied with 21-21-21 fertilizer solution by 2 factors i.e. Factor 1: fertilizer concentration rates i.e. 1) at 20 g/20 L 2) at 40 g/20 L and 3) at 60 g/20 L; Factor 2: two frequency of applications i.e. 1) once a week and 2) twice a week were supplied to plant with 100 mL/plant. The experimental design was factorial in completely randomized design with 3x2 treatments plus 1 treatments as control with 10 replications. Growth and development were recorded within 12 months i.e. stem height (measured from base of stem to terminal point), leaf greenness (SPAD unit), number of flowers/plant, flower diameter, inflorescence length, and nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K) contents in leave, root and stem samples. The results found that using 40 g/20 L once a week (treatment 2) could promote the best growth and development and flower quality but not significant difference from managing with maximum fertilizer application treatment (treatment 6: 60 g/20 L twice a week). However plant nutrient contents in roots and stems were lower than treatment 6: 60 g/20 L twice a week. However, plant nutrient contents in leaves were not significant difference from treatment 6: 60 g/20 L twice a week.

Keywords: *Vanda* orchid, flower quality, plant nutrition, fertilizer rate

บทคัดย่อ: ในการผลิตกล้วยไม้แวนดา การให้ปุ๋ยเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพของพืช งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการให้ปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แวนดาพันธุ์แพท ดีไลท์ ดำเนินการโดยคัดเลือกต้นแวนดาพันธุ์แพท ดีไลท์ ที่มีอายุ 5 ปี ให้พืชได้รับปุ๋ยเกรดละลายน้ำเกรด 21-21-21 ตามปัจจัยดังนี้ ปัจจัยที่ 1 อัตราความเข้มข้นของปุ๋ย 3 ระดับ ได้แก่ 1) ให้ปุ๋ย 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร 2) ให้ปุ๋ย 40 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และ 3) ให้ปุ๋ย 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ปัจจัยที่ 2 ความถี่ในการให้ปุ๋ย 2 แบบ ได้แก่ ให้ปุ๋ย 1 ครั้ง ต่อสัปดาห์ และ ให้ปุ๋ย 2 ครั้ง ต่อสัปดาห์ ครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อต้น วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ จำนวน $(3 \times 2) + 1$ กรรมวิธี (กรรมวิธีควบคุม) จำนวนซ้ำ 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตเป็นระยะเวลา 12 เดือน ได้แก่ ความสูงของลำต้น (วัดจากโคนต้นถึงปลายยอด) ค่าความเขียวของใบ จำนวนดอกย่อยต่อช่อ เส้นผ่าศูนย์กลางของดอก ความยาวช่อดอก และปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในใบ ราก และลำต้น ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยอัตรา 40 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ละ 1 ครั้ง (กรรมวิธีที่ 2) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตทางลำต้น คุณภาพดอกดี ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยมากกว่าในกรรมวิธีที่ 3-6 แต่มีปริมาณธาตุอาหารในรากและลำต้นน้อยกว่า อย่างไรก็ตามปริมาณธาตุอาหารในใบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ 6 (ได้รับปุ๋ย 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ละ 2 ครั้ง)

คำสำคัญ: กล้วยไม้แวนดา คุณภาพดอก ธาตุอาหารพืช อัตราการให้ปุ๋ย

คำนำ

กล้วยไม้แวนดามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vanda* sp. อยู่ในวงศ์ Orchidaceae สกุล *Vanda* กระจายพันธุ์อยู่ในเขตอบอุ่นและเขตร้อนของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Sitthisatchatham, 2006) ตั้งแต่อินเดีย พม่า ไทย ลาว จีนตอนใต้ เวียดนาม กัมพูชา มาเลเซีย ไปตามหมู่เกาะต่าง ๆ ในแถบมหาสมุทรแปซิฟิก จนถึงตอนเหนือของออสเตรเลีย (Pridgeon, 1992) ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกดอกกล้วยไม้อันดับ 1 ของโลก ผลผลิตกล้วยไม้แวนดาในประเทศไทย เป็นการผลิตเพื่อส่งออกประมาณ 53% และใช้ในประเทศประมาณ 47% ช่วงเวลาที่มีผลผลิตสูงมี 2 ช่วง คือ เดือนกุมภาพันธ์ถึงมีนาคม และเดือนสิงหาคมถึงกันยายน พื้นที่ที่ผลิตมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร กาญจนบุรี นนทบุรี และราชบุรี (Department of International Trade Promotion, 2018)

การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ให้ได้คุณภาพดี ต้องมีความเข้าใจเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ โดยเฉพาะปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ แสง น้ำ และความชื้น การถ่ายเทอากาศ อุณหภูมิ และธาตุอาหาร ซึ่งมีความสำคัญต่อคุณภาพผลผลิต (Potapohn, 2005) โดยทั่วไป ปุ๋ยที่เหมาะสมในการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ที่อยู่ในช่วงเจริญเติบโตหรือกำลังจะออกดอก ได้แก่ ปุ๋ยเกรดเสมอ

ที่มีอัตราส่วนของธาตุไนโตรเจน ธาตุฟอสฟอรัส และธาตุโพแทสเซียมเป็น 1:1:1 เช่น ปุ๋ยเกรด 15-15-15, 21-21-21, 30-30-30 ความเข้มข้นประมาณ 20-100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (Charoenkitprasert, 2008) ในปัจจุบันปัจจัยด้านธาตุอาหาร เช่น ปุ๋ยเคมี ฯลฯ มีราคาสูงขึ้น ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก (Department of International Trade Promotion, 2018) การจัดการธาตุอาหารให้เหมาะสมจึงเป็นเรื่องสำคัญ Panjama *et al.* (2017) รายงานว่า แวนดาพันธุ์ 'Ratchaburi Fuchs-Katsura' ที่ได้รับไนโตรเจน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร สัปดาห์ละครั้ง ครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อต้น ทำให้แวนดามีอัตราการเติบโตทางลำต้น ปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในใบ ลำต้น และรากมากกว่ากรรมวิธีอื่น ในขณะที่การได้รับไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นการออกดอกได้เร็วขึ้น แม้ประเทศไทยจะสามารถผลิตกล้วยไม้แวนดาเพื่อการส่งออกเป็นอันดับต้น ๆ และมีการผลิตมานาน แต่การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับปัจจัยด้านธาตุอาหาร ที่มีความเหมาะสมต่อการปลูกเลี้ยงแวนดาอย่างถือว่ามีข้อมูลน้อยมาก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการให้ปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตของแวนดาลูกผสม เพื่อใช้เป็นแนวทางในการผลิตกล้วยไม้แวนดาให้มีคุณภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกกล้วยไม้แวนดาลูกผสมแพต ดีไลท์ (Pat Delight) อายุ 5 ปี ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ปลูกเลี้ยงในโรงเรือนพรางแสง 50% ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 26 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 70% ความเข้มแสงเฉลี่ย 55.46 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ดำเนินการทดลองโดยให้พืชได้รับปุ๋ยเกร็ดละลายน้ำ เกรด 21-21-21 พ่นทั่วทั้งต้นปริมาณเฉลี่ย 100 มิลลิลิตรต่อต้น ผสมสารจับใบ (0.1% Tween 20) 10 มิลลิลิตรต่อสารละลาย 10 ลิตร ปรับความเป็นกรดต่างของสารละลายปุ๋ยให้มีค่า 6.0 เท่ากันทุกกรรมวิธี ตามกรรมวิธีทดลองดังนี้ ปัจจัยที่ 1 อัตราความเข้มข้นของปุ๋ย 3 ระดับ ได้แก่ 1) ให้ปุ๋ย 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร 2) ให้ปุ๋ย 40 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และ 3) ให้ปุ๋ย 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ปัจจัยที่ 2 ความถี่ในการให้ปุ๋ย 2 แบบ ได้แก่ 1) ให้ปุ๋ย 1 ครั้ง ต่อสัปดาห์ และ 2) ให้ปุ๋ย 2 ครั้ง ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 12 เดือน ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2560 ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (factorial in completely randomized design) จำนวน $(3 \times 2) + 1$ กรรมวิธี (กรรมวิธีควบคุม) จำนวนซ้ำ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการกรรมวิธีควบคุมโดยการให้พืชได้รับน้ำ deionized เพียงอย่างเดียว (กรรมวิธีที่ 7)

บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต โดยสุ่มบันทึกข้อมูลกรรมวิธีละ 10 ต้น เป็นระยะเวลานาน 12 เดือน ได้แก่ ความสูงของลำต้นโดยวัดจากโคนต้นถึงปลายยอด (เซนติเมตร) คุณภาพดอก ได้แก่ จำนวนดอกต่อช่อ (ดอก) เส้นผ่าศูนย์กลางของดอก (เซนติเมตร) และความยาวช่อดอก (เซนติเมตร) บันทึกค่าความเขียวของใบ ด้วยเครื่อง Chlorophyll meter (ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น SPAD-502 Plus)

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร โดยสุ่มตัวอย่างพืชเมื่อระยะเวลา 12 เดือนหลังจากเริ่มการทดลอง ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำตัวอย่างพืชไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลงจึงนำไปบดให้ละเอียดเพื่อเตรียมวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารต่าง ๆ ได้แก่ 1) ไนโตรเจนทั้งหมด โดยวิธีการ Kjeldahl method และทำ ให้ เกิด สี ดั ว ย modified indophenol (Ohya et al., 1991) 2) ฟอสฟอรัส โดยวิธี การ ammonium molybdate (Davidescu and Davidescu, 1972) และ 3) โพแทสเซียม โดยวิธีการ atomic absorption spectrophotometry (Mizukoshi et al., 1994)

วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistic 8 (SXW Tallahassee, FL, USA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ค่า least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Table 1)

Table 1. The amount of applied nutrients and fertilizer costs of *Vanda* 'Pat Delight' after 12 months of fertilizer application

Treatment	Fertilizer concentration	Frequency of fertilizer application	Amount of applied nutrients (g/plant/year)			Fertilizer costs (baht/plant/year)
			N	P	K	
1	21-21-21 20 g/20 L	once a week	1.09	0.48	0.91	10.4
2	21-21-21 40 g/20 L	once a week	2.18	0.95	1.82	20.8
3	21-21-21 60 g/20 L	once a week	3.28	1.43	2.72	31.2
4	21-21-21 20 g/20 L	twice a week	2.18	0.95	1.82	20.8
5	21-21-21 40 g/20 L	twice a week	4.37	1.91	3.64	41.6
6	21-21-21 60 g/20 L	twice a week	6.55	2.86	5.43	62.4
7	only water supply	once a week	0	0	0	0

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเจริญเติบโต

การวัดความสูงต้นของกล้วยไม้แวนดาพันธุ์แพท ดีไลท์ หลังได้รับการวิธีครบ 12 เดือน พบว่า อัตราความเข้มข้นของปุ๋ย และความถี่ในการให้ปุ๋ย ไม่มีผลต่อความสูงของต้น แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมคือการได้รับน้ำเพียงอย่างเดียว พบว่า การได้รับปุ๋ยในกรรมวิธีที่ 4-6 ซึ่งเป็นการให้ปุ๋ย 2 ครั้งต่อสัปดาห์ ทำให้แวนดามีความสูงต้นเฉลี่ย 33.6-34.8 ซึ่งมากกว่ากล้วยไม้ที่ได้รับน้ำเพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กรรมวิธีที่ 7) (Table 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Panjama *et al.* (2017) ที่พบว่า การเพิ่มขึ้นของระดับธาตุไนโตรเจน ไม่มีผลต่อความสูงของลำต้น แต่การไม่ให้ปุ๋ยส่งผลให้พืชมีความสูงของลำต้นน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ค่าความเขียวของใบ ของกล้วยไม้แวนดาพันธุ์แพท ดีไลท์ หลังได้รับการวิธีครบ 12 เดือน พบว่าทั้งอัตราความเข้มข้นของปุ๋ย และความถี่ในการให้ปุ๋ย ทำให้ค่าความเขียวของใบเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม พบว่า การได้รับปุ๋ยในกรรมวิธีที่ 2-6 กล้วยไม้มีค่าความเขียวของใบเฉลี่ยมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 และ กรรมวิธีที่ 7 (ได้รับน้ำเพียงอย่างเดียว) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าความเขียวของใบ 74.57-79.80 SPAD unit ในขณะที่กรรมวิธีที่ 1 และกรรมวิธีควบคุม (ได้รับน้ำเพียงอย่างเดียว) มีค่าความเขียวของใบเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าความเขียวของใบเฉลี่ย 62.00 SPAD unit และ 56.97 SPAD unit ตามลำดับ (Table 2) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการได้รับปุ๋ยในกรรมวิธีที่ 1 อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้งต่อสัปดาห์ ทำให้พืชได้รับไนโตรเจนน้อยเกินไป จึงทำให้ค่าความเขียวของใบที่วัดได้ ต่ำกว่ากรรมวิธีที่ 2-6 ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุองค์ประกอบที่สำคัญของโปรตีน กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก และคลอโรฟิลล์ (Ruamrungsri *et al.*, 2008)

Table 2. Effects of fertilizer application on stem height and leaf greenness of *Vanda* 'Pat Delight' after 12 months of fertilizer application

Treatment	Fertilizer concentration	Frequency of fertilizer application	Stem height ¹ (cm)	Leaf greenness ¹ (SPAD unit)
1	21-21-21 20 g/20 L	once a week	32.8ab	62.00b
2	21-21-21 40 g/20 L	once a week	33.2ab	74.57a
3	21-21-21 60 g/20 L	once a week	33.4ab	76.83a
4	21-21-21 20 g/20 L	twice a week	34.2a	76.60a
5	21-21-21 40 g/20 L	twice a week	33.6a	78.43a
6	21-21-21 60 g/20 L	twice a week	34.8a	79.80a
7	only water supply	once a week	30.8b	56.97b
CV (%)			8.9	6.99
LSD			1.3	4.12
Fertilizer concentration			ns	*
Frequency of fertilizer application			ns	*
Fertilizer concentration x Frequency of fertilizer application			ns	*

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

^{ns} Not significant

คุณภาพดอก

จากการศึกษาผลของวิธีการให้ปุ๋ยต่อคุณภาพดอกของกล้วยไม้แวนดาลูกผสม ในระยะออกดอกช่วงที่ 1 (ช่วงเดือน มิถุนายน ถึง สิงหาคม 2561) พบว่า อัตราความเข้มข้นของปุ๋ย และความถี่ในการให้ปุ๋ย ไม่มีผลต่อจำนวนดอกย่อยต่อช่อ (Table 3) สอดคล้องกับการทดลองของ Luangchosiri (2004) ที่พบว่า การให้ปุ๋ยในระบบน้ำทุก ๆ 3, 5 และ 7 วัน ไม่มีผลต่อจำนวนดอกต่อช่อของกล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวายพันธุ์ บอมโจ *Dendrobium Sonia* "Bom Jo" แต่ส่งผลกระทบต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก โดยกรรมวิธีที่ 1 และกรรมวิธีที่ 7 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยน้อยกว่า กรรมวิธีที่ 2-6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) ส่วนด้านความยาวช่อดอกพบว่าความถี่ในการให้ปุ๋ย มีผลต่อความยาวช่อดอก และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมโดย กรรมวิธีที่ 7 มีความยาวช่อดอกเฉลี่ยน้อยกว่ากรรมวิธีที่ 1-6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3)

ปริมาณธาตุอาหารในแต่ละส่วนของพืช

การวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบ หลังได้รับกรรมวิธีทดลองนาน 12 เดือน พบว่า ปัจจัยด้านความเข้มข้นของสารละลายปุ๋ยไม่มีผลต่อปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในใบ ส่วนความถี่ในการให้สารละลายปุ๋ยมีผลต่อปริมาณไนโตรเจนในใบ แต่ไม่มีผลต่อปริมาณฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม จากการวิเคราะห์ค่าปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยพบว่า กรรมวิธีที่ 6 ได้รับปุ๋ย 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ละ 2 ครั้ง มีปริมาณไนโตรเจนในใบมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ 2-5 โดยมีค่าเฉลี่ย 297.90 มิลลิกรัมต่อน้ำ (Table 4) การที่กรรมวิธีดังกล่าวทำให้พืชมีปริมาณไนโตรเจนในใบมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 7 จึงส่งผลทำให้การเจริญเติบโต และคุณภาพดอกดีกว่าด้วย ทั้งนี้เนื่องจากธาตุไนโตรเจนช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตทางใบและเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของคลอโรฟิลล์ ซึ่งมีส่วนช่วยในการสังเคราะห์แสงทำให้เกิด

Table 3. Effects of fertilizer application on flowering of *Vanda* 'Pat Delight' during the first flowering period (June - August, 2018)

Treatment	Fertilizer concentration	Frequency of fertilizer application	No. of flowers/ inflorescence ¹	Flower diameter ¹ (cm)	Inflorescence Length ¹ (cm)
1	21-21-21 20 g/20 L	once a week	6.71a	9.4b	30.9a
2	21-21-21 40 g/20 L	once a week	6.86a	10.1a	30.9a
3	21-21-21 60 g/20 L	once a week	7.14a	10.3a	31.3a
4	21-21-21 20 g/20 L	twice a week	7.00a	10.2a	31.2a
5	21-21-21 40 g/20 L	twice a week	7.29a	10.4a	33.1a
6	21-21-21 60 g/20 L	twice a week	7.29a	10.5a	33.1a
7	only water supply	once a week	6.57a	8.9b	26.9b
CV (%)			9.82	4.3	8.2
LSD			0.37	0.2	1.4
Fertilizer concentration			ns	*	ns
Frequency of Fertilizer Application			ns	*	*
Fertilizer concentration x Frequency of fertilizer application			ns	*	*

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

ns Not significant

อาหารสะสมในรูปของคาร์โบไฮเดรตส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของกล้วยไม้ (Oilitsaranukul, 2004) สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสในใบพบว่ากรรมวิธีที่ 6 มีปริมาณฟอสฟอรัสในใบมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ 2-5 โดยมีปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยอยู่ในช่วง 24.14-30.90 มิลลิกรัมต่อต้น เช่นเดียวกับกับปริมาณโพแทสเซียมในใบที่พบว่ากรรมวิธีที่ 6 มีปริมาณโพแทสเซียมในใบมากกว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ 2-5 โดยมีโพแทสเซียมเฉลี่ยอยู่ในช่วง 64.92-78.96 มิลลิกรัมต่อต้น (Table 4)

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในรากพบว่า อัตราความเข้มข้นของปุ๋ยมีผลต่อปริมาณไนโตรเจน และโพแทสเซียมในราก การที่พืชได้รับน้ำเพียงอย่างเดียวทำให้ปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5) สอดคล้องกับการทดลองของ Panjama *et al.* (2017) ที่พบว่า กรรมวิธีควบคุมหรือการไม่ได้รับปุ๋ยในกล้วยไม้ แวนดาพันธุ์ลูกผสม มีปริมาณของธาตุฟอสฟอรัสในรากน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในลำต้นพบว่า อัตราความเข้มข้นของปุ๋ยไม่มีผลต่อธาตุอาหารในลำต้น แต่ความถี่ในการให้ปุ๋ยมีผลต่อปริมาณไนโตรเจนและโพแทสเซียมในลำต้น แต่ไม่มีผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในลำต้น (Table 6) การให้พืชได้รับน้ำเพียงอย่างเดียว (กรรมวิธีที่ 7) ทำให้มีปริมาณธาตุอาหารน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีปริมาณไนโตรเจนเฉลี่ย 26.33 มิลลิกรัมต่อต้น ฟอสฟอรัส 4.66 มิลลิกรัมต่อต้น และโพแทสเซียม 1.71 มิลลิกรัมต่อต้น

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การให้ปุ๋ยเกรดละลายน้ำเกรด 21-21-21 อัตราปุ๋ย 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นสัปดาห์ละ 1 ครั้ง (กรรมวิธีที่ 4) นั้น ส่งผลให้การเจริญเติบโตในด้านความสูงต้น ค่าความเขียวของใบ คุณภาพดอกในด้านจำนวนดอกต่อช่อ เส้นผ่าศูนย์กลางของดอก ความยาวช่อดอก และการสะสมปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในส่วนของใบและลำต้น ได้ดีไม่แตกต่างจากการให้ปุ๋ยในอัตราความเข้มข้นที่สูงและมีความถี่ในการพ่นที่มากกว่า อีกทั้งยังใช้ต้นทุนการผลิต (ค่าปุ๋ย) ที่ต่ำกว่า เฉลี่ย 20.8 บาท (Table 1) เมื่อเทียบกับการให้ปุ๋ยเกรดละลายน้ำเกรด 21-21-21

Table 4. Effects of fertilizer application on nutrient contents in leave parts of *Vanda* 'Pat Delight' after 12 months of fertilizer application

Treatment	Fertilizer concentration	Frequency of fertilizer application	N content ¹ (mg/plant)	P content ¹ (mg/plant)	K content ¹ (mg/plant)
1	21-21-21 20 g/20 L	once a week	235.70bc	22.03b	56.16bc
2	21-21-21 40 g/20 L	once a week	256.14ab	24.14ab	64.92ab
3	21-21-21 60 g/20 L	once a week	266.44ab	26.13ab	65.76ab
4	21-21-21 20 g/20 L	twice a week	277.30ab	28.06ab	67.51ab
5	21-21-21 40 g/20 L	twice a week	264.32ab	26.09ab	69.49ab
6	21-21-21 60 g/20 L	twice a week	297.90a	30.90a	78.96a
7	only water supply	once a week	211.64c	19.80b	38.11c
CV (%)			9.66	18.94	16.63
LSD			20.40	3.91	8.55
Fertilizer concentration			ns	ns	ns
Frequency of Fertilizer Application			*	ns	ns
Fertilizer concentration x Frequency of fertilizer application			*	*	*

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

^{ns} Not significant

Table 5. Effects of fertilizer application on nutrient contents in root parts of *Vanda* 'Pat Delight' after 12 months of fertilizer application

Treatment	Fertilizer concentration	Frequency of fertilizer application	N content ¹ (mg/plant)	P content ¹ (mg/plant)	K content ¹ (mg/plant)
1	21-21-21 20 g/20 L	once a week	102.06b	30.99bc	8.14cd
2	21-21-21 40 g/20 L	once a week	119.42b	30.09bc	10.18cd
3	21-21-21 60 g/20 L	once a week	125.07b	34.79ab	12.19bc
4	21-21-21 20 g/20 L	twice a week	121.59b	33.21ab	11.99bc
5	21-21-21 40 g/20 L	twice a week	128.16ab	34.90ab	15.97ab
6	21-21-21 60 g/20 L	twice a week	158.91a	38.29a	17.34a
7	only water supply	once a week	60.26c	25.69c	6.37d
CV (%)			16.35	10.24	23.00
LSD			15.55	2.72	2.20
Fertilizer concentration			*	ns	*
Frequency of Fertilizer Application			ns	ns	*
Fertilizer concentration x Frequency of fertilizer application			*	*	*

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

^{ns} Not significant

Table 6. Effects of fertilizer application on nutrient contents in stem parts of *Vanda* 'Pat Delight' after 12 months of fertilizer application

Treatment	Fertilizer concentration	Frequency of fertilizer application	N content ¹ (mg/plant)	P content ¹ (mg/plant)	K content ¹ (mg/plant)
1	21-21-21 20 g/20 L	once a week	29.92b	7.84ab	1.98bc
2	21-21-21 40 g/20 L	once a week	38.04ab	8.51a	2.31bc
3	21-21-21 60 g/20 L	once a week	39.97ab	9.02a	2.70ab
4	21-21-21 20 g/20 L	twice a week	42.73ab	9.12a	2.74ab
5	21-21-21 40 g/20 L	twice a week	51.25a	9.24a	2.74ab
6	21-21-21 60 g/20 L	twice a week	52.75a	10.84a	3.14a
7	only water supply	once a week	26.33b	4.66b	1.71c
CV (%)			25.59	24.68	18.00
LSD			8.39	1.70	0.36
Fertilizer concentration			ns	ns	ns
Frequency of Fertilizer Application			*	ns	*
Fertilizer concentration x Frequency of fertilizer application			*	ns	*

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

^{ns} Not significant

อัตราปุ๋ย 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นสัปดาห์ละ 2 ครั้ง (กรรมวิธีที่ 6) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันทั่วไปในการปลูก แวนดา ที่มีต้นทุนการผลิต (ค่าปุ๋ย) เฉลี่ย 62.4 บาท (Table 1) ดังนั้นการให้ปุ๋ยเกรดละลายน้ำเกรด 21-21-21 อัตราปุ๋ย 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นสัปดาห์ละ 1 ครั้ง จะช่วยประหยัดต้นทุนการผลิตได้ถึง 66.7 เปอร์เซ็นต์

สรุป

จากการทดลองผลของวิธีการให้ปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโตของแวนดาลูกผสมโดยศึกษาใน 2 ปัจจัย ได้แก่ อัตราความเข้มข้น และความถี่ในการให้ปุ๋ย พบว่า กรรมวิธีที่ให้ปุ๋ยเกรดละลายน้ำเกรด 21-21-21 อัตราปุ๋ย 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ละ 1 ครั้ง พ่นทั่วทั้งต้น ปริมาตรเฉลี่ย 100 มิลลิลิตรต่อต้น มีแนวโน้มส่งเสริมการเจริญเติบโตทางลำต้น คุณภาพดอก และปริมาณธาตุอาหารในพืชดี ไม่แตกต่างจากการให้ปุ๋ยในปริมาณที่มากกว่า (กรรมวิธีที่ 3-6) จึงแนะนำให้เกษตรกรใช้ปุ๋ยตามวิธีดังกล่าว เพื่อให้ได้กล้วยไม้แวนดาที่มีการเจริญเติบโต และคุณภาพดอกดี

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสวนนันท ออร์คิด สำหรับสนับสนุนพันธุ์ กล้วยไม้ใช้ในการทดลอง และศูนย์บริการการพัฒน ขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่สนับสนุนสถานที่ทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Charoenkitprasert, N. 2008. Handbooks for Growing Orchids. Kasetsiam Books, Bangkok. 272 p. (in Thai)
- Davidescu, D. and V. Davidescu. 1972. Evaluation of Fertility by Plant and Soil Analysis. Abacus Press, London. 560 p.
- Department of International Trade Promotion. 2018. World orchid situation. (Online). Available: <http://www.ditp.go.th> (June 15, 2018). (in Thai)
- Luangchosisri, N. 2004. Effects of media size and fertigation frequency on growth and flower quality of *Dendrobium* Sonia "Bom Jo". M.S. Thesis. King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok. 46 p. (in Thai)
- Mizukoshi, K., T. Nishiwaki, N. Ohtake, R. Minagawa, K. Kobayashi, T. Ikarashi and T. Ohyama. 1994. Determination of tungstate concentration in plant materials by HNO_3 - HClO_4 digestion and colorimetric method using thiocyanate. Bull. Fac. Agric., Niigata Univ. 46: 51-56.
- Ohayama, T., M. Ito, K. Kobayashi, S. Araki, S. Yasuyoshi, O. Sasaki, T. Yamazaki, K. Sayoma, R. Tamemura, Y. Izuno and T. Ikarashi. 1991. Analytical procedures of N, P, K content in plant and manure materials using H_2SO_4 - H_2O_2 Kjeldahl digestion Method. Bull. Fac. Agric. Niigata Univ. 43: 111-120.
- Oilitsaranukul, B. 2004. Study on relationship between leaf greenness, chlorophyll content, leaf nitrogen content and net leaf photosynthetic rate of *Dendrobium* Sonia 'Bom Jo'. B.S. Special Problem, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Panjama, K., C. Inkham and S. Ruamrungsri. 2017. Effects of nitrogen levels on growth and nutrition content of *Vanda* hybrid. Journal of Agriculture 34(1): 1-10. (in Thai)
- Potapohn, N. 2005. Orchidology 1. Handout. Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 215 p. (in Thai)

- Pridgeon, A. 1992. The Illustrated Encyclopedia of Orchids. Timber Press, Inc., Portland, Oregon. 304 p.
- Ruamrungsri, S., W. Khonghaw, A. Payakaihapon and R. Kijkar. 2008. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium on growth and development of *Curcuma petiolata* Roxb. Journal of Agriculture 24(3): 179-186. (in Thai)
- Sitthisatchatham, S. 2006. Wild Orchid of Thailand. Home and Garden, Bangkok. 491 p. (in Thai)
-

ผลของวิธีการให้ปุ๋ยทางใบต่อการเติบโตของกล้วยไม้แวนดา

Effects of Foliar Fertilizer Application on Growth of *Vanda* Orchid

กมลชนก เลิศไพรวัน¹ กนกวรรณ ปัญจะมา^{1,3} ชัยอาทิตย์ อินคำ^{2,3} และ โสระยา ร่วมรังษี^{1,3*}

Kamonchanok Lerdpraivun¹, Kanokwan Panjama^{1,3}, Chaiartid Inkham^{2,3}

and Soraya Ruamrungsri^{1,3*}

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

²หน่วยวิจัยธาตุอาหารพืชและการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

²Plant Nutrition and Hydroponics Research Unit, Science and Technology Research Institute,

Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

³ศูนย์บริการพัฒนาขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ. หางดง จ. เชียงใหม่ 50230

³H.M. The King Initiative Centre for Flower and Fruit Propagation, Hang Dong, Chiang Mai 50230

*Corresponding author: Email: sorayaruamrung@gmail.com

(Received: 9 April 2019; Accepted: 19 September 2019)

Abstract: *Vanda* is a potential orchid for export whereas it is long vase-life and good color which fascinated to customers. Fertilizer is an important factor to stimulate the growth of *Vanda* for high quality production. This experiment aimed to study the effects of appropriated fertilizer application on the growth of *Vanda* Pat Delight. The experimental design was completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 20 replications per treatment, i.e. T1) use fertilizer grade 21-21-21 year round, T2) 13-27-27 year round, T3) 21-21-21 for 2 times then 13-27-27 for 3 times, T4) 21-21-21 for 4 times then 13-27-27 for 1 times and T5) no fertilizer use. The fertilizer concentration was 60 g/20 L of water. The application was done by spraying once a week with 100 ml of fertilizer per plant. The results showed that the fertilizer grade 21-21-21 for 4 times then 13-27-27 for 1 time (T4) was not significant difference on the number of leaf pairs and leaf greenness when compared with 21-21-21 year round (T1) which could increase plant height at 37.6 cm but had the smallest flowering percentage at 70 percent. In contrast to T4 which had 100 percent flowering and the highest on number of flowers per plant, the inflorescence length, flower diameter but was not significant with T1. However, it was significant difference with the control group. Therefore it should be concluded that fertilizer application by using 21-21-21 for 4 times then 13-27-27 for 1 time was optimum for promote plant growth and quality of flower.

Keywords: Orchid, *Vanda*, flowering, growth, fertilizer application

บทคัดย่อ: แวนดาเป็นกล้วยไม้ที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากมีอายุการปักแจกันนานและมีราคาสูงมีสี่ส่วยเป็นที่ดึงดูดสายตาผู้บริโภค ในการผลิตแวนดาให้มีคุณภาพสูงนั้น ปุ๋ยเป็นปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นการเติบโต การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการให้ปุ๋ยที่มีความเหมาะสมต่อการเติบโตของกล้วยไม้แวนดา Pat Delight โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 20 ต้น โดยให้พืชได้รับปุ๋ยที่ต่างกัน ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ให้ปุ๋ยเกรด 21-21-21 ตลอดปี, กรรมวิธีที่ 2 ให้ปุ๋ยเกรด 13-27-27 ตลอดปี, กรรมวิธีที่ 3 ให้ปุ๋ยเกรด 21-21-21 จำนวน 2 ครั้ง สลับกับให้ ปุ๋ยเกรด 13-27-27 จำนวน 3 ครั้ง ตลอดปี, กรรมวิธีที่ 4 ให้ปุ๋ยเกรด 21-21-21 จำนวน 4 ครั้ง สลับกับให้ปุ๋ยเกรด 13-27-27 จำนวน 1 ครั้ง ตลอดปี กรรมวิธีที่ 5 ไม่ได้รับปุ๋ย (ให้น้ำอย่างเดียว) พบว่าตามกรรมวิธีที่กำหนด ในอัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อต้น ผลการทดลองพบว่า การให้ปุ๋ยเกรด 21-21-21 จำนวน 4 ครั้ง สลับกับให้ปุ๋ยเกรด 13-27-27 จำนวน 1 ครั้ง (กรรมวิธีที่ 4) มีจำนวนคูใบและค่าความเสียหายของใบไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับการให้ปุ๋ยเกรด 21-21-21 ตลอดปี (กรรมวิธีที่ 1) ซึ่งความสูงต้นมากที่สุดเฉลี่ย 37.6 เซนติเมตร และมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกน้อยที่สุดที่ 70 เปอร์เซ็นต์ แต่กรรมวิธีที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การออกดอก 100 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนดอกต่อช่อ, ความยาวก้านช่อดอก และเส้นผ่านศูนย์กลางดอกมากที่สุด ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ดังนั้นการให้ปุ๋ยเกรด 21-21-21 จำนวน 4 ครั้ง สลับกับ ปุ๋ยเกรด 13-27-27 จำนวน 1 ครั้ง จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมทำให้พืชมีการเจริญเติบโต และมีคุณภาพดอกดี

คำสำคัญ: กล้วยไม้ แวนดา การออกดอก การเติบโต วิธีการให้ปุ๋ย

คำนำ

กล้วยไม้จัดเป็นพืชดอกที่มีความหลากหลายมากที่สุดในโลก และมีการปลูกเลี้ยงมาเป็นเวลานาน ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกดอกกล้วยไม้เป็นอันดับหนึ่งของโลก มีการส่งออกเดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2561 ทั้งประเภทตัดดอกและกระถาง มูลค่ารวมประมาณ 2,727 ล้านบาท โดยมีตลาดส่งออกสำคัญ ได้แก่ ญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา เวียดนาม และสหภาพยุโรป แหล่งผลิตที่สำคัญคือ นครปฐม สมุทรสาคร กรุงเทพมหานคร ราชบุรี และนนทบุรี ไทยส่งออกกล้วยไม้หลายสกุล ได้แก่ หวาย ม็อคคาร่า อะแรนดา ซิมปีเดียม และแวนดา เป็นต้น (Bureau of Agricultural and Industrial Trade Promotion, 2562) แวนดาเป็นสินค้าส่งออกที่มีศักยภาพ เนื่องจากเป็นไม้ดอกที่มีความสวยงาม สีสันหลากหลาย และมีอายุการปักแจกันนาน ในการผลิตแวนดาให้มีคุณภาพสูงมีปัจจัยการผลิตหลายประการที่ต้องคำนึงถึง เกษตรกรผู้ปลูกจำเป็นต้องมีกระบวนการที่ควรปฏิบัติในการปลูก ดูแลรักษา การจัดการการผลิตที่ดี เช่น การเลือกพื้นที่ปลูกที่เหมาะสม การสร้างโรงเรือนที่โปร่ง มีการระบายอากาศดี

มีสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนทั้ง แสงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-35 องศาเซลเซียส และ ความชื้นประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ (Thammasiri, 2004) ซึ่งเหมาะสมกับความต้องการของพืช ดินพันธุ์ที่แข็งแรงปราศจากโรคและแมลง การใช้วัสดุปลูกและระยะปลูกที่ถูกต้องและเหมาะสม การตรวจสอบคุณภาพน้ำ และปรับคุณภาพน้ำ การจัดบันทึกข้อมูลการปฏิบัติ การป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ถูกต้อง การเก็บเกี่ยวดอกกล้วยไม้ ในระยะที่เหมาะสม และการใช้ปุ๋ยอย่างถูกต้อง (Suwanro, 2017) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการใช้ปุ๋ยอย่างถูกต้องเป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งในการทำให้อายุกล้วยไม้เจริญเติบโตอย่างมีคุณภาพ กล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการปุ๋ยที่แตกต่างกันไป ในการผลิตกล้วยไม้แวนดา ผู้ปลูกนิยมให้ปุ๋ยที่มี ไนโตรเจนสูงเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตทางลำต้น จากนั้นจึงให้ปุ๋ยที่มีฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียมสูงเพื่อกระตุ้นการออกดอก (Stewart, 2000) จากการศึกษาอัตราการใช้ปุ๋ยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นและการเจริญด้านสืบพันธุ์ของ *Dendrobium* cv. Red Emperor 'Prince' พบว่าการใช้ ไนโตรเจนเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับฟอสฟอรัสเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และโพแทสเซียมเข้มข้น 100

มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระดับที่เหมาะสมกับพืช (Bichsel *et al.*, 2008) การทดลองของ Panjama *et al.* (2017) ในแวนดาถูกผสม พบว่าการให้น้ำไนโตรเจนที่ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร พืชมีอัตราการเติบโตทางลำต้นมากกว่ากรรมวิธีที่ให้น้ำไนโตรเจนที่ 0 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการให้น้ำในสวนกล้วยไม้ที่นิยมพ่นมีอยู่ 3 เกรด คือ เกรด 20-20-20 ใช้ตั้งแต่ไม้นิ้ว จนถึงระยะออกดอก เกรด 10-52-17 ใช้กระตุ้นการเกิดช่อดอก และเกรด 16-21-27 สำหรับการเจริญเติบโตและคุณภาพดอก (Supakamnurd, 2017) อย่างไรก็ตามข้อมูลในการจัดการปุ๋ยที่เหมาะสมยังมีไม่มากนัก ตลอดจนไม่มีวิธีการที่แน่นอน รวมถึงไม่มีรายงานทางวิชาการถึงผลของการให้น้ำที่แตกต่างกันตามระยะการเจริญเติบโตของแวนดา ดังนั้นงานทดลองในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการให้น้ำที่แตกต่างกันต่อการเติบโตของกล้วยไม้แวนดาเพื่อการผลิตที่มีคุณภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกแวนดาพันธุ์ Pat Delight ที่มีอายุต้นและขนาดต้นสม่ำเสมอ และมีการออกดอกมาแล้ว 1 ครั้ง ปลูกในโรงเรือนพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มแสงเฉลี่ย 120.61 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที โดยให้พืชได้รับปุ๋ยเกรดละลายน้ำเกรดต่างกันตามกรรมวิธีที่กำหนด ในอัตรา 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร วางแผนการ

ทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี กรรมวิธี ละ 20 ซ้ำ จำนวน 1 ต้นต่อ 1 ซ้ำ ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ให้น้ำเกรด 21-21-21 ตลอดปี
- กรรมวิธีที่ 2 ให้น้ำเกรด 13-27-27 ตลอดปี
- กรรมวิธีที่ 3 ให้น้ำเกรด 21-21-21 จำนวน 2 ครั้ง (สัปดาห์ที่ 1 และ 2) สลับกับให้น้ำเกรด 13-27-27 จำนวน 3 ครั้ง (สัปดาห์ที่ 3, 4 และ 5) ต่อเนื่องกันตลอดปี
- กรรมวิธีที่ 4 ให้น้ำเกรด 21-21-21 จำนวน 4 ครั้ง (สัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4) จากนั้นสลับกับให้น้ำเกรด 13-27-27 จำนวน 1 ครั้ง (สัปดาห์ที่ 5) ต่อเนื่องกันตลอดปี
- กรรมวิธีที่ 5 ไม่ได้รับน้ำ (ให้น้ำ deionized อย่างเดียว)

ในแต่ละกรรมวิธีพืชจะได้รับน้ำตาม Table 1 ทุกการทดลองให้น้ำโดยการพ่นทางใบ ครั้งละ 100 มิลลิตรต่อต้น ผสมสารจับใบ (0.1% Tween 20) 10 มิลลิตรต่อสารละลาย 10 ลิตร ปรึบความเป็นกรดต่างของสารละลายปุ๋ยให้มี ค่า 6.0 เท่ากันทุกกรรมวิธี ตลอดการทดลองให้น้ำทั้งหมด 52 ครั้ง ในแต่ละกรรมวิธี โดยเริ่มตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2560 - 31 พฤษภาคม 2561

ทำการบันทึกผลการทดลองดังนี้ 1) บันทึกการเจริญเติบโตทุก 1 เดือน ได้แก่ ความสูงต้น วัดจากโคนถึงปลายยอด (เซนติเมตร) และจำนวนคูใบ ต่อต้น

Table 1. Amount of applied nutrient and fertilizer costs of *Vanda* 'Pat Delight' after 12 months of fertilizer application

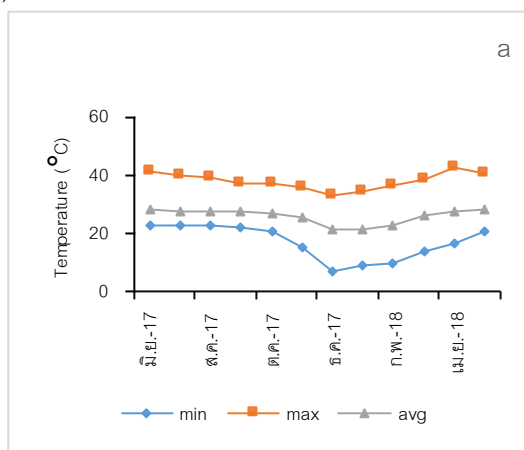
Treatment	Amount of applied nutrients (g/plant/year)			Fertilizer cost (bath/plant/year)
	N	P	K	
1. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O year round	3.28	1.43	2.72	1.64
2. 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O year round	2.03	1.84	3.49	1.72
3. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 2 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 3 times ¹	2.51	1.68	3.19	1.69
4. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 4 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 1 time ¹	3.04	1.51	2.87	1.65
5. Control (only water supply)	0	0	0	0

¹ Alternative application in all year round

2) คุณภาพดอก ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การออกดอก จำนวนดอกต่อต้น ความยาวก้านช่อดอก (เซนติเมตร) ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร) เส้นผ่านศูนย์กลางดอก (เซนติเมตร) และจำนวนวันตั้งแต่เริ่มให้กรรมวิธีจนถึงดอกแรกบาน 3) ข้อมูลอุณหภูมิโรงเรือน (องศาเซลเซียส) และความเข้มแสง (ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) โดยเครื่อง Data loggers ยี่ห้อ HOBO รุ่น UA-002-64 4) ค่าความเขียวของใบวัดด้วยเครื่อง chlorophyll meter (ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น SPAD-502 Plus)

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร ทำการสุ่มตัวอย่างพืชหลังการทำการทดลองนาน 1 ปี โดยแยกเป็น 3 ส่วน ใบ ราก และลำต้น ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้ง ชั่งน้ำหนักสด จากนั้นนำตัวอย่างพืชไปอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ชั่งน้ำหนักแห้งแล้วจึงนำไปบดให้ละเอียดก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารต่าง ๆ ได้แก่ 1) ไนโตรเจนรวม โดยวิธีการ Kjeldahl และทำให้เกิดสีด้วยวิธีการ modified indolphanol (Ohyama *et al.*, 1991) 2) ฟอสฟอรัส โดยวิธีการ ammonium molybdate (Davidescu and Davidescu, 1972) และ 3) โพแทสเซียม โดยวิธีการ atomic absorption spectrophotometry (Mizukoshi *et al.*, 1994)

วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistic 8 (SXW Tallahassee, FL, USA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ค่า least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์



ผลการศึกษาและวิจารณ์

สภาพแวดล้อมในโรงเรือน

จากการบันทึกค่าอุณหภูมิ และความเข้มแสงตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัย พบว่าอุณหภูมิภายในโรงเรือนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 26 องศาเซลเซียส มีค่าอุณหภูมิต่ำสุดอยู่ในเดือนธันวาคมเฉลี่ย 21.4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดอยู่ในเดือนมิถุนายนมีค่าเฉลี่ย 28.4 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงเฉลี่ย 120.61 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ความเข้มแสงสูงสุดอยู่ในเดือนมิถุนายนเฉลี่ย 175.60 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที และความเข้มแสงต่ำสุดอยู่ในเดือนมกราคม มีค่าเฉลี่ย 75.40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที (Figure 1)

การเจริญเติบโต

ความสูงต้น (เซนติเมตร)

หลังจากการให้ปุ๋ยนาน 1 ปีพบว่า การได้รับปุ๋ยเกรด 21-21-21 อัตรา 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร (กรรมวิธีที่ 1) ทำให้พืชมีความสูงต้นเฉลี่ย 37.6 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 5) มีความสูงต้นน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉลี่ย 27.4 เซนติเมตร (Table 2) ซึ่งการให้ปุ๋ยกรรมวิธีที่ 1 พืชได้รับธาตุไนโตรเจนมากกว่ากรรมวิธีอื่น (Table 1) ซึ่งธาตุไนโตรเจนมีบทบาทสำคัญต่อพืชในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดเซลล์ ดังนั้นการให้ปุ๋ยไนโตรเจนใน

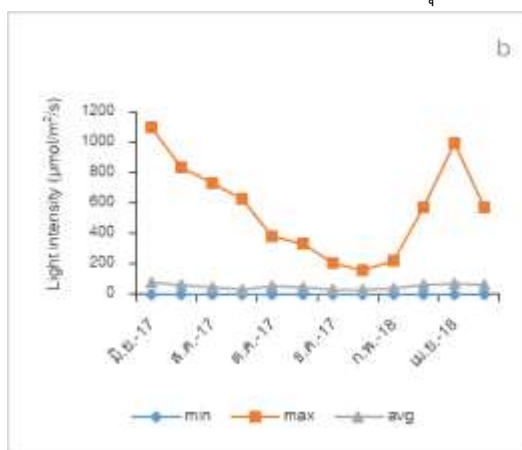


Figure 1. Monthly temperature (°C) (a) and light intensity (μmol/m²/s) (b) in greenhouse during June 2017 to May 2018

Table 2. Effects of fertilizer application on plant height, number of leaf pairs and leaf greenness of *Vanda* 'Pat Delight' at 12 months after fertilizer application (MAF)

Treatment	Plant height ¹ (cm)	No. of leaf pairs ¹	Leaf greenness ¹ (SPAD unit)
1. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O year round	37.6 a	12 a	79.23 a
2. 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O year round	34.2 b	11 a	77.17 a
3. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 2 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 3 times ²	34.5 b	12 a	77.54 a
4. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 4 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 1 time ²	35.2 b	12 a	76.23 a
5. Control (only water supply)	27.4 c	10 b	60.89 b
LSD _{0.05}	2.27	0.75	4.99
CV (%)	6.63	6.45	3.70

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

² Alternative application in all year round

ปริมาณมาก จึงช่วยส่งเสริมให้พืชเจริญทางกิ่งและใบมากขึ้นรวมทั้งมีการเจริญเติบโตทางลำต้นมาก (Sruamsiri, 2011) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Panjama *et al.* (2017) พบว่าการให้น้ำโตรเจนที่ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 50 มิลลิตรต่อต้น มีแนวโน้มทำให้แวนดา Ratchaburi Fuchs-Katsura มีการเติบโตทางลำต้นและปริมาณธาตุอาหารในพืชมากกว่ากรรมวิธีที่ได้รับความเข้มข้นของไนโตรเจนน้อยกว่า

จำนวนคูใบ

หลังจากการให้น้ำนาน 1 ปีพบว่า กรรมวิธีที่ 1-4 มีจำนวนคูใบ 11-12 คูใบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในกรรมวิธีที่ 5 ซึ่งเป็นกรรมวิธีควบคุม มีจำนวนคูใบน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย 10 คูใบ (Table 2) ซึ่งในกรรมวิธีที่ 1-4 มีปริมาณปุ๋ยมากกว่ากรรมวิธีที่ 5 (Table 1) โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจน Ichihashi (2003) รายงานว่าในกล้วยไม้ฟาแลนทอปซิสพันธุ์ [Shirayukihime x (Musashino x White Dream)] ที่ให้ไนโตรเจนความเข้มข้น 280 และ 140 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 300 มิลลิตรต่อต้น มีการเพิ่มขึ้นของใบ 2.0 และ 1.7 ใบต่อสัปดาห์ตามลำดับ ส่วนในกรรมวิธีที่ให้น้ำเพียงอย่างเดียวมีการเพิ่มขึ้นของใบเพียง 0.2 ใบต่อสัปดาห์

ค่าความเขียวของใบ

หลังจากการให้น้ำนาน 1 ปีพบว่า การได้รับปุ๋ยในกรรมวิธีที่ 1-4 ทำให้พืชมีค่าความเขียวของใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ย 79.23, 77.17, 77.54 และ 76.23 ตามลำดับ และกรรมวิธีควบคุมมีค่าความเขียวของใบน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย 60.89 SPAD unit (Table 2) ทั้งนี้เนื่องจากกรรมวิธีที่ 1-4 มีปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนมากกว่ากรรมวิธีที่ 5 ซึ่งธาตุไนโตรเจนเกี่ยวข้องโดยตรงกับการสังเคราะห์คลอโรพลาสต์และคลอโรฟิลล์ เมื่อพืชขาดธาตุไนโตรเจนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์น้อยลง รงควัสดุสีเหลืองจึงแสดงให้เห็นด้วยตาเปล่า (Sruamsiri, 2011) Higgaki and Imamura (1987) ศึกษาผลของ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในแวนดา Miss Joaquim พบว่า การขาดธาตุไนโตรเจนทำให้พืชแสดงอาการเหลืองที่ใบและลำต้น และการขาดโพแทสเซียมทำให้เกิดอาการใบเหลืองเช่นกัน ส่วนการขาดฟอสฟอรัสทำให้เกิดอาการปลายใบสีม่วง นอกจากนี้ยังพบว่าการขาดไนโตรเจนร่วมกับฟอสฟอรัสทำให้เกิดใบเหลืองเช่นกัน

การออกดอก

จากการศึกษาผลของวิธีการให้น้ำต่อการออกดอกของกล้วยไม้แวนดาพันธุ์ Pat Delight พบว่า เปอร์เซ็นต์การออกดอกในกรรมวิธีที่ 4 และ 5 มีค่าเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีที่ 2 และ 3 มีการออกดอก

89 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 1 มีการออกดอกน้อยที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าในกรรมวิธีที่ 5 (กรรมวิธีควบคุม) ยังมีการออกดอกเร็วที่สุดใช้เวลาเฉลี่ย 41 วัน เมื่อนับตั้งแต่เริ่มแทงช่อจนกระทั่งดอกแรกบาน และใช้เวลา 111 วัน ตั้งแต่เริ่มได้รับกรรมวิธีทดลองจนกระทั่งดอกแรกบาน ส่วนในกรรมวิธีที่ 1, 2, 3, 4 ใช้เวลา 272, 217, 208, 276 วัน ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 3) การให้น้ำโตรเจนที่มากเกินไปอาจมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของตาข้าง ทำให้ผลผลิตลดลง รวมถึงอาจมีผลทำให้การออกดอกล่าช้า (Sruamsiri, 2011) ซึ่ง Bichsel *et al.* (2008) พบว่าการให้น้ำโตรเจนในอัตราสูงเป็นสาเหตุทำให้กล้วยไม้หวายออกดอกไม่ดี ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการให้น้ำปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราสูงและต่อเนื่องยาวนาน ทำให้ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ของลำลูกกล้วยล่าช้าไป จึงอาจไปยับยั้งการเกิดตาดอก และนอกจากนั้น Chang *et al.* (2010) ได้ศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยในกล้วยไม้ *Doritaenopsis* 'I-Hsin Madame' พบว่าการให้น้ำปุ๋ยกรด 30-10-20 ทำให้ระยะเวลาการแทงช่อดอกและระยะเวลาในการบานของดอก ยืดออกไปนานกว่าการใช้ปุ๋ยกรด 5-20-20 และ 10-30-20 เช่นเดียวกับการศึกษา

ของ Lin *et al.* (2019) ที่พบว่ากล้วยไม้ฟาแลนนอปซิส Sogo Lotte 'F2510' ที่ได้รับไนโตรเจนในอัตราสูง มีระยะเวลาในการแทงช่อดอก และระยะเวลาที่ดอกแรกบานช้ากว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้รับไนโตรเจน

คุณภาพดอก

ผลการทดลองพบว่าจำนวนดอกต่อช่อในกรรมวิธีที่ 5 (กรรมวิธีควบคุม) มีจำนวนดอกต่อช่อน้อยที่สุดที่ 6 ดอก และมีค่าเฉลี่ยความยาวก้านช่อดอก และเส้นผ่านศูนย์กลางดอก 25.2 และ 10.5 ตามลำดับ ส่วนในกรรมวิธีที่ 1, 2, 3, 4 พบว่าค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 4) โดยทั่วไปแล้ว คุณภาพดอกแวนดา Pat Delight ที่ตลาดต้องการ จะมีจำนวนดอกต่อช่อ ตั้งแต่ ≥ 7 ดอกต่อช่อ (ขนาด M, ราคาช่อละ 45 บาท) จนถึง ≥ 12 ดอกต่อช่อ (ขนาด LL, ราคาช่อละ 60 บาท) ยิ่งจำนวนดอกมากก็จะได้อายุที่สูงขึ้น ซึ่งจำนวนดอกต่อช่อจะแปรผันตามความยาวช่อดอก และมีขนาดดอกประมาณ 10.5 เซนติเมตรขึ้นไป จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ความยาวช่อดอกและขนาดดอก ในกรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยถึงแม้จะไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็มีแนวโน้มที่ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้รับปุ๋ย โดยเฉพาะแวนดาที่ได้รับปุ๋ย

Table 3. Effects of fertilizer application on flowering of *Vanda* 'Pat Delight' at 12 months after fertilizer application (MAF)

Treatment	Percent of flowering ³ (%)	No. of days from emerge to flowering ¹ (days)	No. of days from starting treatment to flowering ¹ (days)
1. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O year round	70	46 ab	272 a
2. 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O year round	89	43 ab	217 a
3. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 2 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 3 times ²	95	45 ab	208 a
4. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 4 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 1 time ²	100	49 a	276 a
5. Control (only water supply)	100	41 b	111 b
LSD _{0.05}	-	6.15	74.98
CV (%)	-	17.55	44.12

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

² Alternative application in all year round

³ Data has showed by observation in 20 replications per treatment

ตามกรรมวิธีที่ 4 มีแนวโน้มที่ดีกว่าแวนดาที่ได้รับปุ๋ยตามกรรมวิธีอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hew *et al.* (2002) ที่พบว่า การให้น้ำโตรเจนทุกอัตราความเข้มข้นร่วมกับปุ๋ยฟอสฟอรัสอัตรา 200 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ต่อปี และปุ๋ยโพแทสเซียมอัตรา 275 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ต่อปี สามารถเพิ่มผลผลิตและขนาดดอกที่ใหญ่ขึ้นในแวนดา Miss Joaquiun

ผลของการให้ปุ๋ยต่อปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน

ผลของการวิเคราะห์ธาตุไนโตรเจนพบว่า 1 ปี หลังจากให้กรรมวิธี การได้รับปุ๋ยเกรด 21-21-21 จำนวน 2 ครั้ง สลับกับปุ๋ยเกรด 13-27-27 จำนวน 3 ครั้ง (กรรมวิธีที่ 3) ทำให้มีปริมาณไนโตรเจนในใบมากกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉลี่ย 312.45 มิลลิกรัมต่อต้น ส่วนกรรมวิธีควบคุม (ไม่ได้รับปุ๋ย) มีปริมาณไนโตรเจนในใบน้อยที่สุดเฉลี่ย 157.01 มิลลิกรัมต่อต้น ส่วนปริมาณไนโตรเจนในรากกรรมวิธีที่ 1 มีปริมาณไนโตรเจนในรากมากที่สุดเฉลี่ย 326.86 มิลลิกรัมต่อต้น สำหรับปริมาณไนโตรเจนในลำต้นพบว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 3 มีปริมาณไนโตรเจนมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย 59.76 และ 60.44 มิลลิกรัมต่อต้น และกรรมวิธีควบคุมมีปริมาณไนโตรเจนในลำต้นน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย 26.82 มิลลิกรัมต่อต้น (Table 5) ธาตุไนโตรเจนมี

บทบาทสำคัญต่อพืชในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดเซลล์ (Sruamsiri, 2011) โพแทสเซียมส่งเสริมการนำเข้าของไนโตรเจนในพืช โดยปริมาณโพแทสเซียมที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้การนำเข้าไนโตรดของพืชมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Ali *et al.*, 1987)

ฟอสฟอรัส

ปริมาณฟอสฟอรัสหลังได้รับกรรมวิธีทดลองนาน 1 ปี พบว่ากรรมวิธีที่ 3 มีปริมาณฟอสฟอรัสในใบมากกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย 45.85 มิลลิกรัมต่อต้น ส่วนกรรมวิธีที่มีปริมาณฟอสฟอรัสน้อยที่สุดคือกรรมวิธีควบคุมมีค่าเฉลี่ย 4.59 มิลลิกรัมต่อต้น สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสในราก พบว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 2 มีปริมาณฟอสฟอรัสมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย 30.03 และ 28.09 มิลลิกรัมต่อต้น และในกรรมวิธีควบคุมมีปริมาณฟอสฟอรัสในรากน้อยที่สุดเฉลี่ย 2.19 มิลลิกรัมต่อต้น ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสในลำต้นพบว่ากรรมวิธีที่ 2 และ 3 มีปริมาณฟอสฟอรัสมากที่สุดที่ 5.94 และ 5.86 มิลลิกรัมต่อต้น และในกรรมวิธีควบคุมมีปริมาณฟอสฟอรัสในลำต้นน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.96 มิลลิกรัมต่อต้น (Table 6) ซึ่งการได้รับปุ๋ย ส่งผลให้ ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสใน ใบ ราก และลำต้นของแวนดา มีปริมาณมากกว่ากรรมวิธีควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องจากการได้รับธาตุอาหารส่งเสริมการเติบโตของราก ซึ่งทำให้รากมี

Table 4. Effects of fertilizer application on flowering quality of *Vanda* 'Pat Delight' at 12 months after fertilizer application (MAF)

Treatment	No. of flowers/plant ¹	Peduncle length ¹ (cm)	Inflorescence length ¹ (cm)	Flower diameter ¹ (cm)
1. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O year round	8 a	20.0 ab	29.4 ab	10.7 ab
2. 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O year round	8 a	19.3 ab	28.3 ab	10.8 ab
3. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 2 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 3 times ²	8 a	19.0 b	27.1 bc	10.7 ab
4. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 4 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 1 time ²	8 a	20.8 a	30.1 a	11.0 a
5. Control (only water supply)	6 b	19.4 ab	25.2 c	10.5 b
LSD _{0.05}	0.74	1.72	2.36	0.41
CV (%)	12.55	11.1	10.71	4.85

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

² Alternative application in all year round

Table 5. Effects of fertilizer application on nitrogen content in leaves, roots and stems of *Vanda* 'Pat Delight' at 12 months after fertilizer application (MAF)

Treatment	N content ¹ (mg/plant)		
	Leaves	Roots	Stem
1. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O year round	280.13 b	326.86 a	59.76 a
2. 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O year round	208.21 c	174.34 c	33.77 c
3. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 2 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 3 times ²	312.45 a	280.88 b	60.44 a
4. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 4 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 1 time ²	168.03 d	197.58 c	53.08 b
5. Control (only water supply)	157.01 d	200.78 c	26.82 d
LSD _{0.05}	14.29	29.71	3.95
CV (%)	3.49	6.92	4.64

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$ ² Alternative application in all year roundTable 6. Effects of fertilizer application on phosphorus content in leaves, roots and stems of *Vanda* 'Pat Delight' at 12 months after fertilizer application (MAF)

Treatment	P content ¹ (mg/plant)		
	Leaves	Roots	Stem
1. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O year round	38.95 b	30.03 a	4.37 b
2. 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O year round	28.54 c	28.09 a	5.94 a
3. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 2 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 3 times ²	45.85 a	19.92 b	5.86 a
4. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 4 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 1 time ²	13.42 d	10.92 c	2.15 c
5. Control (only water supply)	4.59 e	2.19 d	0.96 d
LSD _{0.05}	4.44	2.87	0.70
CV (%)	9.28	8.65	10.00

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$ ² Alternative application in all year round

ความสามารถในการนำเข้าและเคลื่อนย้ายฟอสฟอรัสได้ในพืช (Fageria, 2014)

โพแทสเซียม

ปริมาณโพแทสเซียมหลังได้รับกรรมวิธีทดลองนาน 1 ปี พบว่ากรรมวิธีที่ 3 มีปริมาณโพแทสเซียมในใบมากกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย 193.21 มิลลิกรัมต่อต้น และในกรรมวิธีที่ 2 มีปริมาณโพแทสเซียมในใบที่น้อยที่สุดเฉลี่ย 97.44 มิลลิกรัมต่อต้น แต่ก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1, 4

และกรรมวิธีควบคุม สำหรับปริมาณโพแทสเซียมในรากในกรรมวิธีที่ 1 มีค่ามากที่สุดเฉลี่ย 112.51 มิลลิกรัมต่อต้น และในกรรมวิธีควบคุมมีปริมาณโพแทสเซียมในรากที่น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉลี่ย 48.1 มิลลิกรัมต่อต้น ส่วนปริมาณโพแทสเซียมในลำต้นพบว่า กรรมวิธีที่ 1 และ 3 มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด 19.56 และ 17.99 มิลลิกรัมต่อต้น ตามลำดับ และกรรมวิธีควบคุมมีปริมาณโพแทสเซียมในลำต้นที่น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉลี่ย 8.34 มิลลิกรัมต่อต้น (Table 7) โดยระดับของไนโตรเจนและโพแทสเซียม

Table 7. Effects of fertilizer application on potassium content in leaves, roots and stems of Vanda 'Pat Delight' at 12 months after fertilizer application (MAF)

Treatment	K content ¹ (mg/plant)		
	Leaves	Roots	Stem
1. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O year round	122.71 b	112.51 a	19.56 a
2. 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O year round	97.44 b	77.33 bc	13.66 b
3. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 2 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 3 times ²	193.21 a	79.54 b	17.99 a
4. 21N-21P ₂ O ₅ -21K ₂ O for 4 times then 13N-27P ₂ O ₅ -27K ₂ O for 1 time ²	106.60 b	53.61 cd	14.86 b
5. Control (only water supply)	99.19 b	48.71 d	8.34 c
LSD _{0.05}	41.64	24.27	2.78
CV (%)	18.48	17.95	10.28

¹ Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$

² Alternative application in all year round

ที่สูงขึ้น ทำให้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเนื้อเยื่อพืชสูงขึ้น (Kidsadawanich, 2005) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของไนโตรเจนทำให้การนำเข้าโพแทสเซียมมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยจะขึ้นกับปริมาณโพแทสเซียมที่เหมาะสมในสารละลาย (Fageria, 2014)

สรุป

จากผลการทดลองวิธีการให้ปุ๋ยทางใบที่มีผลต่อการเจริญเติบโตทางลำต้น การออกดอก และปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้แวนดา พบว่าการให้ปุ๋ยทางใบโดยใช้ปุ๋ยเกรด 21-21-21 อัตราความเข้มข้น 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 4 ครั้ง สลับกับปุ๋ยเกรด 13-27-27 อัตราความเข้มข้น 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง ในอัตราครั้งละ 100 มิลลิลิตรต่อต้น ชีดพ่นสลับต่อเนื่องตลอดทั้งปี ทำให้กล้วยไม้แวนดามีการเจริญเติบโต และมีเปอร์เซ็นต์การออกดอกและคุณภาพดอกดี จึงแนะนำให้เกษตรกรใช้ปุ๋ยตามวิธีการดังกล่าว ในการผลิตกล้วยไม้แวนดาที่มีคุณภาพดี

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสวนสวนนันท ออคิตส์ จังหวัดราชบุรี ที่ให้การสนับสนุนพันธุ์กล้วยไม้ที่ใช้ในการทดลอง และศูนย์บริการการพัฒนาขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่ อันเนื่องมาจากพระราชดำริที่สนับสนุนสถานที่ทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Ali, A.A., M. Ikeda and Y. Yamada. 1987. Effect of the supply of potassium, calcium, and magnesium on the absorption, translocation, and assimilation of ammonium- and nitrate-nitrogen in wheat plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 33(4): 585-594.
- Bichsel, R.G., T.W. Starman and Y.T. Wang. 2008. Nitrogen, phosphorus and potassium requirements for optimizing growth and flowering of the nobile *Dendrobium* as a potted orchid. *HortScience* 43(2): 328-332.
- Boonkorkaew, P., J. Tiampayotom, P. Triboon, K. Kaewtrakulpong, N. Phromchana and S.

- Ratanathip. 2010. Biological Property List: Thai Orchid. Biodiversity-Based Economy Development Office, Bangkok. 175 p. (in Thai)
- Bureau of Agricultural and Industrial Trade Promotion. 2019. Orchid goods. (Online). Available: http://www.ditp.go.th/ditp_web61/article_sub_view.php?filename=contents_attach/539560/539560.pdf&title=539560&cate=743&d=0 (7 August, 2019). (in Thai)
- Chang, K.H., R.Y. Wu and T.F. Hsieh. 2010. Effects of fertilizer formulations on flowering of *Doritaenopsis* 'I-Hsin Madame' in gradational nutrition management. *Acta Horticulture* 878: 346-354.
- Davidescu, D. and V. Davidescu. 1972. Evaluation of Fertility by Plant and Soil Analysis. Abacus Press, Kent, U.K. 560 p.
- Fageria, N.K. 2014. Nitrogen Management in Crop Production. CRC Press, New York. 436 p.
- Hew, C.S., T.W. Yam, J. Arditti and A.D. Krikorian. 2002. Biology of *Vanda* Miss Joaquim. Singapore University Press, Singapore. 259 p.
- Higaki, T., J.S. Imamura. 1987. NPK requirements of *Vanda* Miss Joaquim orchid plants. University of Hawaii, Honolulu, HI. 5 p.
- Ichihachi, S. 2003. Effects of nitrogen application on leaf growth, inflorescence development and flowering in *Phalaenopsis*. *Bulletin of Education, Aichi University* 52: 35-42.
- Kidsadawanich, H. 2005. Effect of nitrogen phosphorus and potassium on growth and development of *Freesia* spp. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 120 p. (in Thai)
- Lin, J.A., H. Susilo, J.Y. Lei and Y.C.A. Chang. 2019. Effects of fertilizer nitrogen shortly before forcing through flowering on carbon-nitrogen composition and flowering of *Phalaenopsis*. *Scientia Horticulturae* 252: 61-70.
- Mizukoshi, K., T. Nishiwaki, N. Ohtake, R. Minagawa, K. Kobayashi, T. Ikarashi and T. Ohyama. 1994. Determination of tungstate concentration in plant materials by HNO_3 - HClO_4 digestion and colorimetric method using thiocyanate. *Bulletin Faculty of Agriculture, Niigata University* 46: 51-56.
- Supakamnurd, N. 2017. Orchid Production Technology. Horticulture Reserch Institute, Bangkok. 156 p. (in Thai)
- Ohyama, T., M. Ito, K. Kobayashi, S. Araki, S. Yasuyoshi, O. Sasaki, T. Yamazaki, K. Sayoma, R. Tamemura, Y. Izuno and T. Ikarashi. 1991. Analytical procedures of N, P, K contents in plant and manure materials using H_2SO_4 - H_2O_2 Kjeldahl digestion method. *Bulletin Faculty of Agriculture, Niigata University* 43: 111-120.
- Panjama, K., C. Inkham and S. Ruamrungsri. 2018. Effects of nitrogen levels on growth and nutrition content of *Vanda* hybrid. *Journal of Agriculture* 34(1): 1-10. (in Thai)
- Sruamsiri, P. 2011. Nutrients in Horticulture Production. Wanida Printing, Chiang Mai. 326 p. (in Thai)
- Stewart, J. 2000. Orchids. Revised ed. Timber Press, Inc., Portland, Oregon. 124 p.
- Suwanro, T. 2017. Quality of orchid production. (Online). Available: <http://www.agriman.doae.go.th> (May 26, 2017). (in Thai)
- Thammasiri, K. 2004. Orchid Production Technology. Amarin Printing & Publishing, Bangkok. 283 p. (in Thai)

ประสิทธิภาพการใช้และการส่งถ่ายไนโตรเจนที่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์หอมนิล

Nitrogen Use Efficiency and Partitioning in Relation to Growth and Yield of Rice cv. Khao Dawk Mali 105 and cv. Homnil

ธีรวุฒิ จันท์เนย¹ สายบัว เข้มเพชร² อรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง^{1*} ยุพา จอมแก้ว¹
และ ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา³

Teerawut Channoel¹, Saibua Khempet², Arawan Shutsrirung^{1*}, Yupa Chromkaew¹
and Sakda Jongkaewwattana³

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

²คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50300

²Faculty of Agricultural Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50300, Thailand

³ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

³Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: arawan.s@cmu.ac.th

(Received: 8 March 2019; Accepted: 3 May 2019)

Abstract: Study of nitrogen use efficiency and partitioning in relationship to growth and yield of rice was performed using split plot design in which main plot was rice variety e.g. cv. Khao Dawk Mali 105 and cv. Homnil and sub plot was nitrogen application rates e.g. 0, 15 and 30 kgN/rai. The results showed that, when 15 kgN/rai was applied, the dry matter return of Khao Dawk Mali 105 was almost twice higher than that of Homnil (30.62 and 16.11 kgDM/kgN, respectively). However, at the rate of 30 kgN/rai, the dry matter return of the two rice varieties showed no significant difference. The agronomic efficiency of Homnil was slightly higher than that of Khao Dawk Mali 105 with the average values of 5.85 and 7.11 kg yield/kgN, respectively. The results of nitrogen partitioning (N dynamic) revealed that the nitrogen concentration in root, shoot and leaves of both Khao Dawk Mali 105 and Homnil showed a tendency to increase from tillering until dough stage. The nitrogen content in panicle was higher than those of leaves, stem and root with the maximum average values of 10.4, 7.3, 5.4 and 4.8 mgN/g DM, respectively. The higher rate of nitrogen application rate had no significant effect in promoting nitrogen content in the rice tissue. However, the dry matter of root, shoot, leaves and panicle was increased with the rate of nitrogen application indicating that the nitrogen concentration in rice tissues had no relationship with the rice yield. There was no significant difference in grain yield among Khao Dawk Mali 105 and Homnil. Average greatest grain yield was found at 30 kgN/rai with the value of 420.5 kg/rai.

Keywords: Khao Dawk Mali 105, Homnil, nitrogen use efficiency, nitrogen partitioning

บทคัดย่อ: การศึกษาประสิทธิภาพการใช้และการส่งถ่ายไนโตรเจนที่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและสารให้ผลผลิตของข้าว ได้ทำโดยวางแผนการทดลองแบบ spit plot จำนวน 3 ซ้ำ กำหนดให้ main plot เป็นพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์หอมนิล และ sub plot เป็นอัตราของไนโตรเจน 3 ระดับ ได้แก่ 0, 15 และ 30 กก./ไร่ ไนโตรเจน/ไร่ ผลการศึกษา พบว่า เมื่อใส่ปุ๋ย 15 กก./ไร่ ไนโตรเจน/ไร่ ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างเป็นน้ำหนักแห้งต้น (dry matter return) ของข้าวขาวดอกมะลิ 105 สูงกว่า ข้าวหอมนิลเกือบสองเท่า (30.62 และ 16.11 กก./น้ำหนักแห้ง/กก./ไนโตรเจน ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม ที่อัตราปุ๋ยไนโตรเจน 30 กก./ไร่ ไนโตรเจน/ไร่ dry matter return ของข้าวสองพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างเป็นผลผลิต (agronomic efficiency) พบว่า ข้าวหอมนิลมีแนวโน้มสูงกว่า ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เล็กน้อย โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.85 และ 7.11 กก./ผลผลิต/กก./ไนโตรเจน ตามลำดับ ผลการศึกษาการส่งถ่ายของไนโตรเจน (พลวัตไนโตรเจน) พบว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในราก ต้น และใบของข้าวทั้งพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และหอมนิลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากระยะแตกกอถึงระยะแบ่งอ่น โดยที่รวงมีความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงกว่าใบ ต้น และราก โดยมีค่าสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 10.4, 7.3, 5.4 และ 4.8 มก./ไนโตรเจน/กก. น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใส่อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่สูงขึ้นไม่ทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในเนื้อเยื่อข้าวส่วนต่าง ๆ เพิ่มขึ้น แต่ส่งผลให้ข้าวมีน้ำหนักแห้งของราก ต้น ใบ และรวงที่มากขึ้น แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในเนื้อเยื่อของข้าวไม่มีความสัมพันธ์กับผลผลิตของข้าว ในส่วนของผลผลิตพบว่าข้าวทั้งสองพันธุ์ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนในทิศทางเดียวกัน โดยการให้ปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 30 กก./ไร่ ไนโตรเจน/ไร่ ข้าวให้ผลผลิตมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 420.5 กก./ไร่

คำสำคัญ: ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ข้าวหอมนิล ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน การส่งถ่ายไนโตรเจน

คำนำ

ปัจจุบันประชากรที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักมีโอกาสนในการเข้าถึงและเลือกบริโภคข้าวที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน ทั้งทางด้านรสชาติ เนื้อสัมผัส และคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งคุณสมบัติที่ต่างกัดังกล่าวพบในพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกัน ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิลจัดว่าเป็นพันธุ์ข้าวที่ได้รับความนิยมของผู้บริโภคเป็นลำดับต้น ๆ (Kemthong *et al.*, 2014; Thanananta *et al.*, 2012) เพราะข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่อหุงแล้วมีกลิ่นหอม นุ่มอร่อย แม้ถูกปล่อยให้เย็น ส่วนข้าวหอมนิลเป็นข้าวที่มีโปรตีนสูง เมล็ดมีสีม่วงดำที่ประกอบด้วย cyanidin, peonidin และ procyanidin ผสมกัน ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เป็นสารในกลุ่ม flavonoid ที่เรียกว่า แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยทั่วไปข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ผลผลิตอยู่ในช่วง 278-390 กก./ไร่ (Punyakaew, 1999) ส่วนข้าวหอมนิลให้ผลผลิตอยู่ในช่วง 400-700 กก./ไร่ (Rice Department,

ผลผลิตที่ได้นอกจากจะขึ้นอยู่กับการบริหารจัดการน้ำและศัตรูพืชแล้ว ยังขึ้นอยู่กับจัดการธาตุอาหาร โดยเฉพาะไนโตรเจน ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าว เป็นส่วนประกอบของโปรตีน เอนไซม์ โคเอนไซม์ และคลอโรฟิลล์ (Slocum, 1991) ข้าวจะใช้กระบวนการสังเคราะห์แสงที่อาศัยคลอโรฟิลล์ในการดูดซับแสงเพื่อที่จะใช้พลังงานแสงในการที่จะเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศและน้ำให้เป็นน้ำตาลที่เรียกกันทั่วไปว่าสารสังเคราะห์ (photosynthate) ก่อนที่จะถูกเปลี่ยนเป็นแป้งสะสมไว้ในส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าว ได้แก่ ราก ต้น ใบ และเมล็ด ทั้งนี้การเจริญเติบโตของข้าวจะเป็นไปตามศักยภาพของพืช หรือมีการเจริญเติบโตที่ไม่สมบูรณ์ ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ซึ่งปริมาณของคลอโรฟิลล์ที่อยู่ในส่วนของแหล่งผลิต (source) ที่หมายถึงส่วนของต้นข้าวที่มีคลอโรฟิลล์เป็นองค์ประกอบ เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่ง ดังนั้น ไนโตรเจนซึ่งเป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของข้าวโดยตรง

ข้าวเป็นพืชที่แบ่งระยะการเจริญเติบโตออกเป็นสองช่วงหลักได้แก่การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative growth) เริ่มเมื่อเมล็ดข้าวเกิดการงอก จนกระทั่งข้าวเข้าสู่ระยะการกำเนิดช่อดอก (panicle initiation) และระยะการเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์ (reproductive growth) เริ่มเมื่อข้าวเข้าสู่ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะการส่งถ่ายสารสังเคราะห์ไปยังเมล็ด หรือการสะสมน้ำหนักรวมเมล็ด จนถึงช่วงการสุกแก่ (ripening period) (Yoshida, 1981) ที่ระยะการเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์นี้การเจริญเติบโตทางต้นและใบของข้าวจะสิ้นสุดลง (Sampet, 1999) ดังนั้นการส่งถ่ายสารสังเคราะห์ในช่วงการเจริญเติบโตทางต้นและใบจึงเป็นดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโตที่บ่งถึงความสมบูรณ์ของการสะสมน้ำหนักรวมต้นและใบ (Sampet, 1999) ซึ่งการให้ปุ๋ยไนโตรเจนในระยะการเจริญเติบโตดังกล่าวนี้จะส่งเสริมให้ข้าวสร้างคลอโรฟิลล์ในส่วนของแหล่งผลิต ทำให้มีการสังเคราะห์ และสร้างสารสังเคราะห์สะสมไว้ในต้นและใบเป็นหลัก และ Sampet (1999) กล่าวว่า เมื่อข้าวเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์ สารสังเคราะห์ที่ถูกสร้างขึ้นจะถูกส่งไปยังเมล็ด

ด้วยเหตุผลที่ข้าวใช้ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในการสร้างคลอโรฟิลล์ ที่มีส่วนในการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างสารสังเคราะห์แล้วถูกส่งถ่ายไปยังส่วนต่างๆ ของต้นข้าวเพื่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิต ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนที่กระจายอยู่ในส่วนต่างๆ ของต้นข้าวที่ถือว่าเป็นแหล่งผลิตในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตของข้าวจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถบ่งบอกถึงศักยภาพของการเจริญเติบโตในด้านของการสะสมน้ำหนักรวมต้นและใบ และการสะสมน้ำหนักรวมเมล็ด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของข้าวว่าอยู่ในระยะการเจริญเติบโตทางต้นและใบหรือในระยะการเจริญเติบโตในระยะสืบพันธุ์ (Guindo *et al.*, 1992) ดังนั้นการที่ข้าวได้รับปุ๋ยไนโตรเจนไม่ว่าจะเป็นอัตรา หรือที่ระยะเวลาต่างกันระหว่างช่วงการเจริญเติบโต จะส่งผลต่อการสะสม ใช้ และส่งถ่ายไนโตรเจนไปยังส่วนต่างๆ ของต้นข้าว ซึ่งสามารถที่จะบ่งชี้ถึงการให้ผลผลิตของข้าวได้ การเข้าใจถึงพลวัตรวมถึงประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าว การส่งถ่าย และสะสมน้ำหนักรวมของแต่ละส่วนของต้นข้าวในแต่ละระยะ

การเจริญเติบโตจะสามารถช่วยให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวได้ การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพการใช้และการส่งถ่ายไนโตรเจน ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าว ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมในการปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 และหอมนิล โดยการทดลองครั้งนี้ มีกรรมวิธีการใช้อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ 15 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของข้าว (Nongsin, 1999) กรรมวิธีไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และ ใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 30 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ เพื่อเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษานี้ดำเนินการทดลองที่คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือนกรกฎาคม - เดือนธันวาคม พ.ศ. 2557 วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 3 ซ้ำ โดยกำหนดให้ main plot เป็นพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์หอมนิล และ sub plot เป็นอัตราของไนโตรเจน 3 อัตรา ได้แก่ 0, 15 และ 30 กก./ไร่ ไนโตรเจน/ไร่ โดยใช้ไนโตรเจนในรูปของยูเรีย ทำการแบ่งใส่ 2 ครั้ง ครั้งแรกในระยะแตกกอ และครั้งที่ 2 ที่ระยะกำเนิดช่อดอก ในสัดส่วน 60:40 ทำการปลูกข้าวในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว ดินปริมาณ 5.5 กิโลกรัมต่อกระถาง จำนวนซ้ำละ 30 กระถางต่อพันธุ์ โดยดูแลจัดการน้ำ ควบคุมวัชพืช และป้องกันการเข้าทำลายจากโรคและแมลงตามความเหมาะสมตลอดการดำเนินงานทดลอง ก่อนทำการทดลองได้นำดินไปทำการวิเคราะห์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ พบว่ามีค่า 35.2 และ 86.0 mg/kg ตามลำดับ จึงไม่มีการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในดินที่ใช้ทดลองเพิ่มเติม

การเก็บและบันทึกข้อมูลประกอบด้วย การบันทึกวันที่ข้าวเข้าสู่ระยะพัฒนาการต่าง ๆ ได้แก่ ระยะกล้า ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะแทงรวง ระยะนํ้านม ระยะแบ่งอวน และระยะสุกแก่ โดยสังเกตจาก 80% ของข้าวในกระถางทดลองที่เข้าสู่ระยะพัฒนาการนั้นๆ และสุ่มเก็บตัวอย่างข้าว ตามระยะพัฒนาการดังกล่าว

และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 3 ส่วน (ราก ลำต้น และ ใบ) และเริ่มเก็บตัวอย่างรวงเมื่อข้าวเข้าสู่ระยะแทงรวง จากนั้นนำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อนำหนักแห้งมวลชีวภาพ นำตัวอย่างที่ได้จากการวัดเพื่อหา น้ำหนักแห้งมวลชีวภาพจากทุกระยะการเจริญเติบโต มาบดละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว เพื่อทำการวิเคราะห์หา ปริมาณไนโตรเจน ด้วยวิธี micro Kjeldahl (McKenzie and Wallace, 1954) แล้ววิเคราะห์พลวัตของไนโตรเจน และการสะสมน้ำหนักแห้งของข้าว โดยใช้สมการ 3rd order polynomial (Pundonfai, 2013)

$$Y = a + bx + cx^2 + dx^3$$

โดย: Y หมายถึง ค่าน้ำหนักแห้ง

a, b, c และ d หมายถึง ค่าสัมประสิทธิ์

x หมายถึง จำนวนวันหลังปลูก

เมื่อข้าวเข้าสู่ระยะสุกแก่ทำการวัดความสูง เก็บ ข้อมูลผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนต้น ต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง และ น้ำหนักเมล็ดดี 100 เมล็ด

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ (dry matter return) ทำการวิเคราะห์ โดยใช้ตามสมการของ (Nongsin, 1999)

$$\text{DM return} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของข้าวที่ได้รับปุ๋ยไนโตรเจน} - \text{น้ำหนักแห้งของข้าวที่ไม่ได้รับ ปุ๋ยไนโตรเจน}}{\text{ระดับไนโตรเจนที่ใส่}}$$

ส่วนการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างผลผลิต (agronomic efficiency) ทำการวิเคราะห์ตามสมการของ Cassman *et al.* (1996)

$$\text{Agronomic efficiency} = \frac{\text{ผลผลิตของข้าวที่ได้รับปุ๋ยไนโตรเจน} - \text{ผลผลิตของข้าวที่ไม่ได้รับปุ๋ยไนโตรเจน}}{\text{ระดับไนโตรเจนที่ใส่}}$$

วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธี โดยหาค่า LSD (least significant difference)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพ พบว่า ประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์และอัตราปุ๋ย (Table 1) อย่างไรก็ตามพบว่า ประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพของข้าวหอมมะลิมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากการเพิ่มไนโตรเจนจาก 0-15 และ 0-30 กก.ไนโตรเจน/ไร่ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.12 และ 27.13 กก.น้ำหนักแห้ง/กก.ไนโตรเจน (Figure 1) แสดงให้เห็นว่าข้าวหอมมะลิมีการเจริญเติบโตทางต้นและใบเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นผลมาจากการแตกกอที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับปุ๋ยไนโตรเจนที่มากขึ้น (ไม่ได้แสดงผล) สอดคล้องกับ Osotsapar *et al.* (2008) ที่รายงานว่าการเพิ่มอัตราปุ๋ยไนโตรเจน จะเพิ่มการเจริญเติบโตและการแตกกอของข้าวมากขึ้น ส่วนข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบว่าประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างน้ำหนักมวลชีวภาพจากการเพิ่มไนโตรเจนจาก 0-15 และ 0-30 กก.ไนโตรเจน/ไร่ มีค่าใกล้เคียงกันเฉลี่ยเท่ากับ 30.62 และ 30.55 กก.น้ำหนักแห้ง/กก.ไนโตรเจน (Figure 1) สอดคล้องกับ Nongsin (1999) ที่พบว่าประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างน้ำหนักมวลชีวภาพของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อัตราปุ๋ยจาก 0-7.2 และ 0-21.6 กก.ไนโตรเจน/ไร่ เฉลี่ยเท่ากับ 29.6 กก.น้ำหนักแห้ง/กก.ไนโตรเจน

สำหรับประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างผลผลิต พบว่าประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างผลผลิตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์ และอัตราปุ๋ย (Table 1) มีแนวโน้มของประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างผลผลิตของข้าวทั้งสองพันธุ์ลดลงจากการเพิ่มไนโตรเจนจาก 0-15 และ 0-30 กก.ไนโตรเจน/ไร่ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.5 กก.

Table 1. Dry matter return and agronomic efficiency of Khao Dawk Mali 105 and Homnil

Nitrogen (kg/rai)	Dry matter return (kgDM/kgN)			Agronomic efficiency (kgYield/kgN)		
	KDML 105	Homnil	Mean	KDML 105	Homnil	Mean
0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
15	30.62	16.11	23.37	6.45	7.58	7.02
30	30.55	27.13	28.84	5.25	6.64	5.95
Mean	30.58	21.62	26.11	5.85	7.11	6.48
F-test (V)	ns			ns		
F-test (N)	ns			ns		
F-test VxN	ns			ns		
CV (V)	23.58			26.6		
CV (N),(VxN)	17.28			17.46		

ns = not significance, N/A = not applicable

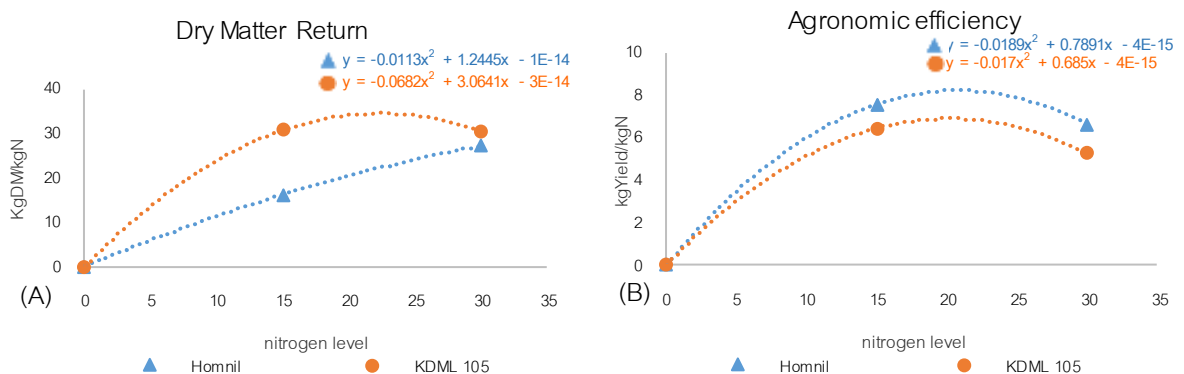


Figure 1. Dry matter return (A) and agronomic efficiency (B) of Khao Dawk Mali 105 and Homnil

ผลผลิต/กก.ไนโตรเจน (Figure 1) แสดงให้เห็นว่าข้าวมีความสามารถในการใช้ไนโตรเจนในการสร้างผลผลิตต่ำลงเมื่อเพิ่มไนโตรเจนที่มากกว่า 15 กก.ไนโตรเจน/ไร่ ทั้งนี้เป็นไปได้เพราะข้าวชาวดอกมะลิ 105 โดยทั่วไปแล้วมีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนต่อการสร้างผลผลิตไม่สูงมาก แต่การเพิ่มอัตราปุ๋ยไนโตรเจนจะส่งเสริมการเจริญเติบโตทางต้น และใบมากกว่า ส่วนข้าวพันธุ์หอมนิลนั้น มีลักษณะการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนคล้ายกับข้าวพันธุ์ชาวดอกมะลิ 105 ซึ่งผลดังกล่าวสามารถแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างผลผลิตขึ้นอยู่กับลักษณะประจำพันธุ์ (Tirol-Padre *et al.*, 1996) กล่าวคือ การใส่ปุ๋ยมากกว่า 15 กก.ไนโตรเจน/ไร่

ส่งเสริมให้การเจริญเติบโตทางต้น และใบที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่ทำให้น้ำหนักรวงที่ระยะสุกแก่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Osotsapar *et al.* (2008) ที่เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตของข้าว 5 พันธุ์ พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 14-29 กก.ผลผลิต/กก.ไนโตรเจน อย่างไรก็ตามการเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจนมากกว่าอัตราที่พืชให้ผลผลิตสูงสุด ไม่ทำให้ประสิทธิภาพการผลิตเพิ่มขึ้นอีก (Chinda *et al.*, 1999)

จากการศึกษาเปรียบเทียบพลวัตของไนโตรเจนในส่วนต่าง ๆ ของข้าวที่ได้รับไนโตรเจน พบว่าน้ำหนักแห้งในส่วนของราก ต้น และใบ ของข้าวพันธุ์ชาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์หอมนิลมีแนวโน้มการสะสมไนโตรเจนเพิ่ม

มากขึ้นตามระยะพัฒนาการ จากระยะแตกกอถึงระยะ
แบ่ง (Figure 2, 3) และยังมีแนวโน้มการสะสมไนโตรเจน
เพิ่มมากขึ้นตามอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ใส่ (Figure 4)

ซึ่ง Mae (1986) และ Guindo *et al.* (1994) รายงานว่า
ไนโตรเจนจะถูกส่งถ่ายไปที่ส่วนของพืชที่กำลังพัฒนา โดย
ก่อนที่ข้าวเข้าสู่ระยะแทงรวงจะเป็นระยะที่ใบของข้าวจะ

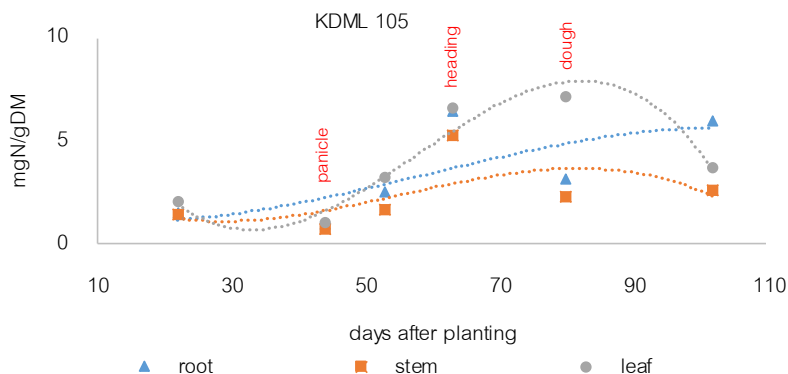


Figure 2. Dynamic of nitrogen concentration in plant tissue of Khao Dawk Mali 105

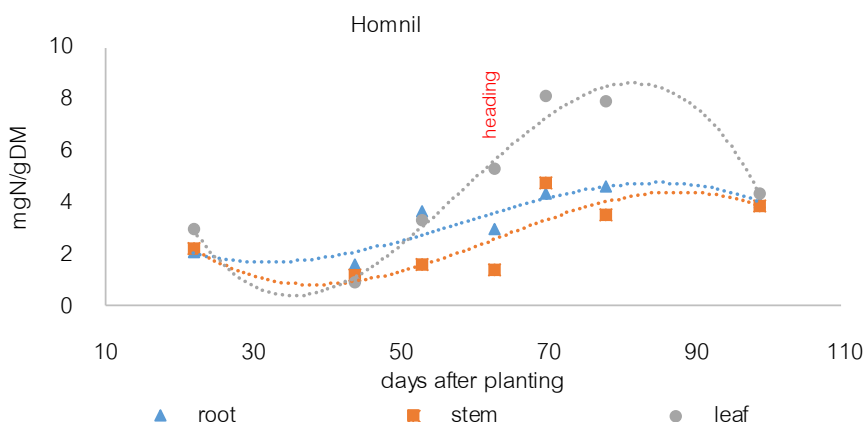


Figure 3. Dynamic of nitrogen concentration in plant tissue of Homnil

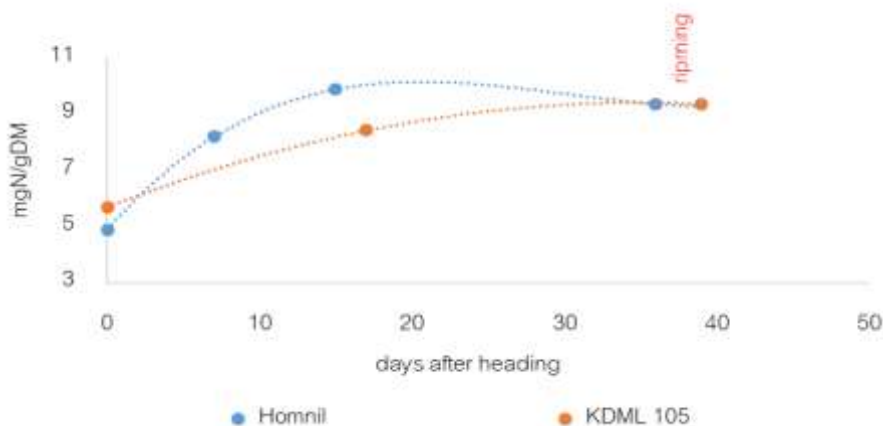


Figure 4. Dynamic of nitrogen content in panicle of Khao Dawk Mali 105 and Homnil

ได้รับธาตุไนโตรเจนมากที่สุด แต่ใบข้าวที่เริ่มเสื่อมสภาพ (senescence) จะได้รับไนโตรเจนโดยการส่งถ่ายไปให้ในปริมาณที่จำกัด ผลการศึกษาครั้งนี้ยังพบอีกว่าไนโตรเจนจะสะสมสูงสุดในส่วนของรวงมากกว่าใบ รากและต้น ของข้าวทั้งสองพันธุ์มีค่าสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 10.4, 7.3, 5.4 และ 4.8 มก./ก. ตามลำดับ (Table 2) คิดเป็นร้อยละ 37.27, 26.16, 19.35 และ 17.20 ตามลำดับ สอดคล้องกับ Wang *et al.* (2018) ที่พบว่าการสะสมไนโตรเจนในรวงจะมากกว่าใบ ราก และต้น Muhammad *et al.* (1974) อธิบายว่าระหว่างการสะสมแป้งในเมล็ดที่ระยะพัฒนาการของรวง Mae and Shoji (1984) พบว่าไนโตรเจนที่สะสมในรวงได้มาจาก 2 แหล่ง ได้แก่ ไนโตรเจนที่ดูดซึมจากดินระหว่างช่วงการเจริญเติบโตจากระยะกล้าถึงระยะสะสมแป้งของต้นและใบ และจากการเคลื่อนย้าย (remobilized) โดยสัดส่วนของไนโตรเจนในรวงที่ได้จากการดูดซึมไนโตรเจนจากดินของข้าวอยู่ในช่วง 10-30% และได้มาจากการเคลื่อนย้าย 70-90% ของไนโตรเจนในรวง ซึ่ง Mae and Ohira (1981) พบว่า 60% ของไนโตรเจนที่เคลื่อนย้ายมาจากตัวใบ กาบใบ และต้น

ส่วนรากนั้นมีการเคลื่อนย้ายของไนโตรเจนน้อยมาก ดังนั้นเมื่อไนโตรเจนถูกแบ่งถ่ายไปยังรวงจึงทำให้ไนโตรเจนในต้นและใบลดลงในขณะที่ไนโตรเจนในรวงเพิ่มขึ้น ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าที่ระยะสะสมแป้งของรวงใบจึงมีบทบาทหลักทั้งการสังเคราะห์แสง และการเคลื่อนย้ายไนโตรเจนไปสู่ส่วนที่กำลังเจริญเติบโต (Mae, 1986)

สำหรับผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลผลิต (Table 3) พบว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิลให้ผลผลิตที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนในทิศทางเดียวกัน โดยการให้ปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 30 กก. ไนโตรเจน/ไร่ ข้าวให้ผลผลิตมากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 420.5 กก./ไร่ อย่างไรก็ตามข้าวหอมนิลมีจำนวนต้นต่อกอ และจำนวนรวงต่อกอมากกว่าข้าวดอกมะลิ 105 ในขณะที่ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีจำนวนเมล็ดต่อรวงและน้ำหนักเมล็ดดี 100 เมล็ดมากกว่า ซึ่งการชดเชยกันขององค์ประกอบผลผลิตมีส่วนทำให้ผลผลิตของข้าวทั้งสองพันธุ์ไม่ต่างกัน ทั้งนี้องค์ประกอบผลผลิตจะสามารถชดเชยซึ่งกันและกันได้ (Yoshida, 1981)

Table 2. Nitrogen concentration of Khao Dawk Mali 105 and Homnil under different nitrogen application levels

Nitrogen (kgN/rai)	Root (mg/g)			Stem (mg/g)			Leaf (mg/g)			Panicle (mg/g)		
	KDML 105	Homnil	Mean	KDML 105	Homnil	Mean	KDML 105	Homnil	Mean	KDML 105	Homnil	Mean
0	5.45	6.37	5.91	2.60	5.19	3.90	6.41	8.21	7.31	9.53	11.35	10.44
15	5.43	5.10	5.46	3.09	9.60	6.35	5.62	10.44	8.03	8.81	11.71	10.26
30	4.18	6.11	5.14	4.58	3.71	4.15	5.71	7.43	6.57	9.61	11.37	10.49
Mean	5.02	5.86	5.44	3.42	6.17	4.80	5.91 ^B	8.69 ^A	7.30	9.32	11.47	10.40
F-test (V)	ns			ns			*			ns		
F-test (N)	ns			ns			ns			ns		
F-test (VxN)	ns			ns			ns			ns		
CV (V)	42.47			44.42			10.8			15.05		
CV (N), (VxN)	15.2			47.67			37.05			10.72		

* = Significant difference at $P < 0.05$, ns = not significance

Table 3. Yield and yield components of Khao Dawk Mali 105 and Homnil

Nitrogen (kgN/rai)	Tiller/Hill (No.)			Panicle/Hill (No.)			Fertile/Panicle (No.)			100 Grain Weight (g)			Yield (kg/rai)		
	KDML 105	Homnil	Mean	<DML 105	Homnil	Mean	KDML 105	Homnil	Mean	KDML 105	Homnil	Mean	KDML 105	Homnil	Mean
0	4.67d	5.67d	5.17	4.67e	5.00de	4.83	98.00ab	106.33a	102.17	2.06	1.70	1.88b	234.91	242.66	238.79c
15	5.67d	10.67b	8.17	5.67d	10.00b	7.83	100.33ab	78.33c	89.33	2.23	1.77	2.00a	321.77	339.69	330.73b
30	7.67c	14.67a	11.17	7.67c	13.33a	10.50	85.33bc	73.00c	79.17	2.35	1.77	2.06a	405.80	435.19	420.50a
Mean	6.00	10.33	8.17	6.00	9.44	7.72	94.56	85.89	90.22	2.21A	1.75B	1.98	320.83	339.18	330.01
F-test (V)	**			**			ns			**			ns		
F-test (N)	**			**			**			*			**		
F-test (VxN)	**			**			*			ns			ns		
CV (V)	10			6.1			23.57			0.1			15.09		
CV (N), (VxN)	7.07			6.1			8.67			3.18			7.03		

* = Significant difference at $P<0.05$, ** = Significant difference at $P<0.01$, ns = not significance

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างน้ำหนักมวลชีวภาพ และประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างผลผลิตของข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิล ซึ่งพบว่า ประสิทธิภาพของปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างน้ำหนักมวลชีวภาพของข้าวทั้งสองพันธุ์มีความแตกต่างกัน แต่ที่อัตราไนโตรเจน 15 กก.ไนโตรเจน/ไร่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีความสามารถในการให้น้ำหนักแห้งชีวมวลมากกว่าข้าวหอมนิล 95% และที่อัตราไนโตรเจน 30 กก.ไนโตรเจน/ไร่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิลมีความสามารถในการให้น้ำหนักแห้งชีวมวลใกล้เคียงกันเฉลี่ยเท่ากับ 28.84 กก.น้ำหนักแห้ง/กก.ไนโตรเจน ส่วนประสิทธิภาพของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างผลผลิตของข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิล พบว่า ข้าวทั้งสองพันธุ์มีการตอบสนองต่ออัตราปุ๋ยไนโตรเจนทั้งสองอัตราที่ใส่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.48 กก.ผลผลิต/กก.ไนโตรเจน ส่วนการส่งถ่ายไนโตรเจนของข้าวทั้งสองพันธุ์ พบว่า ในส่วนของราก ต้น และใบ มีการสะสมไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้นตามระยะพัฒนาการ และพบมากที่สุดในระยะแบ่งอวน ในขณะที่ รวง มีการสะสมไนโตรเจนเพิ่มมากที่สุดที่ระยะสุกแก่

เอกสารอ้างอิง

- Cassman, K.G., G.C. Gines, M.A. Dizon, M.I. Samson and J.M. Alcantara. 1996. Nitrogen-use efficiency in tropical lowland rice systems: Contributions from indigenous and applied nitrogen. *Field Crops Research* 47(1): 1-12.
- Chinda, M., S. Luangsirorat and S. Rurkivree. 1999. Influence of chemical and organic fertilizers on soil properties and yield of rice grown on Nakhon Prathom soil. *Soil Science Division, Department of Agriculture, Bangkok.* (in Thai)
- Guindo, D., B.R. Wells and R.J. Norman. 1994. Cultivar and nitrogen rate influence on nitrogen uptake and partitioning in rice. *Soil Science Society of America Journal* 58(3): 840-845.
- Guindo, D., B.R. Wells, C.E. Wilson and R.J. Norman. 1992. Seasonal accumulation and partitioning of nitrogen-15 in rice. *Soil Science Society of America Journal* 56(5): 1521-1527.

- Khemthong, P., T. Mekhora and S. Kuhaswonvetch. 2014. Feasibility study of black jasmine rice (Hom Nil) production in Nongchok district, Bangkok. King Mongkut's Agricultural Journal 32(3): 27-35. (in Thai)
- Mae, T. 1986. Partition and utilization of nitrogen in rice plants. Japan Agricultural Research Quarterly 20(2): 115-120.
- Mae, T. and K. Ohira. 1981. The remobilization of nitrogen related to leaf growth and senescence in rice plants (*Oryza sativa* L.). Plant and Cell Physiology 22(6): 1067-1074.
- Mae, T. and S. Shoji. 1984. Studies on the fate of fertilizer nitrogen in rice plants and paddy soils by using ¹⁵N as a tracer in northeastern Japan. pp. 77-94. In: Soil Science and Plant Nutrition in Northeastern Japan (Special issue). Japan Society of Soil Science and Plant Nutrition, Sendai.
- McKenzie, H.A. and H.S. Wallace. 1954. The Kjeldahl determination of nitrogen: a critica study of digestion conditions-temperature, catalyst, and oxidizing agent. Australian Journal of Chemistry 7(1): 55-70.
- Muhammad, S., U.J. Kim and K. Kumazawa. 1974. The uptake, distribution, and accumulation of ¹⁵N-labelled ammonium and nitrate nitrogen top-dressed at different growth stages of rice. Soil Science and Plant Nutrition 20(3): 279-286.
- Nongsin, A. 1999. Accumulation and partitioning of nitrogen in rice as influenced by nitrogen application rates. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 105 p. (in Thai)
- Osotsapar, Y., A. Wongmaneeoj and C. Hongprayoon. 2008. Fertilizer for Sustainable Agriculture. Kasetsart University Press, Bangkok. 519 p. (in Thai)
- Pundonfai, N. 2013. Nitrogen partitioning and its relationship to chlorophyll level in leaves of rice cv. Khao Dawk Mali 105. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 94 p. (in Thai)
- Punyakaew, T. 1999. Response of rice cv. KDML 105 to nitrogen fertilizer under minimum tillage. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 43 p. (in Thai)
- Rice Department. 2017. Homnil rice. (Online). Available: <https://www.thaiceddb.com/rice-detail.php?id=16> (December 12, 2018). (in Thai)
- Sampet, C. 1999. Crop Physiology. Chiang Mai University, Chiang Mai. 284 p. (in Thai)
- Slocum, R.D. 1991. Polyamine biosynthesis in plants. pp. 23-40. In: R.D. Slocum and H.E. Flores (eds.). Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants. CRC Press, London.
- Thanananta, N, V. Prasit and T. Thanananta. 2012. Identification of rice cultivars KDML 105 and its improved cultivars by using HAT-RAPD technique. Thai Journal of Science and Technology 1(3): 169-179. (in Thai)
- Tirol-Padre, A., J.K. Ladha, U. Singh, E. Laureles, G. Punzalan and S. Akita. 1996. Grain yield performance of rice genotypes at suboptimal levels of soil N as affected by N uptake and utilization efficiency. Field Crops Research 46(1-3): 127-143.
- Wang, D., C. Xu, C. Ye, S. Chen, G. Chu and X. Zhang. 2018. Low recovery efficiency of basal fertilizer-N in plants does not indicate high basal fertilizer-N loss from split-applied N in transplanted rice. Field Crops Research 229: 8-16.
- Yoshida, S. 1981. Fundamentals of Rice Crop Science. International Rice Research Institute, Los Baños. 260 p.

จลนศาสตร์การปลดปล่อยโพแทสเซียมของดินที่ลุ่มบริเวณที่ราบภาคกลาง ของประเทศไทย

Kinetics of Potassium Release of Lowland Soils in Central Plain of Thailand

ทิมทอง ดรุณสนธยา^{1*} พัสกร ทะसानนท์² วิทยา จินดาลวง¹ และ กรุณา พุ่มทรง¹
Timtong Darunsontaya^{1*}, Patsakorn Thasanon², Wittaya Jindaluang¹ and Karuna Poomsong¹

¹ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

¹Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

²กองนโยบายและแผนการใช้ที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ 10900

²Policy and Land Use Planning Division, Land Development Department, Bangkok 10900, Thailand

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

(Received: 29 April 2019; Accepted: 4 September 2019)

Abstract: The study on kinetics of potassium (K) release in lowland soils, Central Plain of Thailand was carried out by selecting representative soils with different soil development from 10 areas. The studied soils included Sapphaya (Sa1, Sa2), Ratchaburi (Rb), Bang Phae (Bph1, Bph2), Bang Len (Bl1, Bl2), Nakhon Pathom (Np1, Np2) and Pak Tho (Pth) soil series. The soil samples were collected at Ap horizon and under Ap horizon to 60 cm depths. The kinetics of K release was studied by extract soils with Mehlich 1 and K content was determined at various times from 1 to 168 hours. The data then were fitted by various equations to describe the release of K from soils. The result showed that Np1 soil series had the highest K release (816 mg kg⁻¹) while Pth soil series had the lowest K release (240 mg kg⁻¹). Kinetics of K release for Bl1, Bl2, Bph1, Bph2, Np1 and Pth were fitted-well by parabolic diffusion and power function equations. These results suggested that kinetic of K release in these soils involved with diffusion process and the rate of K release decreased with increasing time. Kinetics of K release for Sa1, Sa2, Rb and Np2 were fitted-well by zero order equation, suggesting different rate of K release in these soils. At the initial stage of release, K may slowly release from the external sites of clay minerals whereas the rapid K release may occur from interlayer sites of clay minerals afterwards.

Keywords: Non-exchangeable K, K availability, paddy soils, illite

บทคัดย่อ: ทำการศึกษาลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมของดินที่ลุ่มบริเวณที่ราบภาคกลางที่มีพัฒนาการแตกต่างกัน จำนวน 10 บริเวณ ได้แก่ ชุดดินสรรพยา (Sa1, Sa2) ชุดดินราชบุรี (Rb) ชุดดินบางเลน (BI1, BI2,) ชุดดินบางแพ (Bph1, Bph2) ชุดดินนครปฐม (Np1, Np2) และชุดดินปากท่อ (Pth) ศึกษาการปลดปล่อยโพแทสเซียมจากดินโดยการสกัดดินด้วยน้ำยาสกัด Mehlich 1 และวัดปริมาณโพแทสเซียมในสารละลายที่ระยะเวลาต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 ถึง 168 ชั่วโมง จากนั้นนำข้อมูลปริมาณโพแทสเซียมสะสมมาอธิบายจนศาสตร์การปลดปล่อยด้วยสมการการปลดปล่อยแบบต่าง ๆ ผลการศึกษาพบว่า ในช่วงระยะเวลา 168 ชั่วโมง ชุดดิน Np1 มีการปลดปล่อยโพแทสเซียมสูงที่สุด (861 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และชุดดิน Pth มีการปลดปล่อยโพแทสเซียมน้อยที่สุด (240 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) โดยลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมในชุดดิน BI1, BI2, Bph1, Bph2, Np1 และ Pth สามารถอธิบายได้ดีโดยสมการ parabolic diffusion และ power function แสดงให้เห็นว่าดินกลุ่มนี้มีการปลดปล่อยโพแทสเซียมโดยกระบวนการการแพร่และมีอัตราเร็วในการปลดปล่อยลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น ส่วนลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมของชุดดิน Sa1, Sa2, Rb และ Np2 สามารถอธิบายได้ดีด้วยสมการ zero order ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ดินกลุ่มนี้มีการปลดปล่อยโพแทสเซียมด้วยอัตราเร็วที่ต่างกันอย่างมาก 2 ช่วง โดยการปลดปล่อยโพแทสเซียมในช่วงแรกซึ่งเกิดอย่างช้า ๆ เกิดจากการปลดปล่อยโพแทสเซียมออกมาจากพื้นที่ผิวดูดซับภายนอก (external sites) และการปลดปล่อยช่วงที่สองซึ่งมีอัตราเร็วเพิ่มขึ้น เกิดจากการปลดปล่อยโพแทสเซียมออกมาจากพื้นที่ผิวดูดซับภายใน (interlayer sites)

คำสำคัญ: โพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ ความเป็นประโยชน์ของโพแทสเซียม ดินนา แร่ซิลิเกต

คำนำ

ปัจจุบันการวิเคราะห์ระดับของโพแทสเซียมในดินเพื่อประเมินความอุดมสมบูรณ์ ส่วนใหญ่จะวิเคราะห์เพียงปริมาณ โพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) ซึ่งเป็นรูปที่เป็นประโยชน์ทันที ที่ถูกดูดซับอยู่บนพื้นผิวภายนอก (external site) ของแร่ดินเหนียว อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่า โพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ (non-exchangeable K) ในดิน ซึ่งส่วนใหญ่ถูกตรึงไว้ในหลืบของแร่ดินเหนียว (interlayer site) นั้นมีสหสัมพันธ์กับปริมาณโพแทสเซียมที่สะสมในเนื้อเยื่อพืช แสดงให้เห็นว่าโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้อาจมีบทบาทต่อการดูดใช้โพแทสเซียมของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินที่มีพัฒนาการน้อย และดินที่มีองค์ประกอบของแร่ที่สามารถปลดปล่อยโพแทสเซียมสู่สารละลายดินได้ (Cox *et al.*, 1999) ดังนั้น การประเมินเพียงปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนได้เพียงอย่างเดียว อาจไม่สามารถประเมินความเป็นประโยชน์ของโพแทสเซียมในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากพืชอาจดูดใช้โพแทสเซียมจากรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ด้วยเช่นกัน การประเมินปริมาณและอัตราการปลดปล่อย

โพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ จึงอาจช่วยให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ในการจัดการปุ๋ยโพแทสเซียมได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ดินที่ลุ่มบริเวณที่ราบภาคกลางของประเทศไทย เป็นที่ราบต่อเนื่องเป็นบริเวณกว้าง ส่วนมากพบแร่ดินเหนียวประเภท 2:1 (แร่ซิลิเกตและแร่สเมกไทต์) เกิดร่วมกับแร่ดินเหนียวประเภท 1:1 (แร่เคโอลิไนต์) ซึ่งสมบัติของดินและชนิดของแร่ดินเหนียวในดินจะผันแปรไปตามตำแหน่งของดินตามสภาพภูมิประเทศ วัตถุประสงค์งานวิจัยนี้ และช่วงระยะเวลาในการชั่งน้ำ และส่งผลให้ดินมีปริมาณโพแทสเซียมที่แตกต่างกัน (Rezapour *et al.*, 2010; Yoothong *et al.*, 1997) ดินส่วนมากมีศักยภาพทางการเกษตรค่อนข้างสูง และมีการใช้ประโยชน์ที่ดินเพื่อการปลูกข้าว แต่อย่างไรก็ตาม มีพื้นที่บางส่วนที่เป็นพื้นที่ปลูกข้าวเริ่มแสดงให้เห็นถึงปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในระดับปานกลางถึงต่ำ เช่น บริเวณจังหวัดสิงห์บุรี ชัยนาท สุพรรณบุรี เป็นต้น (Land Development Department, 2015) นอกจากนี้ ในดินที่มีเนื้อดินเป็นดินเหนียวจัดก็อาจมีปัญหการขาดธาตุโพแทสเซียมได้เช่นกัน (Laungta *et al.*, 2015; Thasanon *et al.*, 2018) ดังนั้น การศึกษาถึงปริมาณโพแทสเซียมรูปต่าง ๆ ในดิน

รวมกับการศึกษาปริมาณและอัตราเร็วในการปลดปล่อยโพแทสเซียม จะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการจัดการปุ๋ยโพแทสเซียมสำหรับการปลูกข้าวของดินที่ลุ่มในบริเวณที่ราบภาคกลางของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง และการวิเคราะห์สมบัติทางฟิสิกส์เคมี และแร่วิทยาของดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินที่ลุ่มในบริเวณที่ราบภาคกลางของประเทศไทย จำนวน 10 บริเวณ โดยเลือกตัวแทนชุดดินที่มีพัฒนาการทางดินแตกต่างกัน ประกอบด้วยชุดดินสรพยา (Sa1, Sa2) ชุดดินราชบุรี (Rb) ชุดดินบางเลน (Bl1, Bl2,) ชุดดินบางแพ (Bph1, Bph2) ชุดดินนครปฐม (Np1, Np2) และชุดดินปากท่อ (Pth) โดยรายละเอียดสถานที่เก็บตัวอย่างดินได้แสดงไว้ใน Table 1 เก็บตัวอย่างแบบ composite sampling โดยใช้สว่านเจาะดินที่ 2 ระดับความลึก ได้แก่ ชั้นไถพรวน (Ap horizon) ซึ่งดินแต่ละบริเวณมีความลึกไม่เท่ากัน (Table 2) โดยพิจารณาจากสีและโครงสร้างของดินเป็นหลัก และเก็บตัวอย่างดินชั้นล่างที่ระดับความลึกจากใต้ฐานชั้นไถพรวนถึง 60 เซนติเมตร (Ap-60) ทำการวิเคราะห์สมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดินตามวิธีมาตรฐาน (National Soil Survey Center, 1996) ประกอบด้วย เนื้อดิน (soil texture) โดยวิธี pipette พีเอชดิน (soil pH)

ที่วัดในน้ำ และวัดในสารละลาย 1 M KCl ในอัตราส่วนดินต่อน้ำ และดินต่อสารละลาย KCl เท่ากับ 1:1 วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (organic matter) โดยวิธี wet-oxidation ปริมาณไนโตรเจนรวม (total N) โดย Kjeldahl method ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) โดยวิธี Bray II ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (cation exchange capacity) ด้วย 1M NH₄OAc pH 7.0 (Thomas, 1982) วิเคราะห์ชนิดของแร่องค์ประกอบในอนุภาคขนาดดินเหนียว และอนุภาคขนาดทรายแป้ง (Mineral species in clay and silt fractions) ด้วยวิธีเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction) (Whittig, 1965)

การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมรูปต่าง ๆ ในดิน

ทำการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมในสารละลายดินซึ่งเป็นรูปที่ละลายน้ำได้ (water soluble K) โดยชั่งตัวอย่างดิน 3 กรัม เขย่าด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที และนำส่วนสารละลายใส่ไปวัดปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (AAS) จากนั้นนำตะกอนดินที่เหลือมาวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) โดยเติม 1M NH₄OAc ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 นาที และนำสารละลายใส่ไปวัดปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง AAS (Thomas, 1982) ทำการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ (non-exchangeable K) โดยนำตะกอนดินที่เหลือใส่

Table 1. Soil sampling sites

Soil series	Soil order	Location			Coordinate
		Subdistrict	District	Province	
Sapphaya 1 (Sa1)	Inceptisol	Tha Ngam	In Buri	Sing Buri	47P 643359N 1656511E
Sapphaya 2 (Sa2)	Inceptisol	Ban Mo	Phrom Buri	Sing Buri	47P 655904N 1630176E
Ratchaburi (Rb)	Inceptisol	Chaiyaphum	Chaiyo	Ang Thong	47P 656475N 1626819E
Bang Len 1 (Bl1)	Mollisol	Don Yai Hom	Mueang	Nakhon Pathom	47P 616865N 1518488E
Bang Len 2 (Bl2)	Mollisol	Lak Song	Ban Phaeo	Samut Sakhon	47P 621132N 1507926E
Bang Phae 1 (Bph1)	Mollisol	Bua Ngam	Damnoen Saduak	Ratchaburi	47P 610504N 1505861E
Bang Phae 2 (Bph2)	Mollisol	Pho Hak	Bang Phae	Ratchaburi	47P 616909N 1507791E
Nakhon Pathom 1 (Np1)	Alfisol	Plai Na	Si Prachan	Suphan Buri	47P 629769N 1622120E
Nakhon Pathom 2 (Np2)	Alfisol	Plai Na	Si Prachan	Suphan Buri	47P 629459N 1624013E
Pak Tho (Pth)	Alfisol	Sanam Khli	Mueang	Suphan Buri	47P 602823N 1610413E

Table 2. Physical and chemical properties of studied soils

Soils series	Depth (cm)	pH (1:1)		OM (----- g kg ⁻¹ -----)	Total N (mg kg ⁻¹)	Avail. P (mg kg ⁻¹)	CEC cmol _c kg ⁻¹	Textural class
		H ₂ O	KCl					
Sa1	0-20	5.2	4.3	29	1.1	29	15	Clay Loam
	20-60	6.5	5.3	14	0.41	6.0	13	Clay Loam
Sa2	0-20	5.3	4.5	23	0.70	9.9	15	Clay Loam
	20-60	5.6	4.7	14	0.49	11	23	Loam
Rb	0-20	5.0	4.2	24	1.1	11	21	Silty Clay Loam
	20-60	5.7	4.7	14	0.35	8.1	16	Clay Loam
Bl1	0-30	6.0	4.4	32	1.5	9.3	35	Silty Clay
	30-60	6.4	5.8	19	0.76	6.2	28	Silty Clay
Bl2	0-25	5.9	5.4	33	1.1	5.6	37	Clay
	25-60	6.1	5.4	18	0.91	10	32	Clay
Bph1	0-30	6.7	5.5	28	1.1	3.1	42	Silty Clay
	30-60	7.1	6.1	19	0.82	1.4	41	Silty Clay
Bph2	0-30	7.0	6.2	32	1.6	8.4	40	Silty Clay
	30-60	7.5	6.4	20	0.34	2.1	32	Silty Clay
Np1	0-20	6.4	5.7	23	0.90	58	11	Loam
	20-60	7.1	6.0	15	0.42	51	13	Loam
Np2	0-25	6.0	5.3	24	0.98	25	14	Clay Loam
	25-60	6.8	6.1	16	0.48	10	14	Clay Loam
Pth	0-20	5.3	4.5	24	0.96	16	11	Clay Loam
	20-60	5.0	3.6	13	0.28	4.7	9.2	Clay

หลอดย่อยตัวอย่าง (digestion tube) เติม 1M HNO₃ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างมากรองและล้างตะกอนที่เหลือด้วย 0.01 M HNO₃ ปรับปริมาตรสารละลายเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 0.01 M HNO₃ (Pratt, 1965) และนำสารละลายไปวัดปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง AAS

การศึกษาจลนศาสตร์การปลดปล่อยโพแทสเซียมของดิน

ชั่งตัวอย่างดิน 2.5 กรัม ใส่หลอด centrifuge เติมน้ำยาสกัด Mehlich 1 (0.05 M HCl + 0.0125 M H₂SO₄) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการเหวี่ยงและเก็บสารละลายใสเพื่อนำไปวัดปริมาณ

โพแทสเซียมด้วย AAS จากนั้นนำตัวอย่างดินในหลอดเดิมมาเติมน้ำยาสกัด Mehlich 1 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และเขย่าต่อเนื่องจนครบระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 ชั่วโมง ตามลำดับ ทำการเหวี่ยงและเก็บสารละลายใสเมื่อครบตามระยะเวลาต่าง ๆ ดังกล่าวไปวัดปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง AAS (Silva *et al.*, 2013) นำปริมาณโพแทสเซียมที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณหาปริมาณโพแทสเซียมที่ปลดปล่อยสะสม (cumulative K released) และนำข้อมูลปริมาณโพแทสเซียมที่ปลดปล่อยสะสมที่ระยะเวลาต่าง ๆ มาอธิบายลักษณะการปลดปล่อยด้วยสมการต่าง ๆ ซึ่งเป็นสมการที่ใช้อธิบายจลนศาสตร์การปลดปล่อยธาตุอาหารในดิน (Havlin and Westfall, 1985; Jardine and Sparks, 1984; Sparks *et al.*, 1980) ได้แก่

Parabolic diffusion equation $K = a + bt^{1/2}$

Power function equation $\ln(K) = \ln(a) + b \ln(t)$

Elovich equation $K = a + b \ln(t)$

First order equation $\ln(K_{\max} - K) = a + bt$

Zero order equation $(K_{\max} - K) = a + bt$

เมื่อ K คือ ปริมาณโพแทสเซียมที่ปลดปล่อยที่ระยะเวลา t (มิลลิกรัม/กิโลกรัม); $K_{\max}$ คือ ปริมาณโพแทสเซียมที่ปลดปล่อยมากที่สุดที่ 168 ชั่วโมง (มิลลิกรัม/กิโลกรัม); t คือ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดโพแทสเซียม (ชั่วโมง) โดยค่าจุดตัดแกนตั้ง (a) สามารถบ่งบอกถึงปริมาณการปลดปล่อยโพแทสเซียม และค่าความชัน (b) สามารถบ่งบอกถึงอัตราเร็วในการปลดปล่อยโพแทสเซียมได้

ผลการทดลองและวิจารณ์

สมบัติทางฟิสิกส์ เคมี และแร่วิทยาของดินที่ทำการศึกษา

ดินที่ทำการศึกษามีสมบัติดินและมีพัฒนาการแตกต่างกัน โดยชุดดินสรวพยา (Sa) และชุดดินราชบุรี (Rb) จัดเป็นดินในอันดับอินเซปทิซอลส์ ชุดดินบางเลน (Bl) และชุดดินบางแพ (Bph) เป็นดินในอันดับมอลลิซอลส์ ชุดดินนครปฐม (Np) เป็นดินในอันดับอัลฟิซอลส์ และชุดดินปากท่อ (Pth) เป็นดินใน

อันดับอัลทิซอลส์ ดินที่ทำการศึกษามีเนื้อดินอยู่ในกลุ่มเนื้อปานกลางถึงเนื้อละเอียด (Table 2) โดยชุดดินบางเลนและชุดดินบางแพมีเนื้อดินอยู่ในกลุ่มเนื้อละเอียด ในขณะที่ชุดดินอื่นๆ มีเนื้อดินส่วนใหญ่เป็นกลุ่มดินเนื้อปานกลาง

ค่าพีเอชของดินผันแปรตั้งแต่เป็นกรดจัดมากจนถึงเป็นด่างเล็กน้อย ปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำถึงค่อนข้างสูง และมีปริมาณไนโตรเจนรวมอยู่ในระดับต่ำมากถึงต่ำ ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนผันแปรตั้งแต่ระดับค่อนข้างต่ำถึงสูงมาก โดยชุดดินบางเลนและชุดดินบางแพมีค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนอยู่ในระดับสูงมาก สอดคล้องกับลักษณะของเนื้อดินซึ่งเป็นดินเหนียวและมีแร่ดินเหนียวประเภท 2:1 คือ แร่สมกไทต์เป็นองค์ประกอบหลัก (Table 3) ส่วนชุดดินปากท่อซึ่งเป็นดินในอันดับอัลทิซอลส์มีค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ เนื่องจากดินมีพัฒนาการสูงและมีแร่เคโอลิไนต์เป็นองค์ประกอบในสัดส่วนที่สูงกว่าดินในอันดับอื่นๆ (Buol *et al.*, 2011)

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางแร่วิทยาในอนุภาคขนาดดินเหนียวของดินที่ทำการศึกษพบว่า ดินในทุกอันดับมีแร่องค์ประกอบ ได้แก่ แร่เคโอลิไนต์ แร่อีไลต์ และแร่สมกไทต์ ในปริมาณที่แตกต่างกัน ดินมีแร่ดินเหนียวสอดขึ้น (interstratified clay minerals) และแร่ควอตซ์เป็นองค์ประกอบในปริมาณเล็กน้อย (Table 3) สอดคล้องกับการศึกษาของ Yoothong *et al.* (1997)

Table 3. Minerals composition in silt and clay fractions of soils

Soils	Clay fraction					Silt fraction					
	Kao	Ill	Smc	Int 10 and 14 A°	Qtz	Qtz	Cal	Ant	7 A° clay	10 A° clay	Others
Sa1	xx	xx	xx	tr	-	xxxx	-	-	tr	tr	Ab tr.
Sa2	xx	xx	xx	tr	-	xxxx	-	-	tr	tr	Mc tr.
Rb	xx	xx	xx	-	-	xxxx	-	-	tr	tr	Mc tr. ; Ab tr.
Bl1	x	x	xx	-	-	xxxx	-	tr	tr	tr	Mc tr.
Bl2	x	x	xxx	-	-	xxxx	-	-	-	tr	Mc tr. ; Ab tr.
Bph1	tr	tr	xxxx	-	tr	xxxx	-	-	tr	tr	Ab tr.
Bph2	tr	tr	xxxx	-	tr	xxxx	-	-	-	tr	Mc. tr. ; Ab tr.
Np1	xx	xx	xx	-	-	xxxx	-	-	tr	tr	Mc. tr. ; Ab tr.
Np2	xx	xx	xx	-	-	xxxx	-	-	-	tr	Mc. tr. ; Ab tr.
Pth	xx	xx	-	-	tr	xxxx	-	-	-	-	Mc. tr.

Kao = Kaolinite; Ill = Illite; Smc = Smectite; Int = Interstratified clay minerals; Qtz = Quartz; Cal = Calcite; Ant = Anatase; Mc = Microcline; Ab = Albite; tr = trace (<5%), x = small (5-20%), xx = moderate (20-40%), xxx = large (40-60%), xxxx = dominant (>60%)

ที่รายงานไว้ว่า แร่องค์ประกอบหลักในอนุภาคขนาดดินเหนียวของดินในบริเวณที่ราบลุ่มภาคกลางของประเทศไทยประกอบด้วยแร่เคลอิไนต์ แร่สเมกไทต์ แร่อิลไลต์ และอาจพบแร่สตรักชัน (interstratified clay minerals) แร่เกอไทต์ และแร่ควอตซ์ได้ในปริมาณเล็กน้อย โดยชุดดินบางเลนและชุดดินบางแพ พบแร่สเมกไทต์เป็นแร่องค์ประกอบหลัก และพบแร่เคลอิไนต์และอิลไลต์ปะปนอยู่ในปริมาณเล็กน้อย ลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ดินมีการระบายน้ำเลว กระบวนการชะละลายต่ำ และมีค่าพีเอชดินเป็นด่าง จึงส่งเสริมการเพิ่มเติมซิลิกาในสารละลายดิน (resilication) รวมทั้งการสะสมแคลไซต์ไฮดรอกไซด์ที่จำเป็นสำหรับการสร้างตัวของแร่สเมกไทต์ (Kittrick, 1971; Weaver *et al.*, 1971) ส่วนชุดดินอื่น ๆ พบแร่เคลอิไนต์ แร่อิลไลต์ และแร่สเมกไทต์ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน

แสดงให้เห็นว่าดินมีพัฒนาการค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับชุดดินปากท่อซึ่งเป็นดินในอันดับอัลทิสซอลส์ที่ไม่พบแร่สเมกไทต์เป็นองค์ประกอบ สำหรับองค์ประกอบทางแร่วิทยาในอนุภาคขนาดทรายแป้งพบว่า ดินในทุกอันดับมีแร่ควอตซ์เป็นแร่องค์ประกอบหลัก และพบแร่ 10 อังสตรอม แร่ไมโครไคลน์ และแร่แอลไบต์ ในปริมาณเล็กน้อย

ผลการศึกษาปริมาณโพแทสเซียมรูปต่าง ๆ ในดิน

ดินที่ทำการศึกษาที่มีปริมาณโพแทสเซียมรูปที่ละลายน้ำได้อยู่ในพิสัย 11-117 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Table 4) ซึ่งมีอยู่ในปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับโพแทสเซียมรูปอื่น ๆ ในดิน อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาพบว่าดินที่ทำการศึกษาบางบริเวณมีปริมาณโพแทสเซียมรูปที่

Table 4. K content in various forms and cumulative K released at 168 hours

Soil series	Depth (cm)	Water K (-----mg kg ⁻¹ -----)	ExK	NEK	Cumulative K released at 168 h
Sa1	0-20	11	34	465	462
	20-60	21	25	467	536
Sa2	0-20	26	33	479	480
	20-60	22	33	488	496
Rb	0-20	20	36	410	430
	20-60	27	32	359	418
BI1	0-30	70	142	287	531
	30-60	44	108	308	451
BI2	0-25	63	157	243	467
	25-60	111	221	321	603
Bph1	0-30	45	65	255	294
	30-60	10	55	369	352
Bph2	0-30	25	111	339	406
	30-60	21	77	508	489
Np1	0-20	108	236	458	816
	20-60	117	387	511	974
Np2	0-25	40	26	290	301
	25-60	41	41	411	837
Pth	0-20	56	48	165	240
	20-60	45	39	183	182

Water K = water soluble K; ExK = exchangeable K; NEK = non-exchangeable K

ละลายน้ำได้อยู่สูง ซึ่งอาจเป็นผลตกค้างจากการใส่ปุ๋ยในพื้นที่หรืออิทธิพลจากน้ำชลประทานในพื้นที่แต่ละบริเวณ (Thasanon *et al.*, 2018)

ปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนได้ของดินที่ทำการศึกษามีค่าอยู่ในพิสัย 25-387 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดยชุดดินบางเลนและชุดดินบางแพมีปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนได้สูงกว่าชุดดินอื่น ๆ เนื่องมาจากดินดังกล่าวมีค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนสูงกว่าชุดดินอื่น ๆ จึงทำให้ดินสามารถดูดยึดโพแทสเซียมไว้ที่บริเวณพื้นที่ผิวแลกเปลี่ยนได้มาก นอกจากนี้ ผลการศึกษายังพบว่า ชุดดินนครปฐมมีปริมาณโพแทสเซียมในชั้นดินล่างสูงกว่าชั้นดินบน ซึ่งอาจได้รับอิทธิพลจากกระบวนการชะละลาย (Buol *et al.*, 2011) ส่วนชุดดินปากท่อมีปริมาณโพแทสเซียมรูปที่ละลายน้ำสูงกว่ารูปที่แลกเปลี่ยนได้ ลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ชุดดินปากท่อมียุคความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนค่อนข้างต่ำ ทำให้ดินมีความสามารถในการดูดยึดโพแทสเซียมไว้ที่บริเวณพื้นที่ผิวแลกเปลี่ยนได้น้อย จึงทำให้โพแทสเซียมส่วนใหญ่ถูกเปลี่ยนมาอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้มากกว่ารูปที่แลกเปลี่ยนได้ (Suttanukool *et al.*, 2019)

ปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ของดินที่ทำการศึกษามีค่าอยู่ในพิสัย 165-508 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Table 4) ซึ่งดินที่ทำการศึกษาล้วนส่วนใหญ่มีแร่ซิลิเกตเป็นองค์ประกอบในอนุภาคขนาดดินเหนียวจึงทำให้ดินส่วนใหญ่มีปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ค่อนข้างสูง (Rao *et al.*, 2010) อย่างไรก็ตาม ชุดดินปากท่อมียุคความจุแลกเปลี่ยนไม่ได้ต่ำกว่าชุดดินอื่น ๆ ซึ่งอาจเนื่องมาจากชุดดินปากท่อเป็นดินที่มีพัฒนาการสูงกว่าชุดดินอื่น ๆ และระดับการพองตัวของแร่ซิลิเกตอาจมากกว่าดินอื่น ๆ จึงทำให้โพแทสเซียมที่เป็นองค์ประกอบของแร่ซิลิเกตลดลง (McLean, 1979)

ผลการศึกษาจลนศาสตร์การปลดปล่อยโพแทสเซียม

ผลการศึกษาลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมด้วยน้ำยาสกัด Mehlich 1 ที่ระยะเวลา 1 ถึง 168 ชั่วโมง พบว่า ดินมีลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมที่แตกต่างกัน โดยชั้นดินบนมีปริมาณการ

ปลดปล่อยโพแทสเซียมสะสม ตลอดช่วงระยะเวลา 168 ชั่วโมง อยู่ในพิสัย 240-816 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วนดินชั้นล่างมีปริมาณการปลดปล่อยโพแทสเซียมอยู่ในพิสัย 182 - 974 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Table 4) โดยพบว่า ชุดดินปากท่อ มีปริมาณการปลดปล่อยโพแทสเซียมน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับชุดดินอื่น ๆ ส่วนชุดดินนครปฐม 1 มีการปลดปล่อยโพแทสเซียมสูงที่สุด (Figure 1)

เมื่อนำข้อมูลปริมาณการปลดปล่อยโพแทสเซียมมาอธิบายลักษณะการปลดปล่อยด้วยสมการทั้ง 5 สมการ พบว่า ทุกสมการยกเว้นสมการ Elovich สามารถอธิบายลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมในดินที่ทำการศึกษาได้ดี โดยสมการ parabolic และ สมการ power function สามารถอธิบายการปลดปล่อยโพแทสเซียมในชุดดินบางเลนทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินบางแพทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินนครปฐม 1 และชุดดินปากท่อ ได้ดีกว่า ชุดดินสรรพยาทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินนครปฐม 2 และชุดดินราชบุรี และมีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (R^2) ของสมการ parabolic diffusion สมการ power function อยู่ในพิสัย 0.98-0.99 และ 0.91-0.98 ตามลำดับ สมการ parabolic diffusion สามารถอธิบายการปลดปล่อยโพแทสเซียมในดินที่ทำการศึกษาได้ดี (Figure 2) แสดงให้เห็นว่า ดินที่ทำการศึกษามีกระบวนการปลดปล่อยโพแทสเซียมโดยกระบวนการแพร่ (diffusion controlled-process) ซึ่งมีรายงานว่าสมการ parabolic diffusion สามารถใช้อธิบายลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมจากแร่ไมกา และจากดินหลาย ๆ ลักษณะได้เป็นอย่างดี (Darunsontaya *et al.*, 2010; Dhillon and Dhillon, 1992) และสามารถอธิบายลักษณะการปลดปล่อยแอมโมเนียม (NH_4^+) จากดิน ซึ่งมีลักษณะประจุ โกลัศเหียงกับโพแทสเซียมได้ดีอีกด้วย (Darunsontaya *et al.*, 2018)

สมการ Power function สามารถอธิบายการปลดปล่อยโพแทสเซียมใน ชุดดินบางเลนทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินบางแพทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินนครปฐม 1 และชุดดินปากท่อได้ดีเช่นกัน (Figure 2) ซึ่งสมการดังกล่าวสามารถใช้อธิบายลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมภายในช่วงเวลาน้อย ๆ หรือช่วงต้นของการทดลอง (ช่วงต้นของปฏิกิริยาแบบ S-curve) และเป็นลักษณะการปลดปล่อยที่เกิดจากพื้นผิวตัวดูดซับที่มีความสม่ำเสมอ

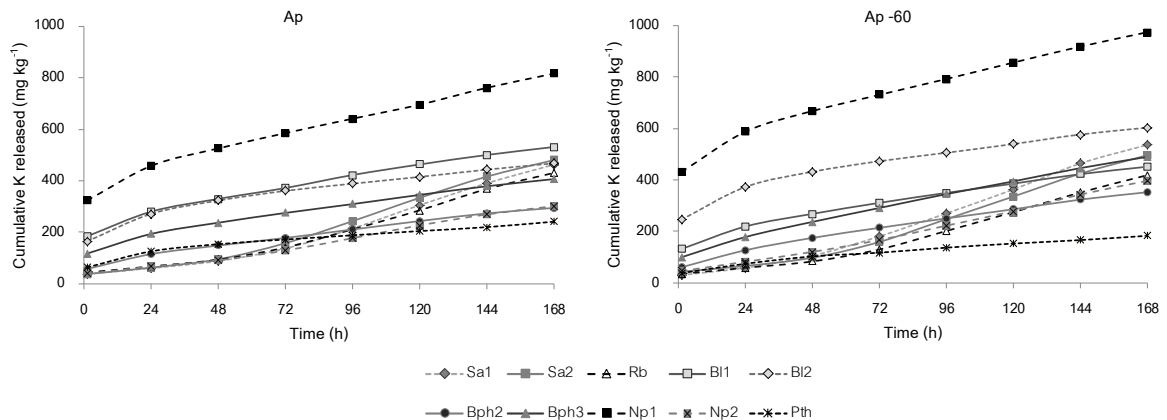


Figure 1. Potassium release between 0 and 168 hours for topsoil (Ap) and subsoil (Ap-60) samples

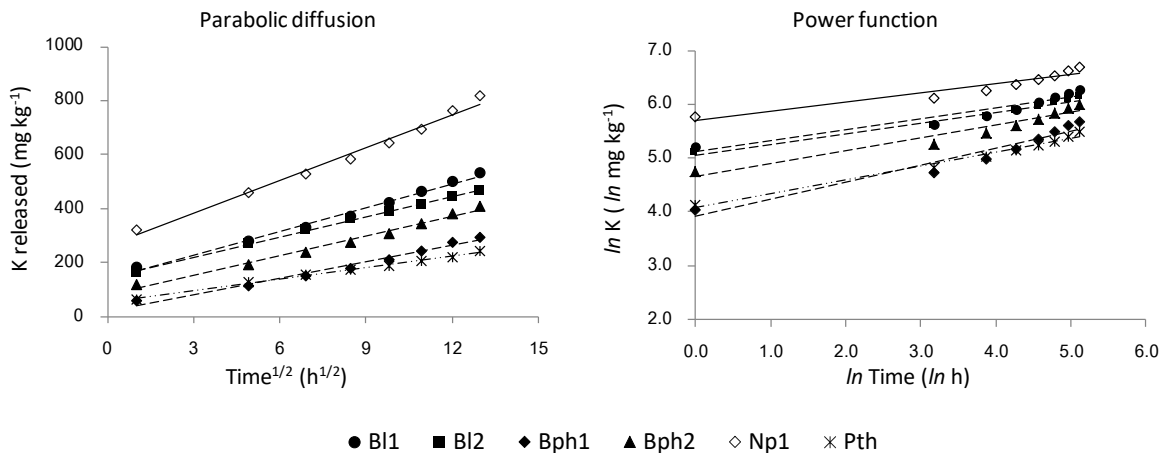


Figure 2. Data fitted to parabolic diffusion and power function describing K release from topsoil (Ap) of BI1, BI2, Bph1, Bph2, Np1 and Pth

(homogeneous surfaces) (Aharoni and Suzin, 1982; Sparks, 2003) ลักษณะดังกล่าวอาจแสดงให้เห็นว่า ในช่วงแรกของการทดลอง ดินที่ทำการศึกษา อาจเกิดการปลดปล่อยโพแทสเซียมจากพื้นที่ผิวแลกเปลี่ยนของแร่ดินเหนียวเพียงอย่างเดียว หลังจากนั้นกระบวนการปลดปล่อยจึงเกิดจากพื้นที่ผิวแลกเปลี่ยนทั้งภายใน และภายนอก รวมถึงการปลดปล่อยจากอินทรีย์วัตถุไปพร้อม ๆ กัน

สำหรับชุดดินสรวพยาทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินนครปฐม 2 และชุดดินราชบุรี สามารถอธิบายลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมได้ดีด้วยสมการ ordered-equation (Figure 3) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (R^2) ของสมการ zero order และสมการ first order อยู่ในพิสัย 0.95-0.99 และ 0.83-0.87 ตามลำดับ ซึ่งสมการ

ordered-equation เป็นสมการที่บ่งบอกถึงปฏิกิริยาที่มีอัตราเร็วของการปลดปล่อยแตกต่างกันมาก อัตราเร็วกล่าวคือ ปฏิกิริยาเริ่มต้นด้วยอัตราที่ช้า และตามด้วยอัตราที่เร็วขึ้นมาก (Sparks, 2003) ซึ่งลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การปลดปล่อยโพแทสเซียมของดินกลุ่มนี้มาจากสองบริเวณ หรือสองพื้นผิวที่แตกต่างกัน โดยในช่วงแรกอาจเกิดการปลดปล่อยจากพื้นที่ผิวดูดซับภายนอก (external site) ซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ และช่วงที่สองเป็นการปลดปล่อยโพแทสเซียมจากพื้นที่ผิวดูดซับภายใน (interlayer site) ของโครงสร้างแร่ดินเหนียว ซึ่งปฏิกิริยาเกิดขึ้นในอัตราที่เร็วกว่า นอกจากนี้ สมการ zero order ยังบ่งบอกถึงปฏิกิริยาที่ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของปริมาณโพแทสเซียมในดิน ซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่า

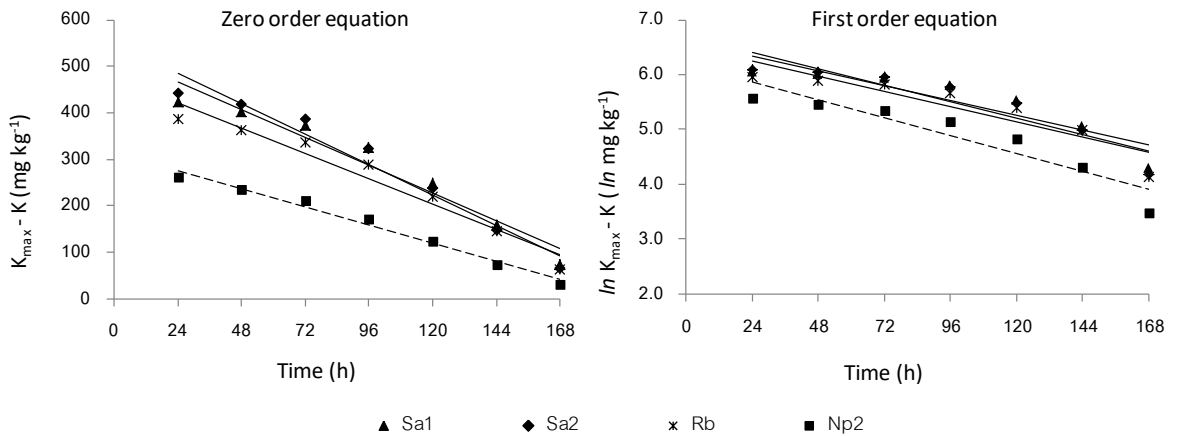


Figure 3. Data fitted to zero order equation and first order equation describing K release from topsoil (Ap) of Sa1, Sa2, Rb and Np2

ปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนได้ที่มีอยู่ในระดับต่ำของชุดดินสรวยาทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินนครปฐม 2 และชุดดินราชบุรี มีอิทธิพลเพียงเล็กน้อยต่ออัตราเร็วในการปลดปล่อยโพแทสเซียม

สรุป

ผลการศึกษาลักษณะการปลดปล่อยโพแทสเซียมในดินที่ทำการศึกษา พบว่ามีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนได้ และโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้ในดิน โดยปัจจัยดังกล่าวมีอิทธิพลต่อทั้งลักษณะการปลดปล่อยและอัตราเร็วในการปลดปล่อยโพแทสเซียม โดยชุดดินที่มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ทันทีอยู่ในระดับต่ำและมีปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้อยู่ในระดับสูง ได้แก่ ชุดดินสรวยาทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินนครปฐม 2 และชุดดินราชบุรี จะมีอัตราเร็วในการปลดปล่อยโพแทสเซียมในช่วงแรกของการศึกษาค่า และมีปริมาณการปลดปล่อยที่น้อย ต่อมาจะมีการปลดปล่อยในอัตราเร็วที่เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการศึกษา ในขณะที่ชุดดินที่มีปริมาณโพแทสเซียมทั้งรูปที่แลกเปลี่ยนได้ และรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้อยู่ในระดับสูง ได้แก่ ชุดดินบางเลน ทั้ง 2 บริเวณ ชุดดินบางแพทั้ง 2 บริเวณ และชุดดินนครปฐม 1 จะมีการปลดปล่อยโพแทสเซียมในอัตราเร็วที่มากกว่า และมีปริมาณการปลดปล่อยสูงกว่าชุดดินใน

กลุ่มแรก ส่วนชุดดินปากท่อ ซึ่งมีปริมาณโพแทสเซียมรูปที่แลกเปลี่ยนไม่ได้้อยู่ต่ำที่สุด มีปริมาณการปลดปล่อยโพแทสเซียมต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับชุดดินอื่น ๆ ดังนั้น ในชุดดินสรวยา ชุดดินราชบุรี และชุดดินปากท่อ ที่มีปริมาณโพแทสเซียมรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชทันทีอยู่ในระดับต่ำ มีการสูญเสียโพแทสเซียมได้ง่าย และมีอัตราเร็วการปลดปล่อยโพแทสเซียมในช่วงแรกต่ำ ควรมีการพิจารณาเพิ่มปุ๋ยโพแทสเซียมในช่วงต้นฤดูการเพาะปลูกเพื่อให้ข้าวสามารถดูดใช้โพแทสเซียมได้ในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการ และสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาหาอัตราปุ๋ยที่เหมาะสมเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลในการจัดการปุ๋ยโพแทสเซียมในดินนาบริเวณที่ราบภาคกลางของประเทศไทยที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยรหัส ป-3.1(ด)53.61 ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

Aharoni, C. and Y. Suzin. 1982. Application of the Elovich equation to the kinetics of

- occlusion: Part 3. Heterogenous microporosity. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions I: Physical Chemistry in Condensed Phases* 78(8): 2329-2336.
- Buol, S.W., R.J. Southard, R.C. Graham and P.A. McDaniel. 2011. *Soil Genesis and Classification*. 6th ed. Wiley-Blackwell, Chichester. 543 p.
- Cox, A.E., B.C. Joern, S.M. Brouder and D. Gao. 1999. Plant-available potassium assessment with a modified sodium tetraphenylboron method. *Soil Science Society of America Journal* 63(4): 902-911.
- Darunsontaya, T., A. Sudcharoen and W. Jindaluang. 2018. Fixation and release of ammonium (NH_4^+) in soils containing 2:1 clay minerals. *Journal of Agriculture* 34(1): 41-53. (in Thai)
- Darunsontaya, T., A. Suddhiprakarn, I. Kheoruenromne and R. J. Gilkes. 2010. The kinetics of potassium release to sodium tetraphenylboron solution from the clay fraction of highly weathered soils. *Applied Clay Science* 50(3): 376-385.
- Dhillon, S.K. and K.S. Dhillon. 1992. Kinetics of release of potassium by sodium tetraphenyl boron from some top soil samples of red (Alfisols) , black (Vertisols) and alluvial (Inceptisols and Entisols) soils of India. *Fertilizer Research* 32: 135-138.
- Havlin, J.L. and D.G. Westfall. 1985. Potassium release kinetics and plant response in calcareous soils. *Soil Science Society of America Journal* 49(2): 366-370.
- Jardine, P.M. and D.L. Sparks. 1984. Potassium–calcium exchange in a multireactive soil system: I. Kinetics. *Soil Science Society of America Journal* 48(1): 39-45.
- Kittrick, J.A. 1971. Stability of montmorillonites: II. Aberdeen montmorillonite. *Soil Science Society of America Journal* 35(5): 820-823.
- Land Development Department. 2015 . *State of Soil and Land Resources of Thailand*. Land Development Department, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. 304 p. (in Thai)
- Laungta, S., N. Chittamart and S. Tawompruek. 2015. Agricultural potential evaluation of rice-based Thai vertisols. *Songklanakarin Journal of Plant Science* 2(4): 40-51. (in Thai)
- McLean, O.E. 1979. Schematic weathering of mica and their transformation into clay minerals: A matter of K release and fixation. pp. 1-13. *In: G.S. Sekhon (ed.). Potassium in Soils and Crops*. Potash Research Institute of India, Gurgaon, Haryana, New Delhi.
- National Soil Survey Center. 1996. *Soil Survey Laboratory Methods Manual*. Soil Survey Investigation No. 42, Version 3.0. Natural Resources Conservation Service, USDA, Washington, DC.
- Pratt, P.E. 1965. Potassium. pp. 1023-1031. *In: C.A. Black (ed.). Methods of Soil Analysis: Part 2—Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy Monograph 9. American Society of Agronomy Inc., Madison, WI.
- Rao, C.S., A.S. Rao, K.V. Rao, B. Venkateswarlu and A.K. Singh. 2010. Categorisation of districts based on nonexchangeable potassium: implications in efficient K fertility management in Indian agriculture. *Indian Journal of Fertilisers* 6(7): 40-54.

- Rezapour, S., A. Samadi, A. A. Jafarzadeh and S.H. Oustan. 2010. Impact of clay mineralogy and landscape on potassium forms in calcareous soils, Urmia region. *Journal of Agricultural Science and Technology* 12(4): 495-507.
- Silva, A.A.S.da, J.A. Sampaio, A.B.da Luz, S.C.A. França and C.M. Ronconi. 2013. Modeling controlled potassium release from phlogopite in solution: exploring the viability of using crushed phlogopite rock as an alternative potassium source in Brazilian soil. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 24(8): 1366-1372.
- Sparks, D.L. 2003. *Environmental Soil Chemistry*. 2nd ed. Academic Press, San Diego. 352 p.
- Sparks, D.L., L.W. Zelazny and D.C. Martens. 1980. Kinetics of potassium desorption in soil using miscible displacement. *Soil Science Society of America Journal* 44(6): 1205-1208.
- Suttanukool, P., T. Darunsontaya and W. Jindaluang. 2019. A study on the quantity/intensity relationships of potassium of sugarcane growing soils, eastern Thailand. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 50(2): 153-163.
- Thasanon, P., T. Darunsontaya, W. Jindaluang and C. Khongkaew. 2018. Forms of potassium in paddy soils, Central Plain of Thailand. *Songklanakarin Journal of Plant Science* 5(3): 58-66. (in Thai)
- Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. pp. 159-165. *In*: C.A. Black (ed.). *Methods of Soil Analysis: Part 2—Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy Monograph 9. American Society of Agronomy Inc., Madison, WI.
- Weaver, R.M., M.L. Jackson and J.K. Syers. 1971. Magnesium and silicon activities in matrix solutions of montmorillonite-containing soils in relation to clay mineral stability. *Soil Science Society of America Journal* 35(5): 823-830.
- Whittig, L.D. 1965. X-ray diffraction technique for minerals identification and mineralogical composition. pp. 671-698. *In*: C.A. Black (ed.). *Methods of Soil Analysis: Part 2—Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy Monograph 9. American Society of Agronomy Inc., Madison, WI.
- Yoothong, K., L. Moncharoen, P. Vijarnson and H. Eswaran. 1997. Clay mineralogy of Thai soils. *Applied Clay Science* 11(5-6): 357-371.

ผลของการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมทางใบต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและการดูดน้ำใช้ ธาตุอาหารในถั่วฝักยาวไร่ค้าง

Effects of Foliar Potassium Application Fertilizer on Growth, Yield and Nutrient Uptake in Draw Yard Long Bean

สายชล สุขญาณกิจ^{1*} ภาณุพงศ์ ฤกษ์ยานีย์¹ ชลรดา ชาวคำเขตร์¹ และ ธนภัทร ปลื้มพวง²
Saychol Sukyankij^{1*}, Panupong Reakyanee¹, Chonlada Chaowchomchade¹
and Thanapat Pluemphuak²

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000

¹Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Phra Nakhon Si Ayutthaya 13000, Thailand

²ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

²Central Laboratory and Greenhouse Complex, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University,
Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author: Email: saychol.agri@gmail.com

(Received: 8 March 2019; Accepted: 5 August 2019)

Abstract: The experiment was conducted to investigate the effects of foliar potassium fertilizers (K) on yield and nutrient uptake in draw yard long bean grown in Sena soil series in Phra Nakhon Si Ayutthaya province. The experimental design was carried out in completely randomized design (CRD) with 7 treatments and 3 replications. The treatments consisted of Tr1 was control (no foliar of K fertilizer), Tr2 to Tr4 were foliar of KCl fertilizer at concentration of 0.5, 1.0 and 1.5 percent and Tr5 to Tr7 were foliar of KNO₃ fertilizer at concentration of 0.5, 1.0 and 1.5 percent. Results showed that both types and concentration of K had significant difference ($P \leq 0.01$) in pod fresh weight (PFW) and shoot biomass (SBM) and significantly different ($P \leq 0.05$) in pod dry weight (PDW). The application of foliar KNO₃ at concentration of 1.0 percent gave the highest on PFW, PDW and SBM (297.1, 28.2 and 78.8 g/plant, respectively). The concentration and uptake of K were found significantly different ($P \leq 0.01$). The application of foliar KCl at concentration of 1.5 percent gave the highest on K concentration in PDW (25.6 g/kg) and foliar KNO₃ at the concentration of 1.0 percent gave the highest on K uptake in PDW (0.68 g/plant). However, the foliar KCl had a significant difference ($P \leq 0.01$) for linear correlation between K uptake and PDW in draw yard long bean ($r=0.89^{**}$).

Keywords: Potassium chloride, potassium nitrate, yield, draw yard long bean

บทคัดย่อ: ทำการศึกษาผลของการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมทางใบต่อ ผลผลิต และการดูดใช้โพแทสเซียมในถั่วฝักยาวไร้ค้างที่ปลูกในชุดดินเสนา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ประกอบด้วย 7 ตำรับทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้ ตำรับทดลองที่ 1 ไม่ฉีดพ่นปุ๋ยโพแทสเซียมทางใบ (ตำรับควบคุม) ตำรับทดลองที่ 2-4 ฉีดพ่นปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) เป็นปุ๋ยทางใบในอัตราความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตำรับทดลองที่ 5-7 ฉีดพ่นปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) เป็นปุ๋ยทางใบในอัตราความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ จากผลการศึกษพบว่าชนิดของปุ๋ยโพแทสเซียมและอัตราความเข้มข้นที่ใช้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ในส่วนของผลผลิตน้ำหนักฝักสดและชีวมวลส่วนเหนือดิน ขณะที่ผลผลิตน้ำหนักแห้งฝักพบว่ามีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรททางใบอัตราความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตน้ำหนักฝักสด น้ำหนักฝักแห้ง และชีวมวลส่วนเหนือดินสูงที่สุดเท่ากับ 297.1, 28.2 และ 78.8 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ด้านความเข้มข้นและการดูดใช้โพแทสเซียมพบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) การให้โพแทสเซียมคลอไรด์เป็นปุ๋ยทางใบอัตราความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความเข้มข้นโพแทสเซียมในฝักสูงที่สุด (25.6 กรัมต่อกิโลกรัม) ส่วนการดูดใช้โพแทสเซียมในฝักนั้น การให้การให้โพแทสเซียมไนเตรทเป็นปุ๋ยทางใบอัตราความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าการดูดใช้โพแทสเซียมในฝักสูงที่สุด (0.68 กรัมต่อต้น) นอกจากนี้การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์เป็นปุ๋ยทางใบยังให้ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้น (r) ระหว่างการดูดใช้โพแทสเซียมและผลผลิตฝักแห้งถั่วฝักยาวไร้ค้างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) เท่ากับ 0.82**

คำสำคัญ: โพแทสเซียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรท ผลผลิต ถั่วฝักยาวไร้ค้าง

คำนำ

ถั่วฝักยาวไร้ค้าง (*Vigna unguiculata* L.) เป็นพันธุ์ถั่วฝักยาวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้สามารถปลูกได้โดยไม่จำเป็นต้องทำค้าง ซึ่งเป็นผลดีต่อเกษตรกรในเชิงของการลดต้นทุนการผลิต สามารถปลูกได้ง่ายเจริญเติบโตได้ในดินหลากหลายประเภท ปัจจุบันมีพันธุ์ถั่วฝักยาวไร้ค้างหลายสายพันธุ์ เช่น ถั่วฝักยาวไร้ค้างพันธุ์ KKU 25 และ KKU 40 พัฒนาพันธุ์โดยมหาวิทยาลัยขอนแก่น พันธุ์ Suranaree 1 พัฒนาพันธุ์โดยมหาวิทยาลัยสุรนารี และ MSU 1 และ MSU 2 พัฒนาพันธุ์โดยมหาวิทยาลัยมหาสารคาม (Sinsiri and Sinsiri, 2012) นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ CLGC 30 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พัฒนาขึ้นโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตฝักสด ลักษณะเด่น คือ ทรงต้นเป็นพุ่มเตี้ย ไม่เลื้อยขึ้นค้าง ความยาวฝักเฉลี่ย 46 เซนติเมตร ด้านทานต่อโรคราสนิม ฝักเขียวเข้มปานกลาง และมีรสชาติหวานกรอบ (Kasetsart University Research and Development Institute, 2018) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกบริโภค

ในครัวเรือนหรืออาจปลูกเป็นพืชรองหลังการเก็บเกี่ยวพืชหลักในพื้นที่ไร่นาก็ได้ การจัดการด้านการใช้ปุ๋ยถือเป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตถั่วฝักยาว ซึ่งโดยทั่วไปมักใช้ปุ๋ยเคมีควบคู่กับปุ๋ยอินทรีย์ โดยสามารถใช้ปุ๋ยเคมีเกรดเสมอ เช่น 15-15-15 หรืออาจให้ปุ๋ยสูตร 13-13-21 ประมาณ 25 กิโลกรัมต่อไร่ และมักให้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมด้วยประมาณ 1-2 ตันต่อไร่ (Techawongstien and Lapjit, 2018) โดยในบรรดาธาตุอาหารหลักทั้ง 3 ธาตุโพแทสเซียมถือเป็นธาตุอาหารพืชที่มีบทบาทสำคัญต่อผลผลิตและคุณภาพของผลผลิต เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในเซลล์ มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ การเคลื่อนย้ายและการดูดกินน้ำและธาตุอาหารรวมถึงกระบวนการหายใจในพืช (Chalemthai and Santasup, 2018; Devlin and Witham, 1986; Hussien *et al.*, 2012) งานวิจัยที่ศึกษาการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมนั้นมีอยู่ค่อนข้างมาก แต่งานที่ทำในถั่วฝักยาวไร้คางนั้นยังถือว่ามีความล้นอยู่อย่างจำกัด Huda *et al.* (2010) ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยโพแทสเซียมและแมกนีเซียมของถั่วแขกพบว่า การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมเพิ่มขึ้นจาก 18.3 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ เป็น

36.6 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ มีผลให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และผลผลิตฝักเพิ่มขึ้น 19.7, 11.6 และ 19.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การเพิ่มอัตราความเข้มข้นปุ๋ยโพแทสเซียมดังที่ได้กล่าวมามีผลให้ค่าความเขียวของใบเพิ่มขึ้นประมาณ 6.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในพืชอื่นๆ อีก เช่น ข้าว และข้าวโพด เป็นต้น (Chalemthai and Santasup, 2018; Tran *et al.*, 2012) โดย Tran *et al.* (2012) ศึกษาการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมในเตรทเป็นปุ๋ยทางใบในข้าวที่ปลูกในดิน 2 แห่งของประเทศเวียดนามซึ่งเป็นดินเสื่อมโทรมและดินที่มีการตรึงโพแทสเซียมสูงพบว่า การให้โพแทสเซียมในเตรททางใบที่ระยะแตกกอสูงสุด ระยะเกิดช่อดอก และระยะดอกบานเต็มที่จะส่งผลให้ข้าวมีผลผลิตต่อไร่สูงกว่าการไม่ให้โพแทสเซียมในเตรทหรือการให้ในบางช่วงของการเจริญเติบโต เนื่องจากโพแทสเซียมมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง การสังเคราะห์โปรตีน รวมถึงการเคลื่อนย้ายสารอาหารในพืช (Osotsapar, 2015) จากรายงานของ Taha and Osman (2018) พบว่าการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมในรูปโพแทสเซียมฮิวเมต (potassium humate) ช่วยเพิ่มปริมาณรงควัตถุ ปริมาณสารประกอบกลุ่ม anti-oxidant เพิ่มความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในใบ ปริมาณโปรตีนในเมล็ด และผลผลิตฝักสดของถั่วแขก ขณะที่ Traithipchawalit *et al.* (2018) รายงานว่าการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมทางใบทำให้ข้อยพันธุ์ K95-84 ที่ปลูกในชุดดินกำแพงแสนมีผลผลิตสูงกว่าการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมทางดิน จากข้อมูลที่ได้กล่าวมาชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของปุ๋ยโพแทสเซียมที่มีต่อพืช รวมถึงวิธีการในการใส่ที่มีส่วนสำคัญในการกำหนดผลผลิตพืชที่จะได้รับภายหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นการฉีดพ่นปุ๋ยโพแทสเซียมเพิ่มเติมจากการให้ปุ๋ยทางดินจึงอาจเป็นแนวทางในการช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของถั่วฝักยาวไร้ค้างซึ่งถือเป็นพืชที่มีความน่าสนใจทั้งในด้านการจำหน่ายในท้องตลาดและกรรมวิธีการผลิตที่ง่าย ไม่ซับซ้อน มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าถั่วฝักยาวปกติ จากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นจึงเป็นที่มาของงานวิจัยในครั้งนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของชนิดและอัตราความเข้มข้นของปุ๋ยโพแทสเซียมต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และการดูใช้ธาตุอาหารในถั่วฝักยาวไร้ค้าง

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลองและเก็บข้อมูล

เก็บตัวอย่างดินบน (0-30 เซนติเมตร) แบบ soil composite sample จากแปลงนาเกษตรกรในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ซึ่งจัดอยู่ในชุดดินเสนา (Sulfic Endoaquepts) (Land Development Department, 2018) นำมาผึ่งลมให้แห้งในโรงเรือนทดลอง แล้วแบ่งตัวอย่างดินนำไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์สมบัติดินพื้นฐานได้แก่ เนื้อดิน พีเอช ค่าการนำไฟฟ้า อินทรีย์วัตถุ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน ตามวิธีการของ National Soil Survey Center (1996) ผลวิเคราะห์สมบัติดินพื้นฐานแสดงใน Table 1 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ และ 7 ตำรับทดลอง ดังนี้ ตำรับทดลองที่ 1 ฉีดพ่นน้ำเปล่าแทนการฉีดพ่นปุ๋ยโพแทสเซียมทางใบ (ตำรับควบคุม) ตำรับทดลองที่ 2-4 ฉีดพ่นปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นปุ๋ยทางใบในอัตรา 30 มิลลิลิตรต่อกระถาง ตำรับทดลองที่ 5-7 ฉีดพ่นปุ๋ยโพแทสเซียมในเตรท (KNO_3) ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นปุ๋ยทางใบในอัตรา 30 มิลลิลิตรต่อกระถาง โดยแบ่งฉีดพ่น 2 ครั้ง ๆ ละ 15 มิลลิลิตร ซึ่งเทียบเท่าการใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมแต่ละชนิดในอัตรา 0.15, 0.30 และ 0.45 กรัมต่อกระถาง ดำเนินการทดลองในโรงเรือนทดลองของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา ซังตัวอย่างดินที่ผึ่งลมจนแห้งใส่ในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร กระถางละ 8 กิโลกรัม หยอดเมล็ดถั่วฝักยาวไร้ค้างพันธุ์ GLGC 30 กระถางละ 3 เมล็ด ให้น้ำในช่วงเช้าของทุกวัน หลังเมล็ดงอก 7 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อกระถาง เมื่อถั่วอายุได้ 10 วันหลังปลูก ใส่ปุ๋ยเกรด 15-15-15 อัตรา 0.64 กรัมต่อกระถาง (เทียบเท่าการใช้ปุ๋ยในอัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่) และเมื่อถั่วอายุได้ 25 วันหลังปลูก ให้ปุ๋ยโพแทสเซียมทั้ง 2 ชนิดโดยวิธีฉีดพ่นทางใบในอัตราความเข้มข้นตามแผนการทดลอง

และฉีดพ่นอีกครั้งเมื่อถั่วออกดอก (ที่ระยะ 36 วันหลังปลูก) เมื่อถั่วออกดอกจะเก็บผลผลิตไปเรื่อย ๆ จนกว่าต้นจะวาย โดยเริ่มเก็บผลผลิตได้ตั้งแต่วันที่ 40 ของการปลูก และแล้วเสร็จในวันที่ 52 ของการปลูก สำหรับข้อมูลพืชที่เก็บ ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักผลผลิตสดฝัก น้ำหนักผลผลิตแห้งฝัก น้ำหนักแห้งชีวมวลส่วนเหนือดิน (ลำต้นและใบ) ความเข้มข้นของโพแทสเซียมและการดูดใช้โพแทสเซียมในฝัก

การวิเคราะห์ทางเคมี

วิเคราะห์ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในฝักตามวิธีการของ Attanandana and Chanchareonsook (1999) โดยย่อยสลายตัวอย่างพืชด้วยกรดผสม 3 ชนิด (tri acid mixture: $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{SO}_4 - \text{HClO}_4$ ในอัตราส่วน 5:1:2) และนำสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายตัวอย่างมาอ่านค่าปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AA) จากนั้นคำนวณค่าการดูดสะสมโพแทสเซียมโดยนำค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมในฝักคูณกับน้ำหนักแห้งฝัก (Akinrinde and Gaizer, 2006)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละการทดลอง โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ และหา

ความสัมพันธ์ของผลผลิตและการดูดใช้โพแทสเซียมในฝักโดยวิธีการวิเคราะห์ correlation analysis

ผลการศึกษา

สมบัติของดินที่ใช้ในการทดลอง

จากการวิเคราะห์สมบัติดินเบื้องต้น (Table 1) พบว่าดินที่ใช้ทดลองมีเนื้อดินเป็นดินเหนียว ค่าพีเอชเป็นกรดจัดมาก ไม่เป็นดินเค็ม ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในระดับต่ำ ปริมาณอินทรีย์วัตถุและค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนอยู่ในระดับปานกลาง ส่วนปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ในระดับสูง (Land Classification Division, 1973) จากผลวิเคราะห์ดินที่ได้นั้น ปริมาณโพแทสเซียมในดินที่ศึกษามีค่าเท่ากับ 57.84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งอยู่ในระดับต่ำตามเกณฑ์การประเมินของ Land Classification Division (1973) ถึงแม้จะมีการใส่ปุ๋ยเกรด 15-15-15 เพิ่มเติมในระหว่างการเพาะปลูก แต่ด้วยคุณสมบัติของดินที่ศึกษาเป็นดินในอันดับเวอร์ทีซอลส์ (very fine, mixed, active, isohyperthermic Sulfaqueptic Dystraquepts) (Sukchan, 2015) ซึ่งมีองค์ประกอบของแร่ดินเหนียวกลุ่ม 2:1 อยู่สูง ลักษณะเช่นนี้ดินจะสามารถตรึงโพแทสเซียมไว้ได้มาก ดังนั้นปุ๋ยโพแทสเซียมที่ใส่ลงไปจึงมีโอกาสถูกตรึงและปลดปล่อยให้พืชนำไปใช้ได้ลดลง การเพิ่มโพแทสเซียมโดยวิธีฉีดพ่นทางใบจึงเป็นวิธีที่ช่วยให้พืชได้รับธาตุดังกล่าวในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการ

Table 1. Physio-chemical properties of soil used in the experiment

Properties	Values	Interpretation ¹
Texture	Clay	-
Soil pH (1:1)	4.78	Very strongly acid
EC _e (dS/m)	1.13	Non saline
Organic matter (g/kg)	15.60	Medium
Total nitrogen (g/kg)	1.60	Very high
Available phosphorus (mg/kg)	5.26	Low
Exchangeable potassium (mg/kg)	57.84	Low
Cation exchange capacity (cmol/kg)	16.60	Medium

¹Land Classification Division (1973)

การเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบของ ผลผลิต

การเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบของ
ผลผลิตพิจารณาจากค่าความสูง จำนวนฝักต่อต้น
น้ำหนักผลผลิตฝักสด น้ำหนักผลผลิตฝักแห้ง และชีวมวล
ส่วนเหนือดิน (ลำต้นและใบ) ของถั่วฝักยาวไร้ค้าง (Table
2) จากผลการทดลองพบว่าชนิดและอัตราความเข้มข้น
ของปุ๋ยโพแทสเซียมที่ใช้เป็นปุ๋ยทางใบนั้นมีผลให้น้ำหนัก
ผลผลิตฝักสด และชีวมวลส่วนเหนือดินของถั่วฝักยาวไร้
ค้างมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
($P \leq 0.01$) ขณะที่น้ำหนักผลผลิตฝักแห้งนั้นพบว่ามีความ
แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ค่ารับ
ทดลองที่มีการให้โพแทสเซียมในโตรทเป็นปุ๋ยทางใบใน
อัตราความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (KNO_3 -1.0%) ให้ค่า
ผลผลิตฝักสด ผลผลิตฝักแห้ง และน้ำหนักชีวมวลส่วน
เหนือดินสูงที่สุด (297.1, 28.2 และ 78.8 กรัมต่อต้น
ตามลำดับ) ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยผลผลิตสูงสุดที่ได้ไม่มีความ
แตกต่างทางสถิติกับค่ารับทดลองที่ใช้โพแทสเซียมคลอ
ไรด์อัตราความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (KCI-0.5%) และ
โพแทสเซียมในโตรทอัตราความเข้มข้น 0.5 และ 1.5
เปอร์เซ็นต์ (KNO_3 -0.5% และ KNO_3 -1.5% ตามลำดับ)
เช่นเดียวกันกับค่าเฉลี่ยชีวมวลส่วนเหนือดินสูงสุดซึ่งไม่มี
ความแตกต่างทางสถิติกับค่ารับการทดลองที่ใช้
โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (KCI-
0.5%) และโพแทสเซียมในโตรทอัตราความเข้มข้น 1.5
เปอร์เซ็นต์ (KNO_3 -1.5%)

ความเข้มข้นและการดูดใช้ธาตุอาหาร

Table 3 แสดงค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียม
และการดูดใช้โพแทสเซียมในฝัก จากการทดลองพบว่า
ชนิดของปุ๋ยโพแทสเซียมและอัตราความเข้มข้นที่ใช้มีผล
ให้ค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมและการดูดใช้
โพแทสเซียมในฝักมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง
ทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ค่ารับทดลองที่มีการให้โพแทสเซียม
คลอไรด์ในอัตราความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (KCI-1.5%)
ให้ค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมในฝักสูงที่สุด (25.6
กรัมต่อกิโลกรัม) ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับค่ารับ
ทดลองที่มีการให้โพแทสเซียมในโตรทในอัตราความ
เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (KNO_3 -1.5%) โดยมีค่าเฉลี่ยของ
ความเข้มข้นโพแทสเซียมในฝักเท่ากับ 25.5 กรัมต่อ
กิโลกรัม ด้านการดูดใช้โพแทสเซียมในฝักนั้น ค่ารับ
ทดลองที่มีการให้โพแทสเซียมในโตรทในอัตราความ
เข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (KNO_3 -1.0%) ให้ค่าการดูดใช้
โพแทสเซียมในฝักสูงที่สุด (0.68 กรัมต่อต้น) ซึ่งค่าที่ได้นี้
ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับค่ารับทดลองที่มีการให้
โพแทสเซียมในโตรทอัตราความเข้มข้น 0.5 และ 1.5
เปอร์เซ็นต์ (0.55 และ 0.65 กรัม/ต้น ตามลำดับ)

ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและการดูดใช้ โพแทสเซียม

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและ
การดูดใช้โพแทสเซียมในฝักแสดงใน Figure 1 โดยพบ
ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและ

Table 2. Effect of foliar K fertilizer on growth, yield and yield component of draw yard long bean

Methodology	Height (cm) ¹	Number of pod (pod/plant) ¹	Pod FW (g/plant) ¹	Pod DW (g/plant) ¹	Biomass (g/plant) ¹
Control	45.3	25.0	189.9 ^c	18.2 ^c	50.1 ^{cd}
KCI (0.5%)	47.6	26.0	237.8 ^{abc}	23.2 ^{abc}	73.1 ^{ab}
KCI (1.0%)	44.6	25.6	217.7 ^{bc}	21.9 ^{bc}	42.3 ^d
KCI (1.5%)	43.6	24.3	197.1 ^c	20.3 ^{bc}	40.5 ^d
KNO_3 (0.5%)	49.0	24.3	251.7 ^{abc}	24.1 ^{abc}	58.8 ^{bc}
KNO_3 (1.0%)	52.0	32.0	297.1 ^a	28.2 ^a	78.8 ^a
KNO_3 (1.5%)	50.6	29.6	277.6 ^{ab}	25.8 ^{ab}	69.1 ^{ab}
P-value	0.055	0.432	0.010	0.036	0.001
CV (%)	6.4	18.9	13.8	14.3	14.2

¹ Means within the same column followed by the same letters indicate no significant differences among treatment using by DMRT

Table 3. Effect of foliar K fertilizer on K concentration and K uptake in draw yard long bean

Methodology	K concentration in pod (g/kg) ¹	K uptake in pod (g/plant) ¹
Control	20.9 ^d	0.38 ^d
KCl (0.5%)	22.1 ^c	0.51 ^{bcd}
KCl (1.0%)	22.6 ^c	0.49 ^{cd}
KCl (1.5%)	25.6 ^a	0.52 ^{bcd}
KNO ₃ (0.5%)	22.9 ^c	0.55 ^{abc}
KNO ₃ (1.0%)	24.4 ^b	0.68 ^a
KNO ₃ (1.5%)	25.5 ^a	0.65 ^{ab}
P-value	0.001	0.001
CV (%)	2.6	14.8

¹ Means within the same column followed by the same letters indicate no significant differences among treatment using by DMRT

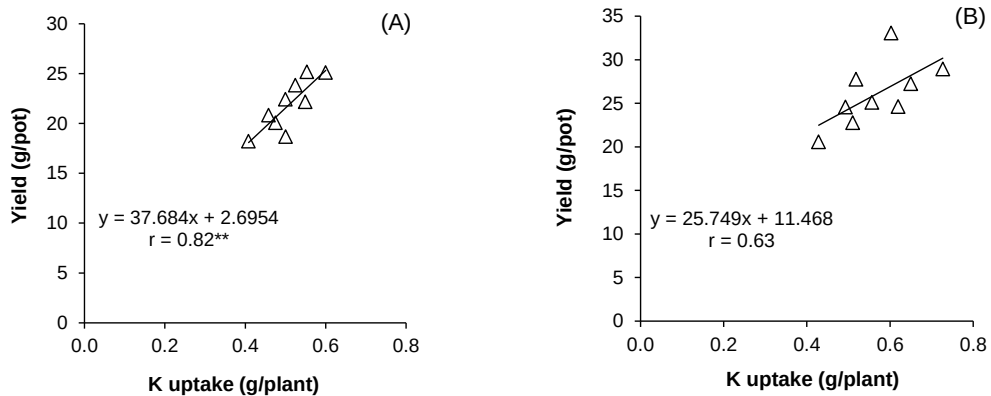


Figure 1. Relationship between yield DW and K uptake from KCl (A) and KNO₃ (B) fertilizer in draw yard long bean

การดูดใช้โพแทสเซียมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ในถั่วฝักยาวที่ได้รับโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) เป็นปุ๋ยทางใบ ขณะที่ค่ารับทดลองที่ให้โพแทสเซียมไนเตรท (KNO₃) เป็นปุ๋ยทางใบไม่พบสหสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและการดูดใช้โพแทสเซียม ($P \geq 0.05$) โดยการให้โพแทสเซียมคลอไรด์เป็นปุ๋ยทางใบให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างผลผลิตน้ำหนักฝักแห้งและการดูดใช้โพแทสเซียมเท่ากับ 0.82^{**} ส่วนการให้โพแทสเซียมไนเตรทเป็นปุ๋ยทางใบให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.63

วิจารณ์

ข้อมูลด้านการเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของปุ๋ยแต่ละชนิด ปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรทให้การเจริญเติบโต รวมถึงผลผลิตสูงกว่าการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ ทั้งความสูง น้ำหนักสดฝัก น้ำหนักแห้งฝัก และชีวมวลส่วนเหนือดิน (Table 2) โดยการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรทอัตราความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นปุ๋ยทางใบให้การเจริญเติบโต และผลผลิตของถั่วฝักยาวไร่ค้างสูงที่สุด ซึ่งเป็นผลมาจากปุ๋ยชนิดดังกล่าวที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและมีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณ

ผลผลิต (Fageria, 2001; Osotsapar, 2015) การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมในอัตราความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดเมื่อพิจารณาจากปัจจัยด้านการเจริญเติบโตและผลผลิต เนื่องจากการให้ปุ๋ยทางใบหากใช้ในความเข้มข้นสูงเกินไปจะมีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตลดลง เพราะเซลล์พืชที่สัมผัสกับปุ๋ยที่มีความเข้มข้นสูงจะมีผลให้เซลล์ เกิดอาการไหม้และตายในที่สุด ดังนั้นความเข้มข้นที่ใช้จึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการเจริญและให้ผลผลิตของพืช แต่ถึงกระนั้นข้อดีของการให้ปุ๋ยทางใบมีหลายประการ เช่น สามารถแก้ไขปัญหการขาดธาตุอาหารของพืชได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากพืชสามารถดูดซึมและลำเลียงธาตุอาหารผ่านใบเข้าสู่ท่อน้ำหรือท่ออาหารของพืช โดยเฉพาะโพแทสเซียมซึ่งกระบวนการเคลื่อนย้ายในพืชจะเกิดในท่ออาหาร (phloem) เป็นหลัก (Osotsapar, 2015) และส่งไปยังส่วนต่างๆ ที่มีความต้องการได้โดยตรง อีกประการคือการให้ปุ๋ยทางใบนั้นช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารได้อย่างเต็มที่ ลดการเปลี่ยนรูปหรือการถูกตรึงเนื่องจากปัจจัยทางดินด้านต่างๆ ที่มีผลในการลดความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหาร โดยเฉพาะธาตุโพแทสเซียมซึ่งมีโอกาสที่จะถูกตรึงโดยแร่ดินเหนียว หรืออาจถูกไล่ได้โดยธาตุที่มีวาเลนซ์สูงกว่า เช่น แคลเซียม หรือแมกนีเซียมในดิน (Fageria, 2001; Fageria *et al.* 2009) ดังนั้นการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมทางใบจึงทำให้พืชได้รับโพแทสเซียมได้อย่างเต็มที่ ซึ่งโพแทสเซียมถือเป็นธาตุที่มีความสำคัญอย่างมากต่อผลผลิต และคุณภาพของผลผลิต (Cakmak, 2005; Lester *et al.*, 2010; Marschner, 1995; Osotsapar, 2015) โดยเฉพาะในดินที่มีปริมาณโพแทสเซียมในรูปที่เป็นประโยชน์ต่ำ เช่น ดินที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เท่ากับ 57.84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งจัดอยู่ในระดับต่ำตามเกณฑ์การประเมินของ Land Classification Division (1973) การให้โพแทสเซียมเพิ่มเติมจึงมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตอย่างมาก จากการทดลองของ Fageria and Melo (2014) ได้ประเมินลักษณะของถั่ว 15 สายพันธุ์ต่อประสิทธิภาพการใช้โพแทสเซียมพบว่า การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมทางดินในรูปของโพแทสเซียมคลอไรด์อัตรา 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทำให้ผลผลิตต่อชั่ง

ผลผลิตเมล็ด จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด และค่าดัชนีการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังมีผลต่อการเพิ่มความยาวรากถึง 24 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการใช้วิธีควบคุม นอกจากนี้ Lester *et al.* (2010) ได้รายงานถึงผลของโพแทสเซียมต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของเมลอนว่า การให้โพแทสเซียมทางใบในช่วงที่เมลอนเริ่มพัฒนาผลจะช่วยปรับปรุงคุณภาพของผลผลิตได้ดีกว่าการให้ในช่วงก่อนมีการพัฒนาของผล การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมในรูปโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ให้ปริมาณผลผลิตสูงสุด ขณะที่การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมในรูป glycine amino acid potassium ให้ค่าความหวาน ปริมาณกรดแอสคอบิก และแคลโรทีนอยด์สูงที่สุด ขณะที่ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าโพแทสเซียมในไตรโทรมีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตถั่วฝักยาวไร้ค้างได้มากกว่าโพแทสเซียมคลอไรด์ เนื่องจากปุ๋ยโพแทสเซียมในไตรโทรมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบซึ่งมีสมบัติในการช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตทางลำต้น มีส่วนช่วยในการเพิ่มผลผลิตและปรับปรุงผลผลิตพืช การให้โพแทสเซียมในอัตราความเข้มข้นเพิ่มขึ้นมีผลให้พืชมีการดูดใช้ในไตรโทรมเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งส่งผลถึงปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้น (Fageria, 2001; Osotsapar, 2015) นอกจากนี้การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมยังมีผลให้พืชช่วงนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้นในสภาวะแวดล้อมที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือสูงโดยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสง และเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารประกอบกลุ่ม anti-oxidant (Dawood *et al.*, 2014; Taha and Osman, 2018)

ด้านค่าความเข้มข้นและการดูดใช้ธาตุอาหารนั้น การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมในไตรโทรมีปุ๋ยทางใบให้ค่าความเข้มข้นและการดูดใช้ธาตุอาหารสูงกว่าปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ ขณะที่ความเข้มข้นของธาตุโพแทสเซียมในฝักนั้นเพิ่มขึ้นตามอัตราความเข้มข้นของปุ๋ย โดยที่ระดับความเข้มข้นของโพแทสเซียม 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมในฝักสูงที่สุด ส่วนการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมในฝักนั้นพบว่า การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมอัตราความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าการดูดใช้โพแทสเซียมสูงที่สุด (Table 3) อัตราความ

เข้มข้นของสารละลายปุ๋ยโพแทสเซียมนี้มีอิทธิพลโดยตรงต่อความเข้มข้นของโพแทสเซียมในผลผลิต ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Sangakkara *et al.* (1996) ซึ่งศึกษาการเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของถั่วปากอ้าและถั่วแขกที่ได้รับอิทธิพลจากปุ๋ยโพแทสเซียมและอุณหภูมิระหว่างการพัฒนาเจริญเติบโตที่ต่างกันพบว่า การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมอัตราความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นมีผลให้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเนื้อเยื่อพืชเพิ่มขึ้นโดยการเพิ่มความเข้มข้นของโพแทสเซียมจาก 0.1 มิลลิโมล เป็น 0.8 และ 3.0 มิลลิโมล ทำให้โพแทสเซียมในเนื้อเยื่อถั่วปากอ้าเพิ่มขึ้น 43.5 และ 53.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโพแทสเซียมในเนื้อเยื่อถั่วแขกเพิ่มขึ้น 37.3 และ 53.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ระยะเวลาในการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมก็มีความสำคัญเช่นกัน โดย Mona *et al.* (2011) ศึกษาอิทธิพลของโพแทสเซียมซัลเฟต ต่อผลผลิตและคุณภาพถั่วของถั่วปากอ้าพบว่า การให้โพแทสเซียมซัลเฟตที่ระยะ 3-4 สัปดาห์หลังหวานเมล็ด ระยะก่อนดอกบาน และการให้ที่ระยะ 3-4 สัปดาห์หลังหวานเมล็ด ร่วมกับที่ระยะก่อนดอกบานส่งผลให้ถั่วปากอ้ามีการสะสมโพแทสเซียมในเมล็ดเพิ่มขึ้น 5.84, 6.12 และ 6.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ขณะที่ Ren *et al.* (2013) ศึกษาการจัดการปุ๋ยโพแทสเซียมในการปลูก oilseed ของประเทศจีนพบว่า การดูใช้โพแทสเซียมจะมีค่าสูงสุดที่ระยะการพัฒนาดอก ฝักขณะที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของแต่ละระยะในการเจริญเติบโตค่อนข้างมีความแปรปรวน และความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเนื้อเยื่อส่วนต้น ราก ใบสด และใบแห้งต่างก็มีแนวโน้มลดลงเมื่อเข้าสู่ระยะสุกแก่ นอกจากนี้ Traithipchawalit *et al.* (2018) รายงานผลผลิตของถั่วพันธุ์ K95-84 ที่ได้รับปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์และโพแทสเซียมไฮโอซัลเฟตในอัตราที่แตกต่างกัน โดยการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์อัตรา 7.5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ทำให้อ้อยมีการดูใช้โพแทสเซียมสูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมไฮโอซัลเฟตในอัตราเดียวกัน และการให้ปุ๋ยโดยวิธีการฉีดพ่นทางใบให้ค่าการดูใช้โพแทสเซียมสูงกว่าการให้ทางดิน ขณะที่ Taktuan *et al.* (2018) รายงานว่า ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในผลผลิตข้าวมีสหสัมพันธ์เชิง

เส้นกับน้ำหนักผลผลิต โดยให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) สูงที่สุดเมื่อเทียบกับธาตุไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เนื่องจากโพแทสเซียมมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง เพิ่มพื้นที่ใบและปริมาณคลอโรฟิลล์ และช่วยเพิ่มจำนวนเมล็ดและน้ำหนักเมล็ด และจากข้อมูลที่ได้จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการให้โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCI) เป็นปุ๋ยทางใบให้ค่าให้ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นสูงกว่าการให้โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) (Figure 1) นั่นอาจเพราะความเข้มข้นของโพแทสเซียมในสารทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน โดยโพแทสเซียมคลอไรด์นั้นมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่โพแทสเซียมไนเตรทมีความเข้มข้นของโพแทสเซียมในสาร 46 เปอร์เซ็นต์ จึงส่งผลให้การดูใช้โพแทสเซียมของถั่วฝักยาวไร่ค้ำที่ได้รับโพแทสเซียมคลอไรด์เป็นปุ๋ยทางใบมีค่าสูงกว่าการดูใช้โพแทสเซียมไนเตรท ซึ่งจากข้อมูลชี้ให้เห็นว่าชนิดของปุ๋ย ปริมาณการใช้ รวมถึงระยะเวลาในการฉีดพ่นล้วนมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต รวมถึงการดูใช้ธาตุอาหารทั้งสิ้น

แต่ทั้งนี้การตัดสินใจเลือกชนิดของปุ๋ยที่นำมาใช้ยังขึ้นกับราคาปุ๋ยที่จำหน่ายในท้องตลาด จากการสอบถามราคาปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์และโพแทสเซียมไนเตรทชนิดปุ๋ยเกล็ดที่จำหน่ายในท้องที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยาพบว่า ปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรทมีราคาจำหน่าย 55 บาทต่อกิโลกรัม ส่วนโพแทสเซียมคลอไรด์ราคาจำหน่าย 45 บาทต่อกิโลกรัม และเมื่อเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการทดลองที่ได้สูงสุดของปุ๋ยแต่ละชนิดพบว่า การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรทเป็นปุ๋ยทางใบให้ผลผลิตฝักสดสูงกว่าการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหากมีการต่อยอดโดยนำไปทดสอบในสภาพแปลงทดลองเกษตรกรจะสามารถคำนวณความคุ้มค่าจากการใช้ปุ๋ยแต่ละประเภทได้ชัดเจนเพิ่มขึ้น

สรุป

จากการศึกษาการให้ปุ๋ยโพแทสเซียมทางใบต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและการดูใช้โพแทสเซียมในถั่วฝักยาวสามารถสรุปได้ว่า การให้ปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรท

รพเป็นปุ๋ยทางใบช่วยให้ถั่วฝักยาวไร้ค้างมีการเจริญเติบโต
ผลผลิต และการดูดใช้ธาตุอาหารสูงกว่าการให้ปุ๋ย
โพแทสเซียมคลอไรด์ ที่อัตราความเข้มข้นของโพแทสเซียม
1.0 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มช่วยให้การเจริญเติบโต ผลผลิต
รวมทั้งการดูดใช้ธาตุอาหารมีค่าสูงสุด และเมื่อพิจารณา
ชนิดและอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต
ผลผลิต องค์ประกอบของผลผลิต รวมทั้งการดูดใช้ธาตุ
อาหารสามารถสรุปได้ว่าการให้โพแทสเซียมในเตรทเป็น
ปุ๋ยทางใบความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นอัตราที่
เหมาะสมที่สุดในการผลิตถั่วฝักยาวไร้ค้าง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ศูนย์
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและ
บริการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความอนุเคราะห์
ใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ตัวอย่างทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Akinrinde, E.A. and T. Gaizer. 2006. Differences in
the performance and phosphorus use
efficiency of some tropical rice (*Oryza sativa*
L.) varieties. Pakistan Journal of Nutrition
5(3): 206-211.

Attanandana, T. and J. Chanchareonsook. 1999.
Manual of Soil and Plant Analysis.
Department of Soil Science, Faculty of
Agriculture, Kasetsart University, Bangkok,
108 p. (in Thai)

Cakmak, I. 2005. The role of potassium in alleviating
detrimental effects of abiotic stresses in
plants. Journal of Plant Nutrition and Soil
Science 168: 521-530.

Chalemthai, P. and C. Santasup. 2018. Effects of
potassium fertilizer on quality and yield of
sweet corn in Ngao district, Lampang
province. Journal of Agriculture 34(1): 29-
40. (in Thai)

Dawood, M.G., M.T. Abdelhamid and U. Schmidhalter.
2014. Potassium fertiliser enhances the salt-
tolerance of common bean (*Phaseolus*
vulgaris L.). The Journal of Horticultural
Science and Biotechnology 89(2): 185-192.

Devlin, R.M. and F.H. Witham. 1986. Plant Physiology.
CBS Publishers, New Delhi. 558 p.

Fageria, V. D. 2001. Nutrient interaction in crop
plants. Journal of Plant Nutrition 24(8) :
1269-1290.

Fageria, N. K. and L. C. Melo. 2014. Agronomic
evaluation of dry bean genotypes for
potassium use efficiency. Journal of Plant
Nutrition 37(12): 1899-1912.

Fageria, N.K., M.P. Barbosa Filho, A. Moreira and C.
M. Guimaraes. 2009. Foliar fertilization of
crop plants. Journal of Plant Nutrition 32(6):
1044-1064.

Huda, A.I, U.A. El-Behairy, M. EL-Desuki, M.O. Bakry
and A.F. Abou-Hadid. 2010. Response of
green bean to fertilization with potassium
and magnesium. Research Journal of
Agriculture and Biological Sciences 6(6) :
834-839.

Hussien, M.M., A.I. Rezk, H.M. Mehanna and A.B. El-
Nasharty. 2012. Response of castor bean
plants to potassium foliar application and
treated sewage water. Australian Journal of
Basic and Applied Sciences 6(7): 611-616.

Kasetsart University Research and Development
Institute. 2018. Draw yard long bean cv.
GLGC 30. (Online). Available:

- <https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=27975>
(January 5, 2018). (in Thai)
- Land Classification Division. 1973. Soil Interpretation Handbook for Thailand. Land Development Department, Ministry of Agriculture and Cooperative, Bangkok, 135 p.
- Land Development Department. 2018. Soil map of Phra Nakhon Si Ayutthaya province. (Online). Available: http://oss101.ldd.go.th/web_thaisoilinf/central/Ayutthaya/ay_map/ay_series/ay_prov58A.jpg (January 5, 2018). (in Thai)
- Lester, G.E., J.L. Jifon and D.J. Makus. 2010. Impact of potassium nutrition on postharvest fruit quality: melon (*Cucumis melo* L.) case study. Plant and Soil 335: 117-131.
- Marschner, H. 1995. Functions of mineral nutrients: macronutrients. pp. 299-312. In: H. Marschner (ed.). Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed. Academic Press, New York.
- Mona, A. M., A. M. Sabah and A. M. Rehab. 2011. Influence of potassium sulfate on faba bean yield and quality. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 5(3): 87-95.
- National Soil Survey Center. 1996. Soil Survey Laboratory Methods Manual. Soil Survey Investigations Report No. 42, Version 3.0. Natural Resources Conservation Service, USDA, Washington, D.C.
- Osotsapar, Y. 2015. Plant Nutrition. Kasetsart University Press, Bangkok. 548 p. (in Thai)
- Ren, T., J. Lu, H. Li, J. Zou, H. Xu, X. Liu and X. Li. 2013. Potassium-fertilizer management in winter oilseed-rape production in China. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 176: 429-440.
- Sangakkara, R., U. A. Hartwig and J. Nosberger. 1996. Growth and symbiotic nitrogen fixation of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* as affected by fertiliser potassium and temperature. Journal of the Science of Food and Agriculture 70: 315-320.
- Sinsiri, N. and W. Sinsiri. 2012. Standard yield trails for cowpea development to the new variety (MSU2). Khon Kaen Agriculture Journal 40 (Supplement 4): 53-58. (in Thai)
- Sukchan, S. 2015. Soil classification for rice. pp. 79-114. In: Y. Osotsapar (ed.). Soil Plant Nutrient and Fertilizer of Rice. Soil and Fertilizer Society of Thailand, Bangkok. (in Thai)
- Techawongstien, S. and C. Lapjit. 2018. Draw yard long bean cv. KKU 40. (Online). Available: http://www.plantbreedingkku.com/images/column_1422444944/KKU40.pdf (January 5, 2018). (in Thai)
- Taha, S. S. and A. S. Osman. 2018. Influence of potassium humate on biochemical and agronomic attributes of bean plants grown on saline soil. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 93(5): 545-554.
- Taktuan, N., S. Thanachit, S. Anusornpornperm and I. Kheoruenromne. 2018. Effect of cassava starch waste and potassium on Khao Dowk Mali 105 rice. Khon Kaen Agriculture Journal 46(6): 1147-1158. (in Thai)
- Traithipchawalit, P., S. Anusornpornperm, I. Kheoruenromne and S. Thanachit. 2018. Growth and yield response of virgin cane, K95-84 variety, to potassium chloride and potassium thiosulfate. Khon Kaen Agriculture Journal 46(5): 991-1000. (in Thai)
- Tran, T.S, X.A. Le, R. Yoav and T.H. Harmen. 2012. Foliar potassium nitrate application for paddy rice. Better Crops 96(1): 29-31.

ผลของการเสริม *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 ต่อคุณภาพการหมักของ
หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก โดยวิธีวัดแก๊สในห้องปฏิบัติการ
และการย่อยสลายในกระเพาะรูเมน

Effects of *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 Inoculation on Fermentation Quality
of Napier Pakchong 1 Silage by *In vitro* Gas Production Technique
and Ruminant Degradability

นริศรา คงสุข¹ ศิวาส สังข์ศรีทวงษ์² เวทชัย เปล่งวิทยา² กิตติมา กองทอง²
และ เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ^{1*}

Narissara Kongsuk¹, Siwat Sangsritavong², Vethachai Plengvidhya², Kittima Kongtong²
and Saowaluck Yammuen-art^{1*}

¹ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

²ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย จ. ปทุมธานี 12120

²National center for genetic engineering and biotechnology, Thailand Science Park, Pathum Thani 12120, Thailand

*Corresponding author: Email: saowaluck.y@cmu.ac.th

(Received: 9 October 2018; Accepted: 15 June 2019)

Abstract: The aims of this study were to evaluate fermentation quality, chemical compositions and ruminal degradability of Napier Pakchong 1 ensiled with or without *Lactobacillus plantarum* BCC 65951. The grass was harvested at 45 days of maturity. The silages were divided into 2 groups i.e. Napier Pakchong 1 silage (control) and Napier Pakchong 1 silage inoculated with *L. plantarum* BCC 65951 at 10^7 CFU/g fresh grass (LAB). The samples were collected at 21 days after ensiling. The fermentation quality was evaluated and chemical compositions were analyzed by proximate analysis. Detergent fiber method was employed to determine fiber compositions. Ruminal Degradability was determined using *in vitro* gas production technique. Ruminal fluid was obtained from 4 rumen fistulated Thai native cattle. Gas production was recorded after incubation at 2, 4, 8, 10, 12, 24, 48, 72 and 96 hr. The evaluation of fermentation quality showed that the concentrations of lactic acid, acetic acid propionic acid and ammonia nitrogen were significantly higher in LAB group when compared to control group ($P<0.001$). From the result of the chemical composition, control group showed significantly higher dry matter contents when compared to LAB group ($P<0.05$). Moreover, gas production at 2 hr after incubation was significantly greater in LAB groups ($P<0.05$). However, differences among groups in microbial biomass yield (MBY), metabolizable (ME), organic matter (OMD) and short chain fatty acids (SCFA) were not significant.

Based on this experiment, it could be concluded that the inoculation of *L. plantarum* BCC 65951 as a starter culture for the fermentation of Napier Pakchong 1 led to a decrease in dry matter content and increased lactic acid, acetic acid, propionic acid and ammonia nitrogen concentrations and faster ruminal degradability during the first 2 hr of incubation.

Keywords: *Lactobacillus plantarum* BCC 65951, Napier Pakchong 1 silage, *in vitro* gas production technique, Thai native

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาคุณภาพการหมัก องค์ประกอบทางเคมีและการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 ที่เสริมและไม่เสริม *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 โดยทำการตัดหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 ที่อายุ 45 วัน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มที่ 1 หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมักแบบไม่เติม *L. plantarum* BCC 65951 (control) และกลุ่มที่ 2 หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมักแบบเติม *L. plantarum* BCC 65951 ในปริมาณ 10^7 CFU ต่อกรัมหญ้าสด (LAB) เมื่อหญ้าหมักมีระยะการหมักได้ 21 วัน นำหญ้าหมักที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพการหมัก องค์ประกอบทางเคมีโดยวิธี Proximate analysis และวิเคราะห์เยื่อใยโดยวิธี Detergent fiber method และวิเคราะห์การย่อยสลายในกระเพาะรูเมนโดยวิธี *in vitro* gas production technique โดยใช้ของเหลวจากกระเพาะรูเมนของโคพื้นเมืองเจาะกระเพาะเพศผู้ จำนวน 4 ตัว โดยบ่มตัวอย่างเป็นเวลา 2, 4, 8, 10, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง จากการศึกษาคูณภาพการหมัก พบว่า ปริมาณกรดแลกติก กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิกและแอมโมเนียไนโตรเจนของ LAB สูงกว่า control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) จากค่าองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก พบว่า ปริมาณวัตถุแห้งของ control มีค่าสูงกว่า LAB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ปริมาณแก๊สสุทธิที่เกิดขึ้นในชั่วโมงที่ 2 ของ LAB สูงกว่า control ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดจากการหมัก ค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ การย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าการใช้ *L. plantarum* BCC 65951 ในหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก ทำให้มีปริมาณวัตถุแห้งลดลง และยังคงผลให้หญ้าหมักมีกรดแลกติก กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และแอมโมเนียไนโตรเจนสูง อีกทั้งยังมีการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนช่วง 2 ชั่วโมงแรกได้ดีกว่าอีกด้วย

คำสำคัญ: *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก การผลิตแก๊สในหลอดทดลอง โคพื้นเมือง

คำนำ

หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 เป็นพืชอาหารสัตว์ที่นิยมปลูกมาก เนื่องจากมีลำต้นและใบอ่อนนุ่ม ทำให้โคชอบกิน และในแง่ของคุณค่าทางโภชนาการ พบว่า หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 ที่อายุการตัด 45 วัน มีวัตถุแห้ง 22.33% โปรตีน 9.16% และไขมัน 3.17% (Yammuen-art *et al.*, 2016) แต่การเจริญเติบโตของพืชอาหารสัตว์นั้นแปรตามฤดูกาล จึงทำให้มีพืชอาหารสัตว์ไม่สม่ำเสมอตลอดทั้งปี การเก็บถนอมพืชอาหารสัตว์ที่มีมากเกินไปในฤดูฝนไว้ใน

รูปของหญ้าหมัก เพื่อให้มีพืชอาหารสัตว์ใช้อย่างพอเพียง ในฤดูที่ขาดแคลนพืชสดจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง การผลิตหญ้าหมักที่มีคุณภาพดีจำเป็นต้องอาศัยปัจจัยหลายประการ เช่น มีความชื้นที่เหมาะสม แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้สูง ตลอดจนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก (McDonald *et al.*, 1991) กระบวนการหมักจะเกิดขึ้นช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติกที่มีติดมากับต้นพืช การเติมแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติกลงไปเพิ่มจะทำให้กระบวนการหมักเสร็จสิ้นสมบูรณ์ได้อย่างรวดเร็ว (Weinberg *et al.*, 1993) และยังสามารถลด

การสูญเสียโภชนะของพืชในระหว่างกระบวนการหมักได้อีกด้วย แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติกที่นิยมใช้ในการผลิตพืชหมัก คือ *Lactobacillus plantarum* การเสริม *L. plantarum* 16.18×10^7 cfu ต่อกรัม ลงในหนุ่เนเปียร์มีผลทำให้โปรตีน สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม คือ 10.63 ± 0.75 เทียบกับ 7.70 ± 0.51 (Arasu *et al.*, 2014) และจากการศึกษาผลของการเสริม *L. plantarum* 1×10^6 CFU ต่อกรัม ของหนุ่เนเปียร์อัลฟาต่อการย่อยได้โดยวิธี *in vitro* gas production technique พบว่า การเสริม *L. plantarum* มีผลทำให้เกิดปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดจากการหมัก (microbial biomass yield) สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม (47.3 เทียบกับ 43.7 มิลลิกรัม microbial DM/100mg truly digested DM) (Contreras-Govea *et al.*, 2013) ดังนั้นแสดงให้เห็นได้ว่าการเสริม *L. plantarum* ในหนุ่เนเปียร์หมักทำให้คุณภาพขององค์ประกอบทางเคมีและการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนดีขึ้น นอกจากนี้การศึกษาด้านการเจริญเติบโตในโค พบว่าโคที่ได้รับข้าวโพดหมักในกลุ่มที่ใช้ *L. plantarum* ร่วมกับ *Enterococcus faecium* เป็นต้นเชื้อมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม (Fellner *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังมีการศึกษาทดลองเชื้อ *L. plantarum* เพื่อผลิตพืชอาหารสัตว์หมักอยู่ไม่มากนัก ซึ่ง *L. plantarum* BCC 65951 เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติกซึ่งคัดเลือกได้จากอ้อยอาหารสัตว์หมักที่ผลิตในประเทศไทย โดยศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ได้ทดสอบแล้วว่าเป็นต้นเชื้อที่มีคุณภาพดี ดังนั้นในการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพการหมัก องค์ประกอบทางเคมีและการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนของหนุ่เนเปียร์ปากช่อง 1 ที่เสริมและไม่เสริม *L. plantarum* BCC 65951

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเชื้อ ในงานวิจัยนี้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* BCC 65951 ที่คัดเลือกได้จากอ้อยอาหารสัตว์หมัก โดยศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ทำการผสมต้นเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^9 CFU/มิลลิลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำเกลือเข้มข้น (NaCl)

0.85% ปริมาณ 10 ลิตร เพื่อให้ได้ต้นเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^7 CFU/มิลลิลิตร หลังจากนั้นเขย่าผสมให้เข้ากันดี ฟันลงในหนุ่เนเปียร์ที่สับแล้วปริมาณ 1,000 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้ทั่ว เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อที่ใช้เท่ากับ 10^7 CFU ต่อกรัมหนุ่เนเปียร์ โดยจะมีอัตราส่วนที่ใช้ต้นเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^7 CFU 10 มิลลิลิตร ต่อ หนุ่เนเปียร์ 1 กิโลกรัม (Mayr-Harting *et al.*, 1972)

การเตรียมหนุ่เนเปียร์หมัก ตัดหนุ่เนเปียร์ปากช่อง 1 อายุ 45 วัน ให้มีขนาดชิ้นละประมาณ 2-3 เซนติเมตร แบ่งหนุ่เนเปียร์ออกเป็น 2 กลุ่ม ในแต่ละกลุ่มประกอบไปด้วย 3 ซ้ำ คือ

กลุ่มที่ 1 หนุ่เนเปียร์ปากช่อง 1 หมักแบบไม่เติม *L. plantarum* BCC 65951 (control)

กลุ่มที่ 2 หนุ่เนเปียร์ปากช่อง 1 หมักแบบเติม *L. plantarum* BCC 65951 ที่ความเข้มข้น 10^7 CFU ต่อกรัมหนุ่เนเปียร์สด (LAB)

นำไปหมักใส่ถุง 2 ชั้น ขึ้นในเป็นถุงสุญญากาศ 200 ไมครอน และขึ้นนอกเป็นถุงกระสอบ โดยบรรจุหนุ่เนเปียร์ 25 กิโลกรัม กดอัดให้แน่น จากนั้นทำการดูดอากาศออกให้หมด เพื่อให้มีสภาพไร้ออกซิเจน มัดถุงให้แน่นด้วยเชือกฟาง

สุ่มตัวอย่างหนุ่เนเปียร์หมักที่อายุการหมัก 21 วันอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและการหาการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนโดยวิธี *in vitro* gas production technique ต่อไป

การวิเคราะห์คุณภาพการหมัก นำตัวอย่างที่ได้จากการทดลองแบบสดตัวอย่างละ 10 กรัม วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีการของ Bal *et al.* (1997) โดยเครื่อง pH meter ยี่ห้อ Denver รุ่น UB-10 นำตัวอย่างแบบสดตัวอย่างละ 50 กรัม ไปวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acid, VFA) ประกอบด้วย กรดอะซิติก (acetic acid) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และกรดบิวทิริก (butyric acid) โดยใช้เครื่อง gas chromatography (GC) รุ่น Shimadzu GC-148 และวิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติก (lactic acid) โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) รุ่น Serial 1110 ส่วนการวิเคราะห์แอมโมเนีย

ไนโตรเจน (ammonia nitrogen, $\text{NH}_3\text{-N}$) นำตัวอย่างพืชหมักสด 10 กรัม บั่นร่วมกับสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4) 0.1 N ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น แล้วนำสารที่ได้ไปกลั่นด้วยเครื่อง Tecator Auto-Kjeldahl analyzer โดยมีโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 40% เป็นตัวจับไนโตรเจน และหลังจากการกลั่นนำมาไทเทรตด้วยกรดเกลือ (HCl) ความเข้มข้น 0.1 N (Chen *et al.*, 1994)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ตัวอย่างอาหารที่สุ่มเก็บนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ วัตถุแห้ง (dry matter, DM) อินทรีย์วัตถุ (organic matter, OM) โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) ไขมัน (ether extract, EE) และเยื่อใยหยาบ (crude fiber, CF) ตามวิธี Proximate analysis (AOAC, 2000) วิเคราะห์เยื่อใยที่เป็นผนังเซลล์ (neutral detergent fiber, NDF) ลิกโนเซลลูโลส (acid detergent fiber, ADF) ลิกนิน (acid detergent lignin, ADL) ตามวิธี Detergent fiber method (Van Soest *et al.*, 1991)

การหาการย่อยได้โดยวิธี *in vitro* gas production technique: เก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนของโคพื้นเมืองเพศผู้ ที่ผ่าตัดเจาะกระเพาะรูเมน (rumen fistulated Thai native beef cattle) จำนวน 4 ตัว อายุ 8-10 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 249 ± 31 กิโลกรัม ที่ได้รับอาหารข้นวันละ 1 กิโลกรัม และอาหารหยาบเป็นหญ้าหมักให้กินเต็มที ทำการเก็บของเหลวจากกระเพาะรูเมนช่วงก่อนให้อาหารเช้าแล้วนำมาผสมกับสารละลาย buffer ที่เตรียมไว้ (Blümmel *et al.*, 1997; Menke *et al.*, 1979) บ่มสารละลาย rumen liquor buffer จำนวน 30 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีตัวอย่างอาหารซึ่งบดผ่านตะแกรง 1 มิลลิเมตร ประมาณ 200 มิลลิกรัม นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส อ่านค่าแก๊สที่เวลา 2, 4, 8, 10, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง จากนั้นนำมาคำนวณค่าแก๊สสุทธิ ค่าการย่อยสลายของตัวอย่างตามสมการ $P = a + b(1 - e^{-ct})$

P คือ ค่าการสลายตัวได้ที่ช่วงเวลาต่างกัน (%)

A คือ ค่าการย่อยสลายของส่วนที่ละลายได้ทันที (%)

B คือ ค่าการย่อยสลายของส่วนที่ไม่ละลายแต่สามารถเกิดการหมักย่อยได้ (%)

C คือ อัตราการย่อยสลายของอาหารส่วน B (fraction/h)

T คือ ช่วงเวลา (hr)

วัดปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดจากการหมัก (microbial biomass yield: MBY) โดยบ่มตัวอย่างที่ 24 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างที่เหลือจากการย่อยซึ่งจะเป็นส่วนที่ย่อยไม่ได้แบบปรากฏ (apparent undegradable substrate) ไปหักออกจากน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น ซึ่งจะได้ค่าปริมาณอาหารที่ย่อยสลายปรากฏ (apparent degradable substrate) จากนั้นนำส่วนที่ย่อยไม่ได้แบบปรากฏไปต้มกับสารละลาย NDS (neutral detergent solution) แล้วนำตัวอย่างที่เหลือซึ่งจะเป็นส่วนที่ไม่ย่อยสลายอย่างแท้จริง (true undegradable substrate) ไปหักกับตัวอย่างเริ่มต้นก็จะได้ค่าการย่อยได้ที่แท้จริง (True degraded substrate) จากนั้นคำนวณ microbial biomass yield (mg) จากสมการ Microbial biomass yield (mg) = True degraded substrate - Apparent degradable substrate (Blümmel *et al.*, 1997)

คำนวณค่าการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ (OMD) และค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) โดยสมการของ Menke and Steingass (1988) คือ

$$\text{ME (MJ/Kg DM)} = 2.20 + 0.136\text{Gv} + 0.0057\text{CP} + 0.00029\text{CF}$$

$$\text{OMD (\%)} = 15.38 + 0.8453\text{Gv} + 0.0595\text{CP} + 0.0675\text{XA}$$

$$\text{SCFA (mol)} = 0.0239\text{Gv} - 0.0601$$

เมื่อ Gv = ปริมาณแก๊ส (มิลลิลิตร) บ่มที่ 24 ชั่วโมง

CP = ปริมาณโปรตีน (g/kg DM)

CF = ปริมาณเยื่อใยหยาบ (g/kg DM)

XA = ปริมาณเถ้า (g/kg DM)

การวิเคราะห์ทางสถิติ ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยใช้สถิติค่าเฉลี่ยของกลุ่มการทดลอง 2 กลุ่มอิสระต่อกัน (t-test for Independent Sample) ตามหลักการของ Steel and Torrie (1980)

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการประเมินคุณภาพการหมัก (Table 1) พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และ ปริมาณกรดบิวทริกของหญ้าหมักกลุ่มไม่เสริม (control) และหญ้าหมักกลุ่มที่เสริม *L. plantarum* (LAB) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

หญ้าหมักที่เสริม *L. plantarum* (LAB) มีปริมาณกรดแลกติก กรดอะซิติก และโพรพิโอนิก สูงกว่าหญ้าหมักกลุ่มไม่เสริม (control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) คือ 3.22 เทียบกับ 1.09, 0.13 เทียบกับ 0.04 และ 0.19 เทียบกับ 0.02% ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก *L. plantarum* เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม facultative heterofermentative lactic acid bacteria นอกจากนี้จะสามารถผลิตกรดแลกติก และยังสามารผลิตกรดอะซิติกได้ด้วย และยังสามารถเปลี่ยนกรดแลกติกเป็นกรดอะซิติก และโพรพิโอนิกจึงอาจจะส่งผลให้ปริมาณกรดอะซิติกและโพรพิโอนิกสูงกว่ากลุ่มควบคุม (Hoffman and Ocker, 1997; Martinez-Campos and Torre, 2002; Whitlock *et al.*, 2000)

นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบว่าหญ้าหมักที่เสริม *L. plantarum* (LAB) มีแอมโมเนียไนโตรเจนสูงกว่าหญ้าหมักกลุ่มไม่เสริม (control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) คือ 2.04 เทียบกับ 1.48 g/kg DM และ 145.57 เทียบกับ 106.72 g/kg TDN ตามลำดับ อาจเป็น

ผลของ *L. plantarum* ที่เสริมมีการเร่งกระบวนการหมักมีการ proteolysis protein ทำให้เกิดการสูญเสียโปรตีนเพื่อสร้างแอมโมเนียระหว่างการหมัก (Phiri *et al.*, 2007) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชที่มีความชื้นสูงจะมีการผลิต non protein nitrogen ในระหว่างกระบวนการหมักมากขึ้น (Adesoji *et al.*, 2010)

เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าหมัก (Table 2) พบว่า หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก (control) มีปริมาณของวัตถุแห้ง (DM) สูงกว่าหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก ที่เสริม *L. plantarum* (LAB) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 16.42 ± 0.53 เทียบกับ $14.89 \pm 0.79\%$ ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหญ้าหมักที่เสริมแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกมีกระบวนการย่อยสลายมากกว่ากลุ่มควบคุม จึงมีการผลิตน้ำออกมามากขึ้นส่งผลทำให้วัตถุแห้งลดลง (Basso, 2013) และเห็นได้ว่าปริมาณเยื่อใยของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก ที่เสริม *L. plantarum* (LAB) มีแนวโน้มลดลงกว่าหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก (control) เพราะว่าจุลินทรีย์ที่เพิ่มจำนวนมากขึ้นมีการหลั่งเอนไซม์ ย่อยสลายเยื่อใยในระหว่างการหมัก (Ni *et al.*, 2014)

เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าหมัก (Table 2) พบว่า หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก (control) มีปริมาณของวัตถุแห้ง (DM) สูงกว่าหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก ที่เสริม *L. plantarum* (LAB) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 16.42 ± 0.53 เทียบกับ $14.89 \pm 0.79\%$

Table 1. pH value, lactic acid, volatile fatty acid and ammonia nitrogen of Napier Pakchong 1 grass silage with or without *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 inoculation

Item	Treatment		SEM	P-value
	Control	LAB		
pH	4.37	4.37	0.033	0.990
Lactic acid (%)	1.09 ^b	3.22 ^a	0.478	<0.01
Acetic acid (%)	0.04 ^b	0.13 ^a	0.014	<0.01
Propionic acid (%)	0.02 ^b	0.19 ^a	0.028	<0.01
Butyric acid (%)	0.09	0.04	0.013	0.097
NH ₃ -N				
(g/kg DM)	1.48 ^b	2.04 ^a	0.088	<0.01
(g/kg TN)	106.70 ^b	145.57 ^a	6.158	<0.01

LAB: *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 inoculation, TN: Total nitrogen

^{a, b} : Means along row among treatment with different superscripts are significantly different at $P<0.05$

ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหญ้าหมักที่เสริมแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกมีกระบวนการย่อยสลายมากกว่ากลุ่มควบคุม จึงมีการผลิตน้ำออกมามากขึ้น ส่งผลทำให้วัตถุแห้งลดลง (Basso, 2013) และเห็นได้ว่าปริมาณเยื่อใยของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมักที่เสริม *L. plantarum* (LAB) มีแนวโน้มลดลงกว่าหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก (control) เพราะว่าจุลินทรีย์ที่เพิ่มจำนวนมากขึ้นมีการหลั่งเอนไซม์ย่อยสลายเยื่อใยในระหว่างการหมัก (Ni *et al.*, 2014)

ค่าการย่อยสลายในกระเพาะรูเมน พบว่า ค่าปริมาณแก๊สสุทธิในช่วง 2 ชั่วโมงที่ 2 ของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมักที่เสริม *L. plantarum* (LAB) สูงกว่าหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก (control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือ 2.68 ± 0.24 เทียบกับ 1.95 ± 0.20 มิลลิลิตร เนื่องจากการสลายในช่วง 2 ชั่วโมงแรกนั้นเป็นการย่อยสลายของส่วนที่ละลายได้ง่าย เช่น คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน (Menke and Steingass, 1988) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ คาร์โบไฮเดรตที่ไม่มีโครงสร้าง (non structural carbohydrate, NSC) ในหญ้าหมักของกลุ่ม LAB ที่มี

แนวโน้มสูง จึงทำให้สามารถผลิตแก๊สได้มากกว่า ดังแสดงใน Table 3

อย่างไรก็ตามปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก (MBY) ของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมักที่ไม่เสริมและหญ้าหมักที่เสริม *L. plantarum* BCC 65951 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) คือ 71.14 ± 3.64 เทียบกับ 67.85 ± 4.41 มิลลิกรัม และ 55.08 ± 6.75 เทียบกับ $50.38 \pm 6.96\%$ of true degraded substrate นอกจากนี้ยังพบว่าค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ME) การย่อยสลายของอินทรีย์วัตถุ (OMD) และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (SCFA) ของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมักที่เสริม *L. plantarum* (LAB) และหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก (control) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ferreira *et al.* (2013) ที่รายงานว่า การเสริมต้นเชื้อไม่มีผลต่อ *in vitro* DM digestibility ในหญ้าเนเปียร์ ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการหมักที่มีการเสริมต้นเชื้อ LAB สามารถช่วยย่อยสลายได้เพียงส่วนที่ละลายได้ แต่ไม่สามารถช่วยย่อยเซลลูโลสได้ จึงไม่มีผลต่อการย่อยสลายที่เกิดขึ้นในกระเพาะรูเมนได้ (Chen *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2015)

Table 2. Chemical composition (%DM basis) of Napier Pakchong 1 grass silage with or without *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 inoculation

Item	Ensiled		SEM	P-value
	Control	LAB		
Dry matter (%)	16.42 ± 0.53^a	14.89 ± 0.79^b	0.345	0.013
Chemical composition (%DM basis)				
Organic matter	90.10 ± 1.19	89.21 ± 1.02	0.333	0.195
Crude protein	8.67 ± 0.71	8.74 ± 0.26	0.148	0.830
Ether extract	4.83 ± 0.74	5.00 ± 1.13	0.264	0.769
Crude fiber	33.60 ± 1.01	33.40 ± 1.57	0.366	0.801
Non structural carbohydrate	7.26 ± 0.99	10.25 ± 2.40	0.827	0.061
Ash - free neutral detergent fiber	71.20 ± 1.58	67.86 ± 4.20	1.008	0.098
Ash - free acid detergent fiber	47.08 ± 1.49	45.30 ± 3.22	0.546	0.442
Acid detergent lignin	7.22 ± 0.68	6.74 ± 0.54	0.184	0.209
Hemi-cellulose	24.12 ± 2.63	22.56 ± 2.11	0.697	0.285
Cellulose	49.76 ± 0.71	49.34 ± 2.18	0.451	0.666
Lignin	2.63 ± 1.06	4.05 ± 1.16	0.369	0.060

LAB: *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 inoculation, Non structural carbohydrate = %OM - %EE - %CP - %NDF

^{a, b}: Means along row among treatment with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$

Table 3. Ruminal Degradability of Napier Pakchong 1 grass silage with or without *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 inoculation

Item	Ensiled		SEM	P-value
	Control	LAB		
Gas production (ml)				
at 2 hr	1.95 ± 0.20 ^b	2.68 ± 0.24 ^a	0.183	0.016
at 4 hr	3.23 ± 0.41	3.83 ± 0.36	0.195	0.131
at 8 hr	6.09 ± 0.54	7.05 ± 0.77	0.326	0.151
at 10 hr	7.06 ± 0.41	8.02 ± 0.67	0.296	0.103
at 12 hr	9.01 ± 0.82	9.61 ± 0.78	0.312	0.414
at 24 hr	26.79 ± 1.96	27.11 ± 1.61	0.660	0.838
at 48 hr	39.69 ± 2.08	42.22 ± 1.19	0.942	0.227
at 72 hr	43.91 ± 2.35	47.34 ± 2.44	1.170	0.266
at 96 hr	45.17 ± 2.71	48.42 ± 2.65	1.313	0.278
True degraded substrate (%)	43.16 ± 2.91	45.03 ± 3.29	1.209	0.504
Microbial Biomass Yield (MBY)				
(mg)	71.14 ± 3.64	67.85 ± 4.41	1.601	0.361
(% of true degraded substrate)	55.08 ± 6.75	50.38 ± 6.96	2.176	0.449
Estimate parameter				
ME (MJ/Kg DM)	6.43 ± 0.27	6.48 ± 0.22	0.090	0.825
OMD (%)	48.87 ± 1.65	50.78 ± 1.36	0.590	0.502
SCFA (mol)	0.58 ± 0.05	0.59 ± 0.04	0.016	0.837

LAB: *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 inoculation

^{a, b}: Means along row among treatment with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$

สรุป

การเสริม *L. plantarum* BCC 65951 ในหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก ทำให้กระบวนการหมักเร็วขึ้นโดยมีผลให้ปริมาณวัตถุแห้งลดลงและแอมโมเนียในโตรเจนสูงขึ้น และยังสามารถรักษาคุณภาพของหญ้าหมักไว้ได้เนื่องจากกรดแลกติก กรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิกสูงขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้การย่อยสลายของหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมัก ในช่วง 2 ชั่วโมงแรกดีขึ้นอีกด้วย แต่การเสริม *L. plantarum* BCC 65951 ในหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมักไม่มีผลต่อการย่อยสลายในกระเพาะรูเมน อย่างไรก็ตามควรศึกษาผลการเสริม *L. plantarum* BCC 65951 ในหญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 หมักต่อสมรรถภาพการผลิตในสัตว์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวงที่สนับสนุนงบประมาณสำหรับดำเนินงานวิจัย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่อนุเคราะห์ตั้งให้ *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 โครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) ที่สนับสนุนทุนการศึกษา และขอบคุณนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เจ้าหน้าที่และสมาชิกผู้เลี้ยงกระบือณศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ อ.แม่ออน จ.เชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์อุปกรณ์และให้ความช่วยเหลือในการผลิตหญ้าหมักในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Adesoji, A.T., A.A. Ogunjobi, O.E. Fagade and O.J. Babayemi. 2010. Effect of *Lactobacillus plantarum* starter culture on the microbial succession, chemical composition, aerobic stability and acceptability by ruminant of fermented *Panicum maximum* grass. Assumption University Journal of Technology 14(1): 11-24.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland.
- Arasu, M.V., M.W. Jung, D.H. Kim, S. Ilavenil, M. Jane, H.S. Park, N.A. Al-Dhabi, B.T. Jeon and K.C. Choi. 2014. Enhancing nutritional quality of silage by fermentation with *Lactobacillus plantarum*. Indian Journal of Microbiology 54(4): 396-402.
- Bal, M.A., J.G. Coors and R.D. Shaver. 1997. Impact of the maturity of corn for use as silage of dairy cows on intake, digestion and milk production. Journal of Dairy Science 80(18): 2497-2503.
- Basso, F.C. 2013. Corn silage inoculated with microbial additives. Ph.D. Thesis. Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, Sao Paulo. 81 p.
- Blümmel, M., H.P.S. Makkar and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 77(1-5): 24-34.
- Chen L., G. Guo, X. Yuan, J. Zhang, J. Li and T. Shao. 2016. Effects of applying molasses, lactic acid bacteria and propionic acid on fermentation quality, aerobic stability and *in vitro* gas production of total mixed ration silage prepared with oat-common vetch intercrop on the Tibetan Plateau. Journal of the Science of Food and Agriculture 96(5): 1678-1685.
- Chen, J., M.R. Stokes and C.R. Wallace. 1994. Effects of enzyme-inoculant systems on preservation and nutritive value of haycrop and corn silages. Journal of Dairy Science 77(2): 501-512.
- Contreras-Govea, F.E., R.E. Muck, G.A. Broderick and P.J. Weimer. 2013. *Lactobacillus plantarum* effects on silage fermentation and *in vitro* microbial yield. Animal Feed Science and Technology 179: 61-68.
- Fellner, V., L.E. Phillip, S. Sebastian and E.S. Idziak. 2001. Effects of a bacterial inoculant and propionic acid on preservation of high-moisture ear corn, and on rumen fermentation, digestion and growth performance of beef cattle. Canadian Journal of Animal Science 81(2): 273-280.
- Ferreira, D.d.J., R.d.P. Lana, A.d.M. Zanine, E.M. Santos, C.M. Veloso and G.A. Ribeiro. 2013. Silage fermentation and chemical composition of elephant grassinoculated with rumen strains of *Streptococcus bovis*. Animal Feed Science and Technology 183: 22-28.
- Hoffman, P.C. and S.M. Ocker. 1997. Quantification of milk yield losses associated with feeding aerobically unstable high moisture corn. Journal of Dairy Science 80(Suppl. 1): 234. (abstract)
- Martínez-Campos, R. and M. de la Torre. 2002. Production of propionate by fed-batch fermentation of *Propionibacterium acidipropionici* using mixed feed of lactate and glucose. Biotechnology Letters 24(6): 427-431.

- Mayr-Harting, A., A.J. Hedges and R.C.W. Berkeley. 1972. Method for studying bacteriocins. pp. 315-422. *In*: J.R. Norris and D.W. Ribbons (eds.). *Methods in Microbiology*. Academic Press, Inc., London.
- McDonald, P., A.R. Henderson and S.J.E. Heron. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd ed. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks.
- Menke, K.H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28: 7-55.
- Menke, K.H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science* 93(1): 217-222.
- Ni, K.K., Y.P. Wang, H.L. Pang and Y.M. Cai. 2014. Effect of cellulase and lactic acid bacteria on fermentation quality and chemical composition of wheat straw silage. *American Journal of Plant Sciences* 5: 1877-1884.
- Phiri, M.S., N.T. Ngongoni, B.V. Maasdorp, M. Titterton, J.F. Mupangwa and A. Sebata. 2007. Ensiling characteristics and feeding value of silage made from browse tree legume-maize mixtures. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 7(3): 149-156.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics, A Biometrical Approach*. 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74(11): 3583-3597.
- Weinberg, Z.G., G. Ashbell, A. Azrieli and I. Brukental. 1993. Ensiling peas, ryegrass and wheat with additives of lactic acid bacteria (LAB) and cell wall degrading enzymes. *Grass and Forage Science* 48(1): 70-78.
- Whitlock, M.C., P.K. Ingvarsson and T. Hatfield. 2000. Local drift load and the heterosis of interconnected populations. *Heredity* 84(4): 452-457.
- Yammuen-art, S., P. Somrak and C. Phatsara. 2016. Effect of maize cob and husk ratio in napier Pakchong 1 silage on nutritive value and *in vitro* gas production in rumen fluid of Thai native cattle. *Animal Production Science* 57(8): 1603-1606.
- Yuan, X., G. Guo, A. Wen, S.T. Desta, J. Wang, Y. Wang and T. Shao. 2015. The effect of different additives on the fermentation quality, *in vitro* digestibility and aerobic stability of a total mixed ration silage. *Animal Feed Science and Technology* 207: 41-50.

ปัจจัยที่มีผลต่อความคิดเห็นของสมาชิกในการบริหารงานของ
กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ตำบลป่าสัก อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย

Factors Affecting Members' Opinions Towards Management of Doi Champi Farmer
Housewife Group, Pa Sak Subdistrict, Chiang Saen District, Chiang Rai Province

เมธาวรรณ ชูเวช สุรพล เศรษฐบุตร* บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล และ ประทานทิพย์ กระมล
Methawan Chuwet, Suraphol Sreshthaputra*, Budsara Limnirunkul and Prathanthip Kramol

ภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

*Corresponding author: Email: suraphol.s@cmu.ac.th

(Received: 5 March 2019; Accepted: 20 June 2019)

Abstract: The purpose of this research was to 1) Study the basic personal, socio-economic and herbal knowledge characteristics of Doi Champi farmer housewife group. 2) Study the opinions of the groups on the administration of Doi Champi farmer housewife group. 3) Analyze the relationship between personal, economy and society and herbal knowledge characteristics including the farmer housewife group's opinions. 4) Study the problems and obstacles and suggestions for the administration of Doi Champi farmer housewife group. The sample group used in the study consisted of 57 Doi Champi farmer housewife group and data collection was collected by using the interview form. Statistical data for analysis included frequency, percentage, mean, minimum and maximum values, standard deviation, and stepwise multiple regression analysis. The results showed that most of farmer housewife were on aged of 55.42 years old in average, obtaining their educational background of 5.45 years and membership period of 11.80 years in average, having an average of household member of 3.47, most of them (81%) had main occupation as housewife and no additional occupation, their monthly income in 2016 covered 1,570.75 and 3,596.49 baht, respectively, from the group, more than half of them (54.4%) have never got any loan, they received the information 1.21 times/year as well as contacted the extension officers 0.85 times/year, and participated in training 0.78 times/year, they have gone to the city 4.78 times/year, and had knowledge of 6.36 at moderate level. In relation to opinions in four aspects of administration, the farmer housewife group showed a total mean of 4.33, means of leaderships' role, administrative system, communication, and environmental condition were 3.96, 4.50, 4.44, and 4.43, respectively. Regarding opinions on farmer housewife group on administrative relationship, it found that they have had monthly income from the group in 2017 at positive significance, and had negative communication with the extension officers at statistically significance with opinions on group administration in 4 aspects ($P < 0.05$) in aspects of problems and obstacles, they were many competitors and they could not produce the products in some periods, and it mainly seemed that they were very old. With regard to suggestions, new products' invention by planning at work, and producing some kinds of products to be made in advance, and find more members for assisting to produce the products.

Keywords: Farmer housewife group, opinions toward group administration

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) เพื่อศึกษาลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ สังคม และความรู้ด้านสมุนไพรของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี 2) เพื่อศึกษาความคิดเห็นของกลุ่มที่มีต่อการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี 3) เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคม และความรู้ด้านสมุนไพรกับความคิดเห็นของสมาชิกกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี 4) เพื่อศึกษาปัญหาและอุปสรรคและข้อเสนอแนะในการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา คือ กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี จำนวน 57 คน เก็บข้อมูลโดยใช้แบบสัมภาษณ์ สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้แก่ ความถี่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าถดถอยพหุแบบขั้นตอน ผลการศึกษาพบว่า แม่บ้านเกษตรกร มีอายุเฉลี่ย 55.42 ปี แม่บ้านเกษตรกรได้รับการศึกษาเฉลี่ย 5.45 ปี ระยะเวลาในการเป็นสมาชิกเฉลี่ย 11.80 ปี จำนวนสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 3.47 คน แม่บ้านเกษตรกรส่วนใหญ่ร้อยละ 81 มีอาชีพหลัก แม่บ้านเกษตรกรส่วนใหญ่ร้อยละ 84 ไม่มีอาชีพเสริม รายได้ต่อเดือนจากกลุ่มปี พ.ศ. 2559 1,570.75 บาท/เดือน รายได้ต่อเดือนจากกลุ่มปี พ.ศ. 2560 3,596.49 บาท/เดือน แม่บ้านเกษตรกร เกินกว่ากึ่งหนึ่งคือร้อยละ 54.45 ไม่เคยกู้เงิน ได้รับข่าวสาร 1.21 ครั้ง/ปี ติดต่อกำหนดที่ส่งเสริมการเกษตร 0.85 ครั้ง/ปี ได้รับการฝึกอบรม 0.78 ครั้ง/ปี ในระยะเวลา 1 ปีเข้าตัวเมือง 4.78 ครั้ง/ปี แม่บ้านเกษตรกร มีความรู้ระดับปานกลางโดยมีคะแนนความรู้ เฉลี่ย 6.36 และมีความคิดเห็นต่อการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรทั้ง 4 ด้านอยู่ในระดับเห็นด้วยอย่างยิ่งโดยมีค่าเฉลี่ยรวม 4.33 ด้านบทบาทผู้นำ มีค่าเฉลี่ย 3.96 ด้านระบบการทำงานบริหารจัดการ มีค่าเฉลี่ย 4.50 ด้านการติดต่อสื่อสาร มีค่าเฉลี่ย 4.44 ด้านสภาพแวดล้อม มีค่าเฉลี่ย 4.43 การศึกษาครั้งนี้พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อระดับความคิดเห็นของสมาชิกในการบริหารงานกลุ่มแม่บ้านคือ รายได้ต่อเดือนที่ได้รับจากกลุ่ม ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวก และการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรโดยมีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในด้านปัญหาและอุปสรรคการบริหารงานกลุ่มฯ พบว่าคู่แข่งทางการค้ามาก บางช่วงแม่บ้านเกษตรกรผลิตสินค้าไม่ทัน และสมาชิกกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรส่วนใหญ่อายุมาก สมาชิกกลุ่มมีข้อเสนอแนะ ให้คิดค้นสินค้าใหม่ ๆ โดยการวางแผนการทำงานล่วงหน้า และหาสมาชิกเพิ่มในการช่วยผลิตสินค้า

คำสำคัญ: กลุ่มแม่บ้านเกษตรกร ความคิดเห็นของการบริหารงานกลุ่ม

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและอาชีพเกษตรกรถือว่าเป็นอาชีพของเกษตรกรของประเทศไทย โดยเฉพาะภาคชนบทจัดได้ว่าเป็นส่วนสำคัญในการพัฒนาประเทศ สามารถสร้างรายได้สามารถส่งผลเศรษฐกิจต่อชุมชน จากการที่เทคโนโลยีการสื่อสารในปัจจุบันมีความก้าวหน้าเข้าไปถึงในภาคชนบท ทำให้ต้องมีการพัฒนาในด้านชนบทให้สอดคล้องกับบริบทและต้องมีการพัฒนาแบบองค์รวม (Promsupa, 2018) การรวมกลุ่มของสตรีในพื้นที่ชนบทนั้นเกิดขึ้นมาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งอาศัยฐานความสัมพันธ์ระหว่างเครือข่ายโดยมีฐานทางวัฒนธรรมเป็นตัวเชื่อม อย่างไรก็ตามการ

รวมกลุ่มเป็นวิธีการของชนบทโดยเฉพาะด้านการเกษตร โดยการรวมกลุ่มมีวัตถุประสงค์เพื่อพึ่งพาซึ่งกันและกันดังงานวิจัยของ Lee and Sirisunyaluck (2017) การที่เกษตรกรที่ประกอบอาชีพเดียวกันมารวมตัวในรูปแบบกลุ่มจะเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรเองมีการแลกเปลี่ยนประสบการณ์ แะข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกกุหลาบโดยทั่วไปการรวมกลุ่มนั้นแบ่งเป็น 2 ลักษณะ กล่าวคือ เป็นการตั้งรูปแบบทางการเป็นการรวมกลุ่มกับรัฐบาล มีการกำหนดแบบแผนกฎในการปฏิบัติซึ่งดำเนินการทั่วไปทั่วประเทศ เช่น กลุ่มกองทุน กลุ่มเกษตรกร เป็นต้น และ เป็นการตั้งกลุ่มแบบไม่เป็นทางการหรือจัดตั้งกันเอง เป็นกลุ่มที่พึ่งพาซึ่งกันและกัน โดยไม่มีการกำหนดหน้าที่ในการปฏิบัติและอาศัยทุนด้านธรรมชาติและวัฒนธรรม

(Ongkasea, 1997) รูปแบบการดำเนินงานด้านกลุ่มพบว่า มีหลากหลายลักษณะเช่น สหกรณ์ กลุ่มกองทุน วิสาหกิจชุมชน กลุ่มแม่บ้านเกษตรกร ซึ่งส่วนใหญ่ดำเนินการเกี่ยวข้องกับด้านการเกษตรและแปรรูปอาหาร จากการรวบรวมข้อมูลในปัจจุบันพบว่าภาคเหนือ 17 จังหวัดในประเทศไทยนั้นมีการจัดตั้งกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรรวมทั้งสิ้น 5,715 กลุ่ม ในส่วนของรายงานข้อมูลวิสาหกิจชุมชน จังหวัดเชียงราย มีกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรจำนวน 322 กลุ่ม และในอำเภอยางชุมน้อยจำนวน 6 กลุ่ม (Pimubol, 2018)

กลุ่มเกษตรกรแม่บ้านดอยจำปี เป็นกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรอยู่ที่หมู่บ้านดอยจำปี ต.ป่าสัก อ.เชียงแสน จ.เชียงราย เป็นกลุ่มที่ดำเนินกิจการแปรรูปสมุนไพรมานานถึง 16 ปี ซึ่งมีการจัดตั้งเมื่อ 10 ธันวาคม พ.ศ. 2543 เป็นกลุ่มที่ได้ผลิตผลิตภัณฑ์สินค้าผ่านการรับรองมาตรฐานจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ปัจจุบันเป็นศูนย์เรียนรู้ดีเด่นของจังหวัดและได้เป็นสถานที่ศึกษาดูงานของกลุ่มแม่บ้านอื่น ๆ อยู่เสมอ และมีสมาชิกทั้งสิ้น 80 คน (Public and Consumer Affairs Division, 2018) จนได้รับรางวัลชนะเลิศการประกวดผลิตภัณฑ์ดีเด่น หนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ 17 จังหวัดภาคเหนือในปี พ.ศ. 2544 และปี พ.ศ. 2545 นอกจากนั้นประธานกลุ่มได้รับรางวัลผู้นำกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดีเด่นในปี พ.ศ. 2549 จึงทำให้ทราบว่ากลุ่มเกษตรกรแม่บ้านดอยจำปี ประสบความสำเร็จระดับหนึ่ง แต่ปัจจุบันสมาชิกของกลุ่มเกษตรกรแม่บ้านดอยจำปีลดลงเหลือเพียง 58 คน จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาถึงความคิดเห็นต่อการบริหารกลุ่มของสมาชิกกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ว่ามีความคิดเห็นอย่างไรต่อการบริหารจัดการกลุ่มที่ส่งผลต่อการดำเนินงานของกลุ่ม

อุปกรณ์และวิธีการ

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงปริมาณ (quantitative research) ประชากรที่ใช้ในการวิจัย คือ สมาชิกกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ต. ป่าสัก อ. เชียงแสน จ. เชียงราย จำนวน 58 คน ผู้วิจัยกำหนดขนาด

ตัวอย่างโดยวิธีการของ Taro Yamane (Yamane, 1973) ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 57 คน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ใช้แบบสัมภาษณ์ (questionnaire) เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล ซึ่งประกอบด้วยคำถามจำนวน 4 ตอน ได้แก่ ตอนที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานทั่วไปส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคม ของแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ตอนที่ 2 ข้อมูลด้านความรู้ของแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปีเกี่ยวกับการแปรรูปสมุนไพรทั้งหมด 10 ข้อ ข้อละ 1 คะแนน ตอนที่ 3 ความคิดเห็นของสมาชิกต่อการบริหารงานกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ใช้คำถามแบบให้แสดงระดับความคิดเห็นตามมาตรวัด 5 ระดับของลิเกิร์ต (Likert scale) ตอนที่ 4 ปัญหาอุปสรรคและข้อเสนอแนะในการบริหารงานกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ผู้วิจัยทดสอบความน่าเชื่อถือได้ (reliability) ของแบบสัมภาษณ์โดยเก็บข้อมูลจากผู้ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับประชากรจำนวน 20 คน ในอำเภอยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ จากนั้นนำแบบสัมภาษณ์ในส่วนของความเห็นต่อการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านมาวิเคราะห์เพื่อหา ค่า reliability coefficient ตามวิธีของ Cronbach (Cronbach, 1951) ได้ ค่า Cronbach's alpha เท่ากับ 0.909

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ ค่าความถี่ (frequency) ร้อยละ (percentage) ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าต่ำสุด (minimum) ค่าสูงสุด (maximum) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) เพื่ออธิบายลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ สังคม และความรู้ ของแม่บ้านเกษตรกร และสถิติอ้างอิง (inferential statistics) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระหลายตัวแปร กับตัวแปรตาม โดยใช้การวิเคราะห์ถดถอยพหุแบบขั้นตอน (stepwise multiple regression analysis)

ผลการศึกษา

ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ สังคม ของ กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี

แม่บ้านเกษตรกร มีอายุเฉลี่ย 55.42 ปี ใช้เวลาในสถานศึกษาเฉลี่ย 5.45 ปี เป็นสมาชิกกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปีมาเป็นเวลาเฉลี่ย 11.80 ปี มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 3.47 คน แม่บ้านเกษตรกรส่วนใหญ่จำนวนร้อยละ 81 มีอาชีพหลัก คือเกษตรกรและรับจ้างทั่วไป ในด้านอาชีพเสริมพบว่าส่วนใหญ่ร้อยละ 84 ไม่มีอาชีพเสริม มีรายได้ต่อเดือนจากกลุ่มฯ ในปี พ.ศ. 2559 1,570.75 บาท รายได้ต่อเดือนจากกลุ่มปี พ.ศ. 2560 3,596.49 บาท แม่บ้านเกษตรกร ร้อยละ 54.4 ไม่เคยกู้เงิน ได้รับข่าวสาร 1.21 ครั้ง/ปี ติดต่อเจ้าหน้าที่ราชการ 0.85 ครั้ง/ปี ได้รับการฝึกอบรม 0.78 ครั้ง/ปี และเดินทางเข้าตัวเมือง 4.78 ครั้ง/ปี

ความรู้ด้านการแปรรูปสมุนไพรของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี

การศึกษาระดับความรู้ด้านการแปรรูปสมุนไพร ผู้วิจัยใช้แบบทดสอบความรู้เกี่ยวกับการแปรรูปสมุนไพร จำนวน 10 ข้อ แบบให้เลือกตอบถูกผิด ถ้าตอบถูกต้องได้ 1 คะแนน พบว่าแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปีส่วนใหญ่มีความรู้ด้านการแปรรูปสมุนไพรอยู่ในระดับปานกลาง โดยมีคะแนนเฉลี่ย 6.36 คะแนนต่ำสุด 5 คะแนน และคะแนนสูงสุด 8 คะแนน จากคะแนนเต็ม 10 คะแนน

ความคิดเห็นของสมาชิกกลุ่มต่อการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี

การวิจัยครั้งนี้พบว่าสมาชิกกลุ่มมีความคิดเห็นต่อการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรในภาพรวมอยู่ในระดับเห็นด้วยอย่างยิ่งโดย มีค่าเฉลี่ยรวม 4.33 เมื่อพิจารณาองค์ประกอบย่อยของการบริหารพบว่าสมาชิกมีความคิดเห็นต่อการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรด้านบทบาทผู้นำอยู่ในระดับเห็นด้วย มีค่าเฉลี่ย 3.96

มีความคิดเห็นต่อระบบการทำงานบริหารจัดการอยู่ในระดับเห็นด้วยอย่างยิ่งโดยมีค่าเฉลี่ย 4.50 มีความคิดเห็นต่อการบริหารงานด้านการติดต่อสื่อสารอยู่ในระดับเห็นด้วยอย่างยิ่งโดย มีค่าเฉลี่ย 4.44 และมีความคิดเห็นต่อการบริหารด้านสภาพแวดล้อมอยู่ในระดับเห็นด้วยอย่างยิ่งโดย มีค่าเฉลี่ย 4.43

ปัจจัยที่มีผลต่อระดับความคิดเห็นของสมาชิกในการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี

การวิเคราะห์ถดถอยพหุแบบขั้นตอน โดยมีตัวแปรอิสระมีทั้งหมด 14 ตัวแปร กำหนดหน่วยการวัด ดังนี้ อายุ (จำนวนปี) ระยะเวลาในการศึกษา (จำนวนปีในสถานศึกษา) ระยะเวลาการเป็นสมาชิก (จำนวนปี) จำนวนสมาชิกในครัวเรือน (จำนวนคน) อาชีพหลัก (1 = มี 0 = ไม่มี) อาชีพเสริม (1 = มี 0 = ไม่มี) รายได้จากกลุ่มต่อเดือนปี พ.ศ. 2559 (บาท) รายได้จากกลุ่มต่อเดือนปี พ.ศ. 2560 (บาท) การกู้ยืมเงินของสมาชิกกลุ่ม (จำนวนครั้ง/ปี) ปริมาณการได้รับข่าวสาร (จำนวนครั้ง/ปี) ความถี่การติดต่อเจ้าหน้าที่ราชการ (จำนวนครั้ง/ปี) การได้รับการฝึกอบรม (จำนวนครั้ง/ปี) ระดับความรู้ (จำนวนคะแนน) ตัวแปรตามมี 1 ตัวแปร คือ ความคิดเห็นด้านการบริหารงานกลุ่มของสมาชิกกลุ่มแม่บ้านดอยจำปี (คะแนนเฉลี่ย)

ผลการวิเคราะห์ถดถอยพหุโดยวิธี stepwise พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเชิงพหุ (multiple coefficient of determination, R^2) มีค่าเท่ากับ 0.210 หมายความว่าตัวแปรอิสระทั้งหมดสามารถอธิบายการผันแปรของตัวแปรตามได้ร้อยละ 21.0 ในบรรดาตัวแปรอิสระทั้งหมด 14 ตัวแปร มีตัวแปรอิสระจำนวน 2 ตัวแปร ที่มีผลต่อตัวแปรตามคือระดับความคิดเห็นของสมาชิกต่อการบริหารงานกลุ่มทั้ง 4 ด้าน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 คือ รายได้จากกลุ่มต่อเดือนต่อคนปี พ.ศ. 2560 โดยมีผลเชิงบวก และ การติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรซึ่งมีผลเชิงลบ (Table 1)

Table 1. Factors affecting opinion of members towards the management of farmer housewife group

Variables	Regression coefficient	t	Sig.
Monthly group income in 2017	0.003	3.786	0.000*
Contacting with the officers	-4.468	-2.123	0.038*
$R^2 = 0.210$ $SEE = 6.596$ $F = 7.168$ $Sig. = 0.002$			

วิจารณ์

จากการศึกษาเรื่องปัจจัยที่มีผลต่อความคิดเห็นของสมาชิกด้านการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปีใน ต.ป่าสัก อ.เชียงแสน จ.เชียงราย พบว่า มี 2 ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับระดับความคิดเห็นของสมาชิกต่อการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ได้แก่ รายได้จากกลุ่มต่อเดือนปี พ.ศ. 2560 และการได้รับการติดต่อเจ้าหน้าที่ราชการ สามารถอธิบายได้ดังนี้

รายได้จากกลุ่มต่อเดือนในปี พ.ศ. 2560 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับความคิดเห็นต่อการบริหารงานกลุ่มในภาพรวมทั้ง 4 ด้าน โดยพบว่าสมาชิกที่มีรายได้จากกลุ่มแม่บ้านในปี พ.ศ. 2560 เพิ่มขึ้นจะมีความคิดเห็นต่อการบริหารงานกลุ่มในระดับเห็นด้วยมากขึ้นที่เป็นเช่นนี้เพราะว่าสมาชิกเห็นว่ารายได้ที่เพิ่มมากขึ้นมีผลมาจากกลุ่มมีการวางแผนการทำงานทำให้กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรฯ ธุรกิจเติบโตขึ้นเรื่อย ๆ มีลูกค้าสั่งสินค้าเพิ่มมากขึ้นจึงทำให้รายได้เพิ่มมากขึ้นจากปี พ.ศ. 2559 อีกทั้งยังมีการประชาสัมพันธ์และการจำหน่ายสินค้าออนไลน์ทำให้ลูกค้าสามารถติดต่อสอบถามได้รวดเร็ว

การติดต่อกับเจ้าหน้าที่ราชการ มีความสัมพันธ์เชิงลบกับความคิดเห็นต่อการบริหารงานกลุ่ม สมาชิกกลุ่มแม่บ้านที่มีการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ราชการมากขึ้น จะมีระดับความคิดเห็นในระดับเห็นด้วยที่น้อยลงต่อการบริหารงานของกลุ่มทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า การติดต่อกับเจ้าหน้าที่มากขึ้นทำให้รู้ถึงวัตถุประสงค์และเป้าหมายในการทำงานของกลุ่มและได้อาจได้คุยกับเจ้าหน้าที่ในเรื่องการบริหารงานควรทำอย่างไรสมาชิกจึงเกิดความคาดหวังมากที่จะได้รับประโยชน์ จากการบริหารงานของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกร

ปัญหาและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่าปัญหาและอุปสรรคของการบริหารงานกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปี ปัจจุบันมีบริษัทคู่แข่งทางการค้ามากทำให้ขาดรายได้บางครั้ง บางช่วงแม่บ้านเกษตรกรฯ ผลิตสินค้าไม่ทัน และสมาชิกกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรฯ ส่วนใหญ่อายุมากทำให้ผลิตสินค้าช้า บ้างบางครั้ง ข้อเสนอแนะ คือให้คิดค้นสินค้าใหม่ ๆ โดยการวางแผนการทำงานล่วงหน้าและผลิตสินค้าล่วงหน้าบ้างสินค้าที่สามารถทำได้ และหาสมาชิกเพิ่มในการช่วยผลิตสินค้า ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Prapatigul and Sriphyayamnoi (2016) ได้ศึกษาเรื่องการบริหารจัดการกลุ่มเกษตรกรปศุสัตว์อินทรีย์ในจังหวัดขอนแก่นพบว่าข้อเสนอแนะของสมาชิกกลุ่มคือต้องควรมีการวางแผนการผลิตและการตลาด ตลอดจนหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต้องเสริมสร้างความรู้ในการจัดการกลุ่มให้กับผู้นำและสมาชิกกลุ่มอย่างต่อเนื่อง

สรุป

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความคิดเห็นของสมาชิกต่อการบริหารกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปีพบว่าสมาชิกมีความเห็นต่อการบริหารกลุ่มในภาพรวมอยู่ในระดับเห็นด้วยมากที่สุด โดยมีความคิดเห็นในระดับเห็นด้วยต่อการบริหารงานกลุ่มฯ ด้านบทบาทผู้นำและ มีความคิดเห็นในระดับเห็นด้วยอย่างยิ่งต่อระบบการทำงานบริหารจัดการ ต่อด้านการติดต่อสื่อสาร และต่อสภาพแวดล้อมในการทำงาน การศึกษาปัจจัยครั้งนี้พบว่าที่มีผลต่อระดับความคิดเห็นต่อการบริหารงานกลุ่มฯ คือ 2 ปัจจัย ได้แก่ การมีรายได้ต่อเดือนจากกลุ่ม และการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร ผลการวิจัยครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางให้กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอยจำปีนำไปพัฒนาการบริหารงานเพื่อสู่ความสำเร็จเพิ่มมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์และผู้ประสานงาน
ภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตร สาขาวิชาส่งเสริม
การเกษตรและพัฒนาชนบท คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ทุกท่าน ที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้
สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ตลอดจนสมาชิกกลุ่มแม่บ้าน
เกษตรกรคอยจำปี ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและให้ข้อมูล
ที่เป็นประโยชน์กับงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Cronbach, L.J. 1951. Coefficient alpha and the internal structure of test. *Psychometrika* 16(3): 297-334.
- Lee, N. and R. Sirisunyaluck. 2017. Commercial rose production potential of farmers in Ban Buak, Mae Rim district, Chiang Mai province. *Journal of Agriculture* 34(1): 101-110. (in Thai)
- Ongkasea, D. 1997. Women's Group Collaboration and Development in Rural Communities. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 134 p. (in Thai)
- Pimubol, R. 2018. Enterprise information community report in Chiang Rai. (Online). Available: <http://www.sceb.doe.go.th/Documents/datchw/chiangrai.pdf> (April 20, 2018). (in Thai)
- Prapatigul, P. and L. Sriphayammoi. 2017. Administrative of organic livestock farmer group in Khon Kaen province. *Khon Kaen Agriculture Journal* 44(Special Edition 1): 589-594. (in Thai)
- Promsupa, K. 2018. Concept (one) for farmer development. (Online). Available: <http://www.farmdev.doe.go.th/Data/Local-knowledge/1462012.pdf> (May 4, 2018). (in Thai)
- Public and Consumer Affairs Division. 2018. Food and Drug Administration promote products of standardized housewives group community and develop as a learning center in Chiang Rai. (Online). Available: <http://elib.fda.moph.go.th/elib/cgi-bin> (April 18, 2018). (in Thai)
- Yamane, T. 1973. *Statistics: An Introductory Analysis*. 3rd ed. Harper and Row, New York.

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ (ต่อ)

2. การเขียนเอกสารอ้างอิง มีรูปแบบการเขียนมีดังนี้

วารสาร (Journals)

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

Muthita, W. and N. Kuanprasert. 2004. Cytogenetics and flower color inheritance of fuchsias. *Journal of Agriculture* 20(1): 10-18. (in Thai)

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

ในกรณีที่เป็นการวารสารออนไลน์ไม่สามารถระบุเลขหน้าเริ่มต้นและเลขหน้าที่สิ้นสุดได้ ให้ระบุ doi แทน

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.

หนังสือ และตำรา (Books & Textbooks)

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

Ek-amnuay, P. 2016. Diseases and Pests of Economic Importance. 5th ed. Amarin Printing and Publishing PCL, Bangkok. 704 p. (in Thai)

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

เรื่องย่อในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องเขียน และมีบรรณาธิการ

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

Krairiksh, S. and W. Namruangsi. 1997. Integrated pest control of mango. pp. 137-144. *In*: K. Jumroenma (ed.). Integrated Pest Control. The Agricultural Cooperative Federation of Thailand, Ltd., Bangkok. (in Thai)

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.

รายงานการประชุม สัมมนา (Reports and Proceedings)

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องย่อ. หน้า เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าที่สิ้นสุด. ใน: รายงานการประชุม สัมมนา. สถานที่จัดประชุม.

Tantarawongsa, P. and D. Ketrot. 2017. Diuron residue in soils under pineapple cultivation. pp. 17-24. *In*: Proceedings of 55th Kasetsart University Annual Conference: Plants, Animals, Veterinary Medicine, Fisheries, Agricultural Extension and Home Economics, Bangkok. (in Thai)

Feigenbaum, S., A. Bar-Tal and D.L. Sparks. 1990. Dynamics of soil potassium in multicationic systems. pp. 145-161. *In*: Proceedings of the 22nd Colloquium of the International Potash Institute, Bern.

วิทยานิพนธ์ (Thesis)

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

Maneepong, A. 2004. Effects of ozone treatments on postharvest quality and pesticide residue of Mandarin cv. Sai Nam Pung. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 100 p. (in Thai)

Liquido, N.J. 1982. Population ecology of *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Heteroptera: Miridae). Ph.D. Dissertation. University of Hawaii, Honolulu. 175 p.

เอกสารวิชาการอื่น ๆ

ชื่อผู้เขียน หรือหน่วยงาน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องหรือชื่อหนังสือ. ประเภทของเอกสาร.

สถาบันหรือหน่วยงานที่จัดพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

Shutsirung, A., C. Santasup and K. Kunasakdakul. 2010. Screening of bio-organic inputs for high quality tea production. Final Report. The Thailand Research Fund, Bangkok. 109 p. (in Thai)

Siriphontangmun, S., U. Nounart, S. Roumchaiapikun and S. Srijuntra. 2016. Insect Pests of Vegetable, Mushroom and Cut Flower. Technical Document. Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok. 74 p. (in Thai)

สื่ออิเล็กทรอนิกส์

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: ที่อยู่ของไฟล์หรือเว็บไซต์ (URL) (เดือน วันที่, ปีที่ สืบค้นข้อมูล).

(ในกรณีที่ไม่มีข้อมูลปีที่ตีพิมพ์ ให้ระบุเป็นปีที่เข้าไปสืบค้นข้อมูล)

Department of Agricultural Extension. 2005. Hydroponics. (Online). Available: <http://www.doae.go.th/proster/nondin/htm> (April 21, 2005). (in Thai)

Marja, L.L. 2000. How Mycostop[®] acts in the control of fungal plant diseases. (Online). Available: http://www.shkagro.com/otros/efecto_fungicida.pdf (April 1, 2016).

การส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์

ให้ส่งบทความทาง online เท่านั้น ได้ที่ <http://web.agri.cmu.ac.th/agjournal/submission/>

การพิจารณาบทความ

1) ต้นฉบับที่ไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับของวารสารเกษตร จะไม่ได้รับการพิจารณา

2) ทุบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร ต้องผ่านการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิ ไม่น้อยกว่า 2 ท่าน

3) กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจและแก้ไขบทความทุกเรื่องที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร (The Editorial Board claims a right to review and correct all articles submitted for publishing in Journal of Agriculture)

สำนักงานและการติดต่อสอบถาม (Office and Inquiries)

กองบรรณาธิการวารสารเกษตร

งานบริหารงานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 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, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

Tel: 0 5394 4089-92 ext. 12 Fax: 0 5394 4089-92 ext. 12

Email: agjournal22@gmail.com

(ดูตัวอย่างต้นฉบับที่เป็นทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษที่ <http://journal.agri.cmu.ac.th/Document/49030001.pdf>)

JOURNAL OF AGRICULTURE

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Volume 36, Issue 1 January - April 2020

Efficacy of Lantana (*Lantana camara* L.) Extract on Induction of Off-seasonal Adult Bamboo Borer

(*Omphisa fuscidentalis* Hampson)

Phaithun Thoyalo, Aroonchai Saiai and Manaporn Manaboon Poolkeaw.....1

Potential of Entomopathogenic Fungi Isolated from Soils in Uttaradit Province for Controlling Diamondback Moth Larva

Manasanid Boontud, Weerathep Pongprasert, Sawai Buranapanichpan and Jiraporn Kulsarin.....15

Farmer Participation in Implementation of *Metarhizium anisopliae* NU 048 to Control Brown Planthopper in Irrigated Rice

Field: Case Study of Rang Nok Subdistrict, Sam Nagm District, Pichit Province

Suwanna Thongpoo, Weerathep Pongprasert, Sawai Buranapanichpan, Jiraporn Kulsarin and Wipa Homhaul.....23

Comparison of Cassava Varieties and Infestation of Root-knot Nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White)

Chitwood and Efficiency of Commercial Products of Antagonistic Fungi for Controlling

Pum Ta-oun, Weerasak Saksirirat, Sivilai Sirimungkararat and Duangrat Thongphak.....35

Crossability and *In Vitro* Seed Germination of Some Terrestrial Orchid Species of Genus *Habenaria* and *Pecteilis*

Chadapawn Saikum, Kaewalin Kunasakdakul and Nuttha Potapohn.....47

Effects of Chitosan and Methyl Jasmonate on Phenylalanine Ammonia Lyase (*PAL*) Gene Expression and

Phenolic Compound Production in *In Vitro* Plantlets of *Stemona collinsae* Craib.

Supaporn Passorn, Suchada Sudsaeng and Khachapon Thongdonyod.....59

Effects of Biochar Amendment on Soil Properties and Carbon Sequestration in Highland Areas of Pang Mapha District,

Mae Hong Son Province

Nichapat Sittiworanon, Choochad Santasup and Fapailin Chaiwan.....69

Abilities of Nitrogen Fixing Bacteria in Enhancing Growth of Arabica Coffee Seedling

Ananyaphon Thamkhongdee, Kawiporn Chinachanta, Yupa Chromkaew, Fapailin Chaiwan and Arawan Shutsrirung...79

Effects of Rate and Frequency of Foliar Fertilizer Application on Growth and Development of *Vanda* Orchid 'Pat Delight'

Teepakorn Ruenroengchai, Chaiatid Inkham and Soraya Ruamrungsri.....93

Effects of Foliar Fertilizer Application on Growth of *Vanda* Orchid

Kamonchanok Lerdpraivun, Kanokwan Panjama, Chaiatid Inkham and Soraya Ruamrungsri.....103

Nitrogen Use Efficiency and Partitioning in Relation to Growth and Yield of Rice cv. Khao Dawk Mali 105 and cv. Homnil

Teerawut Channoel, Saibua Khempet, Arawan Shutsrirung, Yupa Chromkaew and Sakda Jongkaewwattana.....113

Kinetics of Potassium Release of Lowland Soils in Central Plain of Thailand

Timtong Darunsontaya, Patsakorn Thasanon, Wittaya Jindaluang and Karuna Poomsong.....123

Effects of Foliar Potassium Application Fertilizer on Growth, Yield and Nutrient Uptake in Draw Yard Long Bean

Saychol Sukyankij, Panupong Reakyane, Chonlada Chaowchomchade and Thanapat Pluemphuak.....135

Effects of *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 Inoculation on Fermentation Quality of Napier Pakchong 1 Silage

by *In vitro* Gas Production Technique and Ruminal Degradability

Narissara Kongsuk, Siwat Sangsritavong, Vethachai Plengvidhya, Kittima Kongtong and Saowaluck Yammuen-art...145

Factors Affecting Members' Opinions Towards Management of Doi Champi Farmer Housewife Group,

Pa Sak Subdistrict, Chiang Saen District, Chiang Rai Province

Methawan Chuwet, Suraphol Sreshthaputra, Budsara Limnirunkul and Prathanthip Kramol.....155

ISSN 0857-0841

