



วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 36 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม 2563

ผลของความยาววันและกรดจิบเบอเรลลิกต่อการออกดอกของไฮเดรนเยีย

สุภัทตา แซ่กอ และ ณัฐา โพธารมณ์.....161

การศึกษาความดีเด่นของลักษณะทางพืชสวนและผลผลิตของพริกพันธุ์ลูกผสม

อัจจิมา ณ จินดา และ จุฑามาส คุ่มชัย.....169

ผลของสารละลายกรดซาลิไซลิกและกรดจิบเบอเรลลิกต่อความงอกและความแข็งแรง
ของเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร

สุวิลาสินี รัตนพันธุ์ รัฐพล ฉัตรบรรยงค์ และ พิจิตรา แก้วสอน.....177

ผลของการใช้บาซิลลัสลอสเฟสพร้อมกับปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยในชุดดินปากช่อง

สิรินภา ช่วงโอภาส และ ชัยสิทธิ์ ทองจุ.....187

ผลของไฮเดียมเบนทอโนต์ต่อสมบัติทางเคมีของดินตามแนววางท่อส่งก๊าซธรรมชาติ

ธมลวรรณ คงไชย ณัฐพล จิตมาตย์ เสาวนุช ถาวรพฤษ์ ดาวจรัส เกตุโรจน์ สุรเชษฐ์ อร่ามรักษ์
และ กิตติพงศ์ ทรงรักษ์เกียรติ.....197

ผลของอัตราปุ๋ยไนโตรเจนและวิธีการให้น้ำต่อการเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดหวานในจังหวัดเชียงใหม่

พนิตนาถ มั่งมูล และ ชูชาติ สันทรทรัพย์.....211

ผลของสารสกัดจากเครื่องเทศหอมในการควบคุมด้วงวงข้าว

ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์ และ ณัฐพงศ์ เมธินธวัชสรรค์.....225

ความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบยีน cGH และ IGF-1 กับน้ำหนักตัวและการเจริญเติบโตของไก่ไข่มุกอีสาน 2

อนุวัฒน์ จันตามุก บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ และ สจ๊ กัณหหาเรียง.....235

ผลการเสริมโซลูบิวต์เหลืองในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ สมรรถภาพการผลิต องค์ประกอบซาก

คุณภาพเนื้อ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี วัชร ปิ่นทอง จินดา กลิ่นอุบล ธนภัทร สิทธิสุพร ณัฐพล เอี่ยมมงคล
กนกกร ภาระเวช พิษญา คำชื่น พรพิมล คงทัฬ ภูธฤทธิ์ วิทยาพัฒนานุรักษ์ รักษาศิริ
และ วรางคณา กิจพิพิธ.....247

วิธีการทางอนุพันธุศาสตร์สำหรับการวินิจฉัยโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม

รัชชานนท์ ฤทธสงเคราะห์กุล วาสนา ศิริแสน ปองพล พงโรตส์ และ วุฒิชัย เคนไชยวงศ์.....257

ผลของครีราจีแนตต่อสมบัติของผงไข่ขาวจากวัสดุเศษเหลือของไข่เค็ม

สุภาพร อภิตตานุสรณ์ อูราภรณ์ เรื่องวัชรินทร์ และ สุกัญญา ไหมเครือแก้ว.....269

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นจากสารสกัดกระเจียบเขียว

พัชรีวรรณ เป้าคำ ตฤณลดา แสงทอง นิชนันท์ สุชนวัฒนกุล และ มฤกร สายนาคำ.....279

ISSN 0857-0841

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 โดยคำอธิบายตารางให้พิมพ์เนื้อตารางและจัดชิดซ้าย ส่วนคำอธิบายภาพให้พิมพ์ได้ภาพและจัดกึ่งกลางหน้า 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 สลับกัน ในลักษณะนี้เรื่อยไปหากมีมากกว่าสองแห่ง 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 ควรเชื่อมโยงกับผลการศึกษาว่าสอดคล้องกับสมมติฐาน 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 ติยาชน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. จิรวรรณ กิจชัยเจริญ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. เสาวลักษณ์ แยมหมื่นอา 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 Tiyaon, 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 จันทราปัติย์
 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
 นางสาวอรนิชาณ์ 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

วารสารเกษตร ฉบับนี้เป็นปีที่ 36 ฉบับที่ 2 ประจำเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม 2563 ประกอบด้วยบทความทางวิชาการที่มีเนื้อหาสาระที่เข้มข้น จำนวน 12 บทความ ซึ่งเป็นบทความทางวิชาการ สาขาพืชสวน 3 เรื่อง สาขาปฐพีศาสตร์ 3 เรื่อง สาขาภูมิวิทยา 1 เรื่อง สาขาสัตวศาสตร์ 3 เรื่อง และสาขาที่เกี่ยวข้องกับอาหารและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่อาหาร อย่างละ 1 เรื่อง

เพื่อความรวดเร็วในการพิจารณาและการจัดพิมพ์ กองบรรณาธิการได้ขอความร่วมมือจากผู้ส่งบทความลงตีพิมพ์ในวารสารเกษตร ปฏิบัติตาม “คำแนะนำการเตรียมต้นฉบับ” อย่างเคร่งครัด ซึ่งสามารถค้นหาได้จาก <http://journal.agri.cmu.ac.th/Document/49030001.pdf>

วารสารเกษตรฉบับนี้เป็นฉบับสุดท้ายของกองบรรณาธิการชุดนี้ บรรณาธิการขอขอบคุณผู้เขียนบทความวิชาการทุกท่านที่ได้ส่งบทความลงตีพิมพ์ในวารสารเกษตรระหว่างที่เราได้เป็นกองบรรณาธิการครับ

ศาสตราจารย์ ดร. ดนัย บุญยเกียรติ

บรรณาธิการวารสารเกษตร

ผลของความยาววันและกรดจิบเบอเรลลิกต่อการออกดอกของไฮเดรนเยีย

Effects of Photoperiod and Gibberellic Acid on Flowering of Hydrangea

สุภัตตา แซ่กอ และ นัฐา โพธาภรณ์*

Suphatta Saekor and Nuttha Potapohn*

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: natorchid@gmail.com

(Received: 29 April 2019; Accepted: 15 November 2019)

Abstract: Study on the effects of photoperiod and gibberellic acid on flowering of hydrangea was carried out at Mae Hia Agricultural Research, Demonstrative and Training Center and Khun Pae Royal Project Development Center. Factorial in a completely randomized design was used. Two factors, photoperiod and gibberellic acid (GA_3), were studied, two levels of photoperiod, regular day length and short day, 8 hr, along with 3 levels of GA_3 , 0, 25, 50 mg/L. The result showed that photoperiod and gibberellic acid affected the flowering of hydrangea depending on location.

Keywords: Growth and development, photoperiod, hydrangea

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของความยาววันและกรดจิบเบอเรลลินต่อการออกดอกของไฮเดรนเยียที่ปลูกในสองพื้นที่ คือ ศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ และศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ความยาวช่วงแสง 2 ระดับ ได้แก่ ความยาววันปกติ และสภาพวันสั้นให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับความเข้มข้นของกรดจิบเบอเรลลิน 3 ระดับ ได้แก่ 0, 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการศึกษาพบว่า ความยาววันและกรดจิบเบอเรลลินมีผลต่อการออกดอกของไฮเดรนเยียซึ่งขึ้นอยู่กับสถานที่ปลูก

คำสำคัญ: การเจริญเติบโต ความยาววัน ไฮเดรนเยีย

คำนำ

ไฮเดรนเยียมียุทธศาสตร์ว่า *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. เป็นไม้ดอกที่ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นไม้ดอกที่มีสีสันสะดุดตา ลักษณะดอกสวยงาม ทำให้ไฮเดรนเยียได้รับความนิยมในการปลูกเป็นไม้ประดับสวน ไม้กระถาง การตกแต่งอาคารสถานที่ และยังเป็นที่ยอดนิยมจัดช่อดอกไม้ มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางด้านตะวันออกของทวีปเอเชีย ในสาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่น เอเชียอาคเนย์ และในแถบทวีปอเมริกาเหนือและใต้ มีอยู่ประมาณ 90 ชนิด (Anothai, 2005) ความต้องการใช้ไม้ดอกเมืองหนาวในประเทศไทยมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ทำให้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศปีละหลายล้านบาท การส่งเสริมการปลูกไม้ดอกเมืองหนาวเป็นอาชีพให้กับเกษตรกรบนพื้นที่สูงสามารถทำรายได้ดีและช่วยลดการนำเข้าจากต่างประเทศได้ อีก ด้วย (Department of Agricultural Extension, 1995) ในประเทศไทยยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดสำหรับการนำเอาไฮเดรนเยียนำมาปลูก แต่ในปัจจุบันแหล่งผลิตไฮเดรนเยียดัดดอกอยู่ที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะ และแกนน้อยของมูลนิธิโครงการหลวง แต่การออกดอกของไฮเดรนเยียในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนพฤษภาคมซึ่งไม่ใช่ช่วงที่มีความต้องการใช้ดอกมากนัก

ปัจจัยที่มีผลต่อการออกดอกของไฮเดรนเยียต้องได้รับอุณหภูมิและความยาววันที่เหมาะสมจึงสามารถออกดอกได้ จากรายงานของ Tachai (1993) ได้ศึกษาอิทธิพลของแสงและอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญและการออกดอกของไฮเดรนเยีย พบว่าอุณหภูมิกลางวันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตทางใบและดอกอยู่ระหว่าง 12 ถึง 16 องศาเซลเซียส ในการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มี

ผลต่อการสร้างตาดอกของไฮเดรนเยียจำนวน 8 สายพันธุ์ โดย Littler and Strømme (1975) พบว่าเมื่อไฮเดรนเยียได้รับอุณหภูมิต่ำและช่วงวันสั้นเป็นเวลา 6 ถึง 9 สัปดาห์ ชักนำให้เกิดการเปลี่ยนตาใบเป็นตาดอกได้ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเกิดตาดอกอยู่ระหว่าง 15 ถึง 18 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงกว่า 18 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการพัฒนาตาดอกจะนานขึ้น และช่วงแสงวันสั้นชักนำให้เกิดการพัฒนาของตาดอกที่อุณหภูมิสูงได้ ในรายงานของ Bailey and Weiler (1984) ได้ศึกษาวิธีการควบคุมการออกดอกของไฮเดรนเยีย 3 สายพันธุ์ พบว่า ต้นที่ปลูกในสภาพวันสั้น 8 ชั่วโมง มีตาดอกเกิดขึ้นมากกว่าต้นที่ปลูกในสภาพวันยาวแบบต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส โดยตาดอกปรากฏให้เห็นหลังจากที่ต้นได้รับช่วงแสงวันสั้นเป็นเวลา 16 สัปดาห์ ในขณะที่ต้นที่ได้รับแสงวันยาวแบบต่อเนื่อง ยังอยู่ในช่วงการเจริญทางด้านลำต้นอยู่ และยังพบว่าการใช้กรดจิบเบอเรลลิน ความเข้มข้น 50 หรือ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทดแทนความต้องการอุณหภูมิต่ำได้ เช่นเดียวกับที่ Weiler (1980) รายงานว่ากรดจิบเบอเรลลินสามารถทดแทนความต้องการอุณหภูมิต่ำเพื่อกระตุ้นการออกดอกของไฮเดรนเยียได้ด้วยการใช้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อต้น โดยพ่น 2 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นจำนวน 10 ครั้ง หรือใช้กรดจิบเบอเรลลินความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อต้น โดยพ่น 2 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นจำนวน 5 ครั้ง

ปัจจุบันมูลนิธิโครงการหลวงได้นำไฮเดรนเยียเข้ามาส่งเสริมให้เกษตรกรที่อยู่ในพื้นที่รับผิดชอบ มีลักษณะการผลิตในรูปของไม้ตัดดอก แต่การออกดอกของไฮเดรนเยียโดยทั่วไปสามารถออกดอกได้เพียงปีละ

หนึ่งครั้ง ในช่วงที่มีความต้องการใช้ดอกไม้มากนัก จึงมีความสนใจที่จะทำให้ต้นไฮเดรนเยียสามารถออกดอกได้ ในช่วงที่มีความต้องการใช้ดอกไม้ในปริมาณมาก ดังนั้นการทดลองนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของความยาววันและกรดจิบเบอเรลลินต่อการออกดอกของไฮเดรนเยีย พร้อมทั้งศึกษาการเจริญของตาดอกของไฮเดรนเยียในแต่ละระยะ การพัฒนาของตาดอก โดยใช้พันธุ์ 031 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการผลิดอกอยู่ในมูลนิธิโครงการหลวง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการส่งเสริมให้แก่เกษตรกรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมกิ่งพันธุ์ต้นไฮเดรนเยียพันธุ์ 031 จำนวน 200 กิ่ง ปักชำในวัสดุผสมระหว่างขุยมะพร้าวและทรายหยาบ อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตรในเดือนกันยายน ทำการปลูกลงใน 2 พื้นที่ คือ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะ ที่ระดับความสูง 800 - 1,200 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล และศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ที่ระดับความสูง 300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล เมื่อต้นกล้าอายุประมาณ 4 สัปดาห์ ย้ายลงปลูกลงในกระถางขนาด 25 เซนติเมตร บรรจุดินผสม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และทรายหยาบ อัตราส่วน 2:1 เมื่อต้นไฮเดรนเยียเกิดยอดยาวประมาณ 5 เซนติเมตร เติดยอดครั้งที่ 1 ในเดือนพฤศจิกายน (Figure 1A) และเมื่อต้นเกิดยอดใหม่ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร เติดยอดครั้งที่ 2 ในเดือนธันวาคม (Figure 1B) หลังจากการเติดยอดครั้งที่ 2 ประมาณ 2 สัปดาห์ ให้กรดจิบเบอเรลลินตามกรรมวิธีทดลอง วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized

design ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ความยาวช่วงแสง มี 2 ระดับ คือ แสงธรรมชาติ และให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน โดยคลุมผ้าดำในช่วงเวลา 16.00 น. ถึง 8.00 น. ปัจจัยที่ 2 ความเข้มข้นของกรดจิบเบอเรลลิน (GA_3) มี 3 ระดับ คือ 0, 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น โดยในกรรมวิธีที่พ่นกรดจิบเบอเรลลินในปริมาตร 150 มิลลิตรต่อต้น กรรมวิธีประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ไม่พ่นกรดจิบเบอเรลลิน และให้แสงธรรมชาติ (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นกรดจิบเบอเรลลิน ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้แสงธรรมชาติ

กรรมวิธีที่ 3 พ่นกรดจิบเบอเรลลิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้แสงธรรมชาติ

กรรมวิธีที่ 4 ไม่พ่นกรดจิบเบอเรลลิน และให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน

กรรมวิธีที่ 5 พ่นกรดจิบเบอเรลลิน ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน

กรรมวิธีที่ 6 พ่นกรดจิบเบอเรลลิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน

การบันทึกข้อมูล เริ่มเก็บข้อมูลหลังการย้ายปลูกลง 1 เดือน โดยเก็บข้อมูลเดือนละ 1 ครั้ง ได้แก่ ความสูงของต้นจากผิวดิน จำนวนข้อ จำนวนใบที่คลี่เต็มที่แล้ว ความกว้างทรงพุ่ม โดยวัดที่ตำแหน่งที่กว้างที่สุด และระยะการพัฒนาของตายอด โดยเริ่มเก็บตัวอย่างยอดมาศึกษาในเดือนกุมภาพันธ์ นับเป็น 30 วันหลังจากได้รับกรรมวิธี และเก็บตัวอย่างอีกเมื่อครบ 60, 90 และ 120 วัน นำยอดซ้าละ 1 ยอดไปศึกษาการเจริญของตาดอก โดยวิธี paraffin embedding technique ของ Johansen (1940)



Figure 1. Shoot pinching of hydrangea, first pinching (A) and second pinching (B)

เพื่อศึกษาระยะการพัฒนาของตายอดของไฮเดรนเยียทั้ง 7 ระยะ (Figure 2) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูล โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเจริญเติบโต

การปลูกเลี้ยงไฮเดรนเยีย ณ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะ ที่ระดับความสูง 800 - 1,200 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล และศูนย์วิจัย สาคิตและฝักอบรมการเกษตรแม่เหียะ ที่ระดับความสูง 300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล มีการเก็บข้อมูลตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2560 พบว่าการให้ควมยาววันและกรดจิบเบอเรลลินในแต่ละระดับ ไม่มีผลทำให้การเจริญเติบโตของต้นไฮเดรนเยียในแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ระยะการพัฒนาของตายอด

จากการศึกษาระยะการพัฒนาของตายอดของไฮเดรนเยีย 7 ระยะ โดยระยะที่ 1 คือระยะที่ตายอดมีจุดกำเนิดของใบ (leaf primordium) หนุมที่ปลายยอดอย่างสมบูรณ์ในระยะนี้ยังอยู่ในระยะของการเจริญด้านลำต้นหรือ vegetative growth ระยะที่ 2 คือระยะที่ตายอดขยายกว้างออก จุดกำเนิดของใบคู่แยกออกจากกัน ระยะที่ 3 คือระยะที่บริเวณตายอดขยายตัวสูงขึ้นเป็นรูปโดม ระยะที่ 4 คือระยะที่ปรากฏจุดกำเนิดช่อดอก (inflorescent

primordium) รุ่นที่ 1 จำนวน 5 จุด ระยะที่ 5 คือระยะที่ปรากฏจุดกำเนิดช่อดอกรุ่นที่ 1 และรุ่นที่ 2 (primary and secondary inflorescent primordia) ระยะที่ 6 คือระยะที่ปรากฏจุดกำเนิดของกลีบเลี้ยง กลีบดอก (sepal and petal primordia) ของดอกย่อยแต่ละดอก และระยะที่ 7 คือระยะที่เป็นช่อดอกขนาดเล็กปรากฏทั้งจุดกำเนิดของกลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมียของดอกย่อยแต่ละดอก ซึ่งเป็นไปตามที่ Littre and Strømme (1975) ได้ศึกษาและแบ่งระยะการพัฒนาตายอดของไฮเดรนเยียออกเป็น 7 ระยะ

การศึกษากการเจริญของตาดอกไฮเดรนเยียที่ปลูกเลี้ยง ณ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะเกิดตาดอกเร็วกว่าการปลูกเลี้ยงที่ศูนย์วิจัย สาคิตและฝักอบรมการเกษตรแม่เหียะ ซึ่งเป็นผลมาจากอุณหภูมิที่แตกต่างกันของทั้งสองพื้นที่ โดยที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะ มีอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดการปลูกเลี้ยงในช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนพฤษภาคมอยู่ที่ 16.7 - 22.6 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่ศูนย์วิจัย สาคิตและฝักอบรมการเกษตรแม่เหียะมีอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดการปลูกเลี้ยงอยู่ที่ 23.7 - 29.5 องศาเซลเซียส จึงทำให้ต้นที่ปลูกเลี้ยงที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะเกิดการสร้างตาดอกเร็วกว่าต้นที่ปลูกเลี้ยง ณ ศูนย์วิจัย สาคิตและฝักอบรมการเกษตรแม่เหียะ เช่นเดียวกับที่ Littre and Strømme (1975) รายงานไว้ว่าต้นได้รับอุณหภูมิต่ำหรืออากาศเย็นในระยะแรกของการเจริญดอกจะออกเร็วกว่าปกติ โดยอุณหภูมิมีผลต่อการสร้างตาดอกของไฮเดรนเยียจำนวน 8 สายพันธุ์ เกือบทุกสายพันธุ์สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างตาดอกได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 15 - 18 องศาเซลเซียส

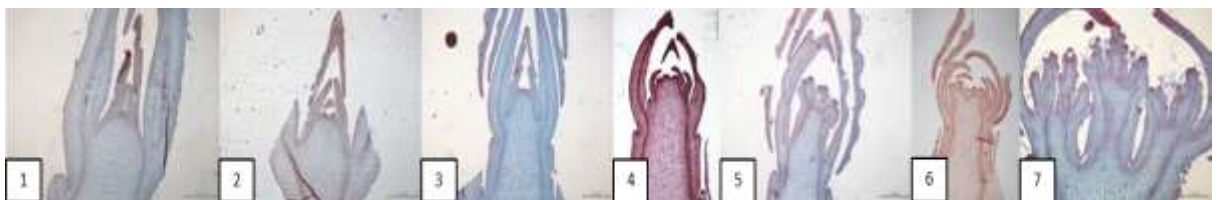


Figure 2. Hydrangea shoot development for 1 - 7 stages. (1,2) vegetative buds (3) transitional stage (4) inflorescent primordium (5) primary and secondary inflorescent primordia (6) sepal and petal formation (7) young inflorescence with floral initials

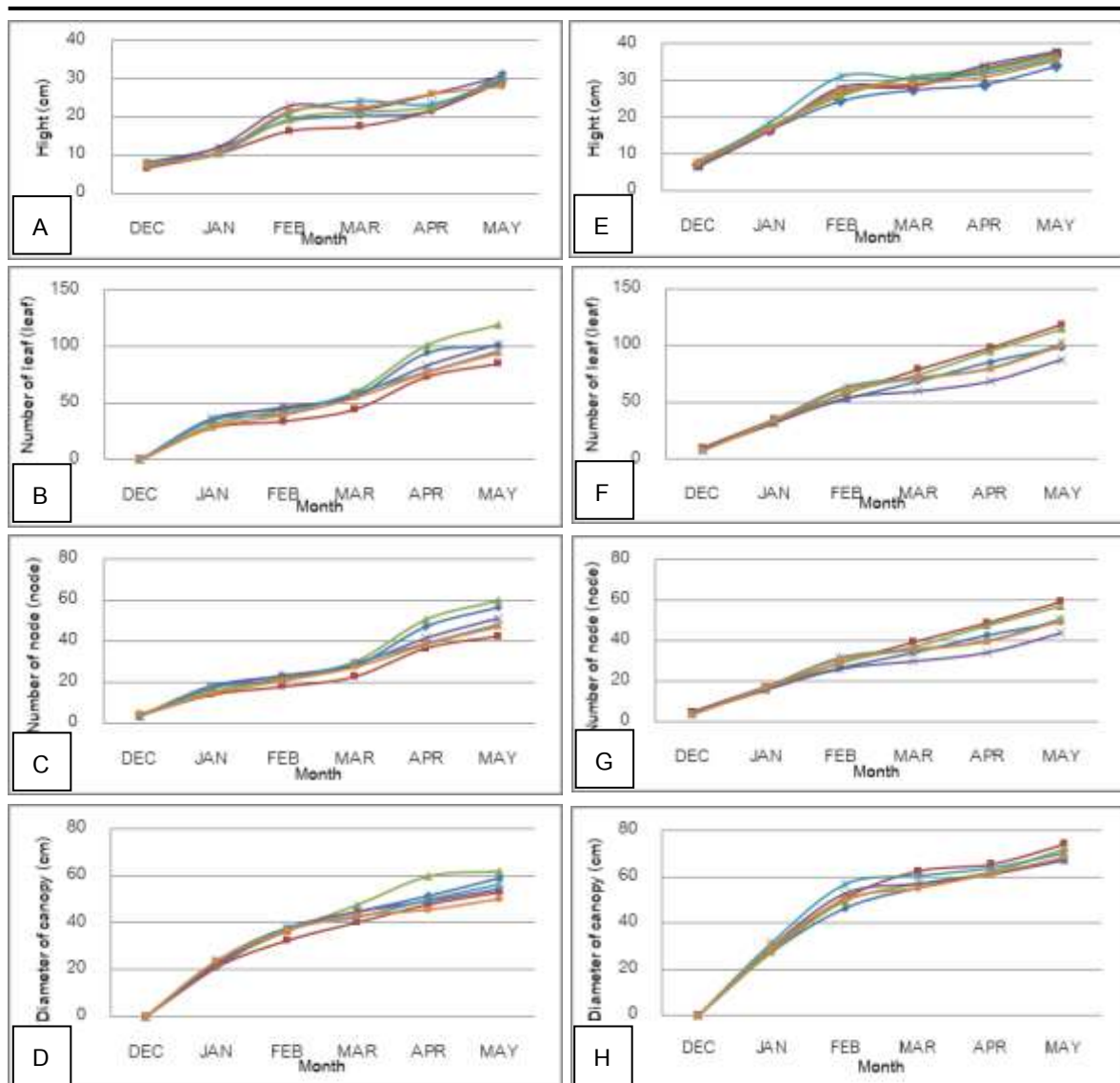


Figure 3. Growth and development of hydrangea grown at different locations, Khun Pae Royal Project Development Center (A-D), Mae Hia Agricultural Research, Demonstrative and Training Center, Mueang district, Chiang Mai province (E-H), during December 2016 to May 2017 (—●— GA₃ 0 mg/L +natural light, —■— GA₃ 25 mg/L+natural light, —▲— GA₃ 50 mg/L+natural light, —×— GA₃ 0 mg/L+light 8 hr, —*— GA₃ 25 mg/L+light 8 hr and —◆— GA₃ 50 mg/L+light 8 hr)

การปลูกเลี้ยงไฮเดรนเยีย ณ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะที่ระดับความสูง 800 - 1,200 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล พบว่าการให้กรดจิบเบอเรลลิกไม่มีผลต่อการออกดอกของไฮเดรนเยีย ในขณะที่การให้ความยาววันในสภาพปกติทำให้ต้นออกดอกได้ดีกว่าการให้แสง

8 ชั่วโมงต่อวันที่ 90 และ 120 วันหลังการให้ความยาววันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการทดลองโดยการให้แสงปกติที่ 90 และ 120 วันหลังการให้ความยาววัน มีการออกดอก 91.7 และ 83.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การให้แสง 8 ชั่วโมงที่ 90 และ 120 วันหลังการให้ความยาว

วัน มีการออกดอก 41.7 และ 8.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งแตกต่างไปจากที่ Bailey and Welier (1984) ได้ศึกษาการเกิดตาดอกของไฮเดรนเยียสายพันธุ์ Rose Supreme, พันธุ์ Merrtie Supreme และพันธุ์ Sister Therese ในสภาพวันสั้น 8 ชั่วโมง มีตาดอกเกิดขึ้นมากกว่าต้นที่ปลูกภายใต้สภาพวันยาวแบบต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส โดยที่ตาดอกปรากฏให้เห็นหลังจากที่ต้นได้รับช่วงแสงในสภาพวันสั้น 8 ชั่วโมง เป็นระยะเวลานาน 16 สัปดาห์ ในขณะที่ต้นที่ได้รับแสงในสภาพวันยาวแบบต่อเนื่อง ยังอยู่ในสภาพที่มีการเจริญทางด้านลำต้นอยู่ โดยเฉพาะสายพันธุ์ Rose Supreme และพันธุ์ Merrtie Supreme

ในสภาพของศูนย์วิจัย สาคิตและฝักอบรม การเกษตรแม่เหียะ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีระดับความสูง 300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล พบว่าความยาววันไม่มีผลต่อการออกดอกของไฮเดรนเยีย ในขณะที่การให้กรดจิบเบอเรลลิคมีผลทำให้ต้นออกดอกได้มากกว่าการไม่ให้กรดจิบเบอเรลลิค โดยการให้กรดจิบเบอเรลลิคที่ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นออกดอกมากกว่าการไม่ให้กรดจิบเบอเรลลิคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังการให้กรรมวิธีที่

120 วัน โดยการให้กรดจิบเบอเรลลิค 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการออกดอก 85.4 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การไม่ให้กรดจิบเบอเรลลิคมีการออกดอกเพียง 12.8 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น แสดงให้เห็นว่าในการทดลองนี้ กรดจิบเบอเรลลิคสามารถกระตุ้นให้ไฮเดรนเยียที่ปลูกที่ระดับความสูง 300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลออกดอกได้ (Table 2) เช่นเดียวกับที่ Bailey and Weiler (1984) ใช้กรดจิบเบอเรลลิคทดแทนความต้องการอุณหภูมิต่ำของไฮเดรนเยียได้ โดยความเข้มข้นที่นิยมใช้ คือ 50 หรือ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยวิธีการพ่นทางใบ

การศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าสภาพพื้นที่ในการผลิตไฮเดรนเยียมียผลต่อการออกดอกของต้น โดยพื้นที่ที่อยู่สูงจากระดับน้ำทะเล 800 - 1,200 เมตร จัดว่าเป็นพื้นที่สูงที่มีอุณหภูมิเย็นเพียงพอต่อการชักนำให้เกิดตาดอกของต้นไฮเดรนเยีย ในขณะที่การปลูกในพื้นที่ที่มีระดับความสูง 300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล อุณหภูมิไม่ลดลงต่ำมากพอต่อการชักนำให้เกิดตาดอก การใช้กรดจิบเบอเรลลิคทำให้ต้นสามารถออกดอกได้ในพื้นที่ราบของจังหวัดเชียงใหม่ได้

Table 1. Effects of photoperiod and gibberellic acid on flowering percentages of hydrangea grown at Khun Pae Royal Project Development Center

Factors	Flowering (%)			
	30 DAT	60 DAT	90 DAT	120 DAT
Factor A : photoperiod				
regular day length	8.3	50.0	91.7 ^a	83.3 ^a
8 hr light	25.0	58.3	41.7 ^b	8.3 ^b
Factor B : gibberellic acid				
0 mg/L	12.5	62.5	62.5	37.5
25 mg/L	25.0	50.0	50.0	50.0
50 mg/L	12.5	50.0	87.5	50.0
Factor A	ns	ns	*	*
Factor B	ns	ns	ns	ns
Factor A x B	ns	ns	ns	ns

DAT = days after treatment

Means with the different letters within the column indicate significantly different at $P \leq 0.05$

ns = Not significant

Table 2. Effects of photoperiod and gibberellic acid on flowering percentages of hydrangea grown at Mae Hia Agricultural Research, Demonstrative and Training Center

Factors	Flowering (%)			
	30 DAT	60 DAT	90 DAT	120 DAT
Factor A: photoperiod				
regular day length	8.3	50.0	50.0	50.0
8 hr light	16.7	58.3	50.0	41.7
Factor B: gibberellic acid				
0 mg/L	25.0	62.5	50.0	12.5 ^b
25 mg/L	12.5	50.0	25.0	39.6 ^{ab}
50 mg/L	0.0	50.0	75.0	85.4 ^a
Factor A	ns	ns	ns	ns
Factor B	ns	ns	ns	*
Factor A x B	ns	ns	ns	ns

DAT = days after treatment

Means with the different letters within the column indicate significantly different at $P \leq 0.05$

ns = Not significant

สรุป

การศึกษาค้นคว้าผลของความยาววันและกรดจิบเบอเรลลินต่อการออกดอกของไฮเดรนเยีย โดยต้นที่ปลูกอยู่บนพื้นที่ที่สูงจากระดับน้ำทะเล 800 - 1,200 เมตร ความยาววันมีผลต่อการออกดอก โดยสภาพวันสั้นทำให้การออกดอกของไฮเดรนเยียลดลงและการใช้กรดจิบเบอเรลลินไม่มีผลต่อการชักนำให้เกิดการออกดอกเพิ่มขึ้น ในขณะที่การปลูกในพื้นที่ที่มีระดับความสูง 300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล การใช้สภาพวันสั้นไม่มีผลต่อการออกดอก ในขณะที่การใช้กรดจิบเบอเรลลินที่ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลทำให้ชักนำการออกดอกได้มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนแปะ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ ที่เชื้อเพื่อต้นพันธุ์ไฮเดรนเยียในการปลูกเลี้ยงและให้ใช้สถานที่ในการวิจัย และขอขอบคุณศูนย์วิจัย สาคิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ให้ใช้สถานที่ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Anothai, A. 2005. Plant in the House, the Beauty of Flowers. Sukkaphajai Publishing, Bangkok. 159 p. (in Thai)
- Bailey, D.A. and T.C. Weiler. 1984. Control of floral initiation in florists' hydrangea. Journal of the American Society for Horticultural Science 109: 785-791.
- Department of Agricultural Extension. 1995. Flower Production on Highland. Department of Agricultural Extension, Bangkok. 109 p. (in Thai)
- Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York. 523 p.
- Littre, B. and E. Strømme. 1975. The influence of temperature, daylength and light intensity on flowering in *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. Acta Horticulturae 51: 285-298.

Tachai, M. 1993. Influence of light and temperature on growth and flowering of hydrangea. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 98 p. (in Thai)

Weiler, T.C. 1980. Hydrangeas. pp. 353–372. *In*: R. A. Larson (ed.). Introduction to Floriculture. Academic Press Inc., New York.

การศึกษาความดีเด่นของลักษณะทางพืชสวนและผลผลิตของพริกพันธุ์ลูกผสม

Heterosis Studies on Horticultural Characteristics and Yield of Chili Hybrids

อััจจิมา ณ จินดา และ จุฑามาส คุ่มชัย*
Aatjima Na Jinda and Jutamas Kumchai*

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: tkkumm6@gmail.com

(Received: 25 May 2019; Accepted: 6 March 2020)

Abstract: The purpose of this research aimed to study heterosis of yield and horticultural characteristics on chili hybrids. Male sterile varieties (A-line) crossed with four fertile varieties (C-line) in a half-diallel cross program. There were 16 hybrids from the crossing program. All combinations grew for varietal evaluation with their parents and commercial variety by using randomized complete block design (RCBD) with three replications and twelve plants per replication. The results showed that fruit yield of 16 hybrids ranged from 350.0-811.7 g/plant. Hybrid A2 × C4 gave high fruit yield at 811.4 g/plant, which was not significantly different with A3 × C2, A1 × C2, A2 × C2, A2 × C1, A2 × C3 and the commercial variety at 750.0, 705.0, 605.0, 593.3, 565.0 and 576.7 g/plant, respectively. Hybrid A2 × C1 showed positive heterosis in all traits, and their heterosis of yield and fruit per plant were 22.9% and 1.3%, respectively. Moreover, the heterosis of fruit length, fruit width, and flesh thickness were 34.0%, 17.0 %, and 5.2%, respectively. Hybrid A1 × C2 also showed high heterosis of yield and fruit per plant (54.1% and 25.1%, respectively). These results concluded that A1 × C2 and A2 × C1 hybrid were suitable to improve for the new commercial hybrid.

Keywords: Chili, F₁ hybrid, male sterile line, heterosis

บทคัดย่อ: การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความดีเด่นของผลผลิตและลักษณะทางพืชสวนในพริกพันธุ์ลูกผสม โดยศึกษาพันธุ์ลูกผสมระหว่างพริกสายพันธุ์เกษตรเพศผู้เป็นหมัน (A line) 4 สายพันธุ์ กับสายพันธุ์ที่มีลักษณะเกษตรเพศผู้ปกติ (C line) 4 สายพันธุ์ วางแผนการผสมแบบ half diallel cross ได้ลูกผสมทั้งหมด 16 คู่ผสม ปลูกทดสอบลูกผสมชั่วที่ 1 ร่วมกับสายพันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์การค้า โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 12 ต้น พบว่าคู่ผสม ทั้ง 16 คู่ ให้ผลผลิตระหว่าง 350.0-811.7 กรัม/ต้น โดยคู่ผสม A2 × C4 ให้ผลผลิตสูง เท่ากับ 811.67 กรัม/ต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับคู่ผสม A3 × C2, A1 × C2, A2 × C2, A2 × C1, A2 × C3 และพันธุ์การค้า ให้ผลผลิตเท่ากับ 750.0, 705.0, 605.0, 593.3, 565.0 และ 576.7 กรัม/ต้น ตามลำดับ คู่ผสม พันธุ์ A2 × C1 ยังแสดงค่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่ทางบวกในทุกลักษณะที่ศึกษา โดยแสดงค่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่ในด้านผลผลิต ร้อยละ 22.9 ลักษณะจำนวนผลต่อต้นร้อยละ 1.3 ความยาวผลร้อยละ 34.0 ความกว้างผลร้อยละ 17.0 และความหนาเนื้อร้อยละ 5.2 เช่นเดียวกับคู่ผสม A1 × C2 แสดงค่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่สูงในด้านผลผลิตต่อต้นและจำนวนผลต่อต้น ร้อยละ 54.1 และร้อยละ 25.1 ตามลำดับ ซึ่งสรุปได้ว่าคู่ผสม A1 × C2 และ A2 × C1 เหมาะสำหรับพัฒนาเพื่อผลิตเป็นพันธุ์ลูกผสมเชิงการค้าต่อไป

คำสำคัญ: พริก ลูกผสมชั่วที่ 1 สายพันธุ์เกษตรเพศผู้เป็นหมัน ความดีเด่น

คำนำ

พริกเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารในการปรุงแต่งรสชาติแปรรูปในอุตสาหกรรมอาหาร และใช้เป็นส่วนประกอบของยาโรคาบางชนิด (Techawongstien, 2006) จากสถิติของ สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์ โดยความร่วมมือจากกรมศุลกากร ปี 2562 (มกราคม - กรกฎาคม) พบว่า การส่งออกพริกมีทั้งรูปพริกสดหรือแช่เย็น พริกบดหรือป่น พริกแห้ง และซอสพริก คิดเป็นมูลค่า 2,492.5 ล้านบาท (Office of Permanent Secretary, Ministry of Commerce, 2019) ปัจจุบันเมล็ดพันธุ์ลูกผสมถูกนำมาใช้ผลิตพืชเพื่อการค้าอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความสม่ำเสมอสูงปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และให้ผลผลิตสูง (Samphantharak, 2003) ความสำคัญของลูกผสมคือมีความแข็งแรง ให้ลักษณะเชิงปริมาณ หรือคุณภาพที่ดีกว่าพันธุ์พ่อแม่หรือแม่ เนื่องจากการปรับปรุงพันธุ์ได้ใช้ประโยชน์จากความดีเด่นเหนือลูกผสม (heterosis หรือ hybrid vigor) (Chongkid, 2005; Singh *et al.*, 2004) Pérez-Grajales *et al.* (2009) ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมในพริกเผ็ดพันธุ์พื้นเมืองของเม็กซิโกทางด้านคุณภาพและผลผลิต พบว่า คู่ผสม Zongolica × Puebla มีค่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่ด้านผลผลิตมากที่สุด

(ร้อยละ 51.0) คู่ผสม Peru × Chiapas มีค่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่ด้านจำนวนผล (ร้อยละ 33.0) และคู่ผสม Puebla × Peru มีค่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่ด้านจำนวนเมล็ด (ร้อยละ 22.0) Shankamag and Madalageri (2006) รายงานว่าพริกคู่ผสม L5 × T14 ให้ค่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่ในด้านจำนวนผลต่อต้น และผลผลิตสูงที่สุด (ร้อยละ 44.3 และ ร้อยละ 165.8 ตามลำดับ) เหมาะสำหรับพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าในอนาคต ซึ่งหากใช้แม่ที่มีลักษณะเกษตรเพศผู้เป็นหมันจะช่วยลดต้นทุนในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม Payakhapaab *et al.* (2012) รายงานว่า พริกคู่ผสม CA1450 × CA1447 และ CA1450 × CA1448 ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์แม่ และพันธุ์การค้าหยกสยาม แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์การค้าจอมทอง 2 และจักรพรรดิ นอกจากนั้นยังพบว่าคู่ผสม CA1450 × CA1448 แสดงลักษณะความดีเด่นเหนือพ่อแม่ในด้านน้ำหนักผลต่อต้น จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักผลผลิต ความกว้างผล ความยาวผล และความหนาเนื้ออีกด้วยลักษณะการเป็นหมันของเกษตรเพศผู้ ถูกนำมาใช้เป็นพันธุ์แม่ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม เพื่อช่วยลดต้นทุนการผลิต การทดลองนี้จึงทำการศึกษาความดีเด่นของผลผลิตและลักษณะทางพืชสวนในพริกลูกผสมโดยใช้ลักษณะสายพันธุ์เกษตรเพศผู้เป็นหมันเป็นสายพันธุ์แม่ เพื่อคัดเลือก

พันธุ์ที่สามารถพัฒนาเป็นพันธุ์การค้าที่ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

การสร้างพันธุ์ลูกผสม

เพาะเมล็ดพริกสายพันธุ์เกสรเพศผู้เป็นหมัน (A line) 4 สายพันธุ์ คือ A1, A2, A3 และ A4 กับสายพันธุ์ที่มีลักษณะเกสรเพศผู้ปกติ (C line) 4 สายพันธุ์ คือ C1, C2, C3 และ C4 วางแผนการผสมแบบ half diallel cross ได้ลูกผสมทั้งหมด 16 คู่ผสม นำลูกผสมที่ได้ทั้ง 16 คู่ผสมปลูกเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์การค้าหายกสยาม วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design (RCBD)) จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 12 ต้น ทำการทดลองที่สาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ ณ ศูนย์วิจัย สาคิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การบันทึกและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการบันทึกข้อมูล ได้แก่ ผลผลิตต่อต้น ลักษณะพืชสวน ได้แก่ ความสูงของต้น จำนวนผลต่อต้น ขนาดผล (ยาวxกว้าง) และความหนาของเนื้อ วิเคราะห์ความแปรปรวนของผลผลิต และลักษณะทางพืชสวน ตามแผนการทดลองแบบ RCBD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference (LSD) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS V.16.0 ทำการประเมินความดีเด่นของพริกลูกผสม โดยคำนวณหาร้อยละความดีเด่นของลูกผสมจากค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์แม่และพ่อ

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การปลูกเปรียบเทียบพันธุ์พริกลูกผสมชั่วที่ 1 ร่วมกับสายพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์การค้า (Figure 1) พบว่าลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ผลผลิตต่อต้น ความสูงของต้น จำนวนผลต่อต้น ขนาดผล และความหนาของเนื้อ

การเจริญเติบโตของพริกพบว่า ความสูงเฉลี่ยของพริกทั้ง 16 คู่ผสม มีความสูงระหว่าง 55.7-102.5 เซนติเมตร ความสูงของพันธุ์พริกที่ทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพันธุ์พริกคู่ผสมที่มีความสูงมากได้แก่ พันธุ์ A4 × C1, A1 × C2, A1 × C1 และ A2 × C1 มีความสูงเท่ากับ 102.5, 99.3, 96.2 และ 91.8 เซนติเมตร ตามลำดับ มีค่าไม่แตกต่างกับพันธุ์การค้าและสายพันธุ์ C4 ซึ่งมีความสูงเท่ากับ 106.0 และ 100.1 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 1) ด้านผลผลิตพบว่าพริกทั้ง 16 คู่ผสม มีน้ำหนักผลผลิตระหว่าง 350.0-811.7 กรัมต่อต้น ผลผลิตต่อต้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่า คู่ผสม A2 × C4, A3 × C2, A1 × C2 และ C4 ให้ผลผลิตต่อต้นมากกว่า 700 กรัม อย่างไรก็ตามคู่ผสมดังกล่าวไม่แตกต่างกันทางสถิติกับพันธุ์การค้า แต่ก็มีแนวโน้มในทิศทางที่ดีหากมีการปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ต่อไป จำนวนผลต่อต้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่า คู่ผสม A3 × C2, C4 และ A2 × C4 มีจำนวนผลต่อต้นมากกว่า 71.0 ผล และไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์การค้าที่เท่ากับ 74 ผล (Table 1) นอกจากผลผลิตที่สูงแล้วลักษณะที่สำคัญสำหรับพริกหนุ่มพันธุ์การค้าของไทย ยังต้องคำนึงถึงองค์ประกอบผลผลิต และคุณภาพผลที่ดีด้วย เช่น ความกว้าง ความยาวของผล เนื้อหนาและแน่น (Tarinta *et al.*, 2016) ด้านลักษณะทางพืชสวนพบว่า พริกทั้ง 16 คู่ผสมมีความยาวผลระหว่าง 10.0-13.6 เซนติเมตร ความยาวผลของพันธุ์พริกที่ทดสอบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ทั้ง 16 คู่ผสม มีความยาวผลน้อยกว่าพันธุ์การค้า ซึ่งมีความยาวผลเท่ากับ 18.3 เซนติเมตร ส่วนความกว้างของผลพริกที่ทดสอบพบว่ามีขนาดกว้างระหว่าง 14.3-25.5 มิลลิเมตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพริกที่มีความกว้างมาก คือ คู่ผสมของ A1 × C3, A2 × C3 และ A1 × C4 มีความกว้างเท่ากับ 25.5, 23.1 และ 22.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าพันธุ์การค้าที่มีความกว้างผลเท่ากับ 16.1 มิลลิเมตร ความหนาเนื้อของผลพริกที่ทดสอบพบว่ามีขนาดหนาเนื้อตั้งแต่ 1.4-2.7 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพันธุ์ที่มีความหนาเนื้อมากที่สุดคือคู่ผสม A1 × C3 มีความหนาเนื้อ 2.7 มิลลิเมตร

ซึ่งมากกว่าพันธุ์การค้า ที่มีความหนาเนื้อ 1.5 มิลลิเมตร

(Table 2)

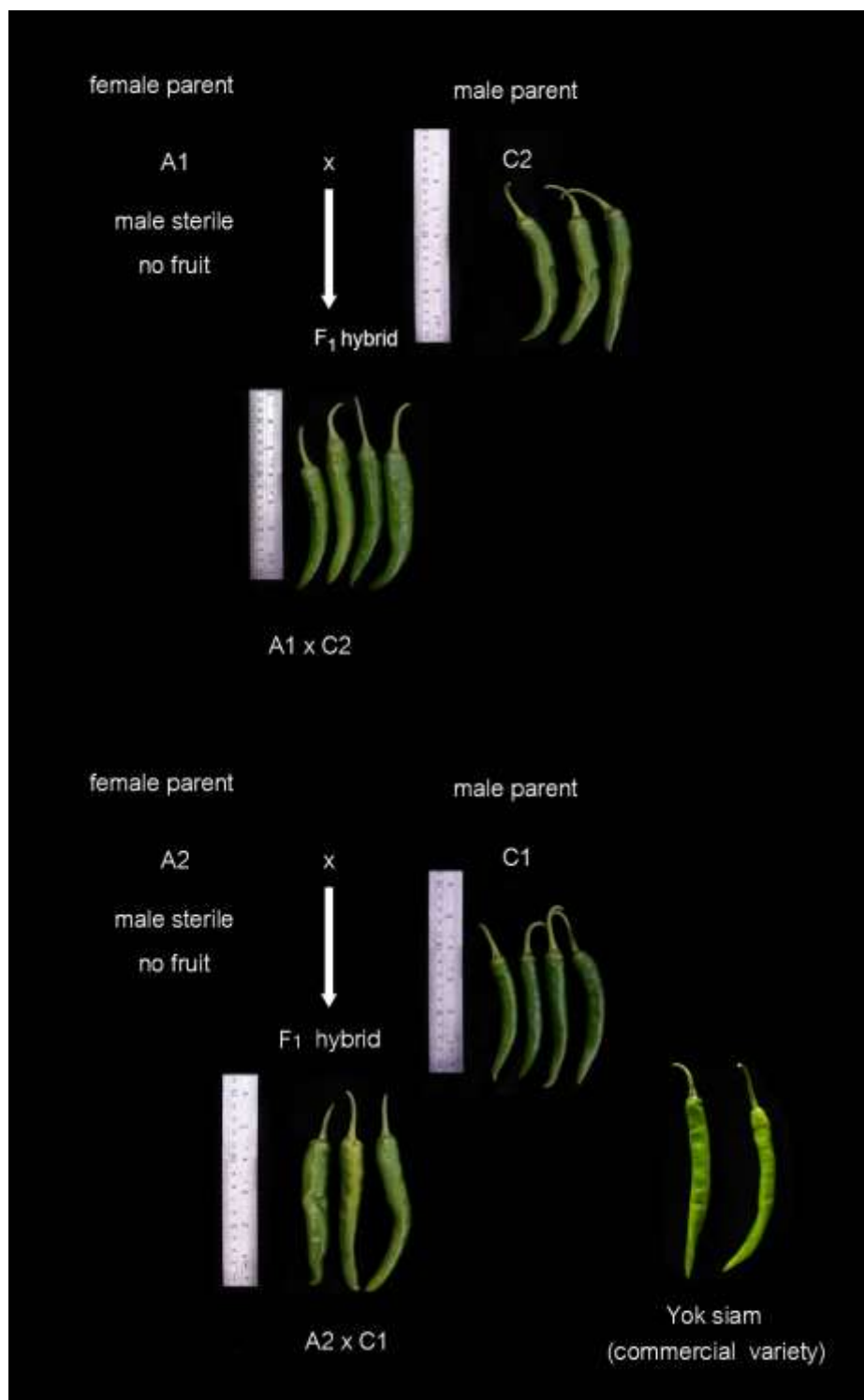


Figure 1. Hybrid A1 × C2, A2 × C1 and a commercial variety

Table 1. Plant height, fruit yield and number of fruits per plant of F₁ hybrids, parental lines, and commercial variety

Code	Height (cm)	Fruit yield per plant (g)	No. of fruits per plant
Female parents			
A1	70.0 ± 4.9 ^{d-h}	-	-
A2	72.0 ± 2.8 ^{d-g}	-	-
A3	75.3 ± 7.6 ^{def}	-	-
A4	70.3 ± 13.9 ^{d-h}	-	-
Male parents			
C1	69.2 ± 3.8 ^{e-h}	483.0 ± 150.9 ^{cde}	59.9 ± 15.6 ^{a-e}
C2	83.7 ± 5.8 ^{bcd}	457.5 ± 51.2 ^{cde}	50.6 ± 5.7 ^{c-f}
C3	44.2 ± 3.8 ⁱ	242.6 ± 68.1 ^e	20.6 ± 6.5 ^g
C4	100.1 ± 11.2 ^a	701.4 ± 154.7 ^{abc}	76.0 ± 4.6 ^{ab}
F ₁ hybrids			
A1 × C1	96.2 ± 11.9 ^{ab}	551.7 ± 99.3 ^{bcd}	54.7 ± 21.2 ^{b-e}
A1 × C2	99.3 ± 12.0 ^{ab}	705.0 ± 77.6 ^{abc}	63.3 ± 8.4 ^{a-d}
A1 × C3	70.2 ± 7.5 ^{d-h}	476.0 ± 128.5 ^{cde}	27.0 ± 6.1 ^{fg}
A1 × C4	62.0 ± 2.6 ^{fgh}	538.3 ± 122.7 ^{bcd}	37.3 ± 9.1 ^{efg}
A2 × C1	91.8 ± 3.3 ^{abc}	593.3 ± 265.4 ^{a-d}	60.7 ± 23.5 ^{a-e}
A2 × C2	78.2 ± 3.4 ^{cde}	605.0 ± 143.4 ^{abc}	44.3 ± 17.2 ^{d-g}
A2 × C3	56.3 ± 3.5 ^{ghi}	565.0 ± 135.9 ^{a-d}	29.3 ± 8.7 ^{fg}
A2 × C4	69.3 ± 15.8 ^{d-h}	811.7 ± 274.4 ^a	71.3 ± 13.6 ^{abc}
A3 × C1	60.3 ± 29.4 ^{fgh}	473.3 ± 76.5 ^{cde}	49.3 ± 15.6 ^{c-f}
A3 × C2	73.7 ± 9.1 ^{def}	750.0 ± 209.0 ^{ab}	80.7 ± 13.7 ^a
A3 × C3	70.2 ± 6.6 ^{d-h}	473.3 ± 70.9 ^{cde}	28.7 ± 3.2 ^{fg}
A3 × C4	69.2 ± 6.3 ^{d-h}	493.3 ± 33.3 ^{cd}	39.0 ± 1.7 ^{d-g}
A4 × C1	102.5 ± 5.8 ^a	481.7 ± 107.5 ^{cde}	56.0 ± 24.8 ^{a-e}
A4 × C2	79.2 ± 5.2 ^{cde}	541.7 ± 215.5 ^{bcd}	60.3 ± 16.0 ^{a-e}
A4 × C3	55.7 ± 9.2 ^{hi}	510.0 ± 36.1 ^{bcd}	29.0 ± 4.6 ^{fg}
A4 × C4	72.7 ± 12.5 ^{def}	350.0 ± 70.0 ^{de}	29.0 ± 3.6 ^{fg}
Commercial variety			
Yok-siam	106.0 ± 8.6 ^a	576.7 ± 230.1 ^{a-d}	74.3 ± 35.5 ^{abc}
F-test	*	*	*
C.V. (%)	13.2	27.9	30.8

* Means followed by the same letter in the same column were not significantly different by LSD test at $P \leq 0.05$

Table 2. Fruit characteristics of F₁ hybrid, parental lines, and commercial variety

Code	Fruit characteristics		
	Length (cm)	Width (mm)	Flesh thickness (mm)
Male parents			
C1	9.0 ± 0.3 ^f	14.3 ± 0.4 ^e	1.6 ± 0.1 ^{efg}
C2	11.5 ± 0.7 ^{b-e}	19.6 ± 3.7 ^{bc}	2.1 ± 0.4 ^{bcd}
C3	9.9 ± 0.5 ^{ef}	23.1 ± 1.6 ^a	2.4 ± 0.2 ^{ab}
C4	10.3 ± 0.4 ^{ef}	16.1 ± 1.1 ^{de}	1.3 ± 0.1 ^{efg}
F ₁ hybrids			
A1 × C1	12.5 ± 1.7 ^{bcd}	16.4 ± 1.3 ^{de}	1.5 ± 0.2 ^{fg}
A1 × C2	13.4 ± 0.6 ^b	16.5 ± 2.1 ^{de}	1.9 ± 0.1 ^{c-f}
A1 × C3	10.0 ± 1.5 ^{ef}	25.5 ± 4.2 ^a	2.7 ± 0.3 ^a
A1 × C4	12.9 ± 0.3 ^{bc}	22.7 ± 0.8 ^{ab}	1.6 ± 0.2 ^{efg}
A2 × C1	12.0 ± 0.4 ^{b-e}	16.7 ± 2.0 ^{cde}	1.6 ± 0.2 ^{efg}
A2 × C2	13.0 ± 0.5 ^{bc}	16.7 ± 1.6 ^{cde}	1.5 ± 0.1 ^{fg}
A2 × C3	13.6 ± 1.4 ^b	23.1 ± 2.3 ^a	2.2 ± 0.1 ^{bc}
A2 × C4	11.7 ± 1.6 ^{b-e}	18.6 ± 1.8 ^{cd}	1.6 ± 0.4 ^{efg}
A3 × C1	11.4 ± 1.5 ^{b-e}	18.0 ± 1.0 ^{cd}	1.6 ± 0.4 ^{efg}
A3 × C2	12.9 ± 0.7 ^{bc}	15.6 ± 1.3 ^{de}	1.9 ± 0.2 ^{cde}
A3 × C3	10.4 ± 0.7 ^{def}	17.1 ± 1.5 ^{cde}	1.4 ± 0.4 ^g
A3 × C4	12.0 ± 3.3 ^{b-e}	18.4 ± 1.1 ^{cd}	1.8 ± 0.3 ^{c-g}
A4 × C1	10.1 ± 1.8 ^{ef}	19.8 ± 2.2 ^{bc}	1.4 ± 0.1 ^g
A4 × C2	11.5 ± 0.5 ^{b-e}	14.3 ± 1.7 ^e	1.7 ± 0.4 ^{d-g}
A4 × C3	10.8 ± 0.6 ^{c-f}	19.6 ± 1.3 ^{bc}	1.6 ± 0.2 ^{efg}
A4 × C4	11.0 ± 3.0 ^{c-f}	18.2 ± 0.9 ^{cd}	1.5 ± 0.5 ^g
Commercial variety			
Yok-siam	18.3 ± 0.4 ^a	16.1 ± 1.6 ^{de}	1.5 ± 0.0 ^{efg}
F-test	*	*	*
CV (%)	11.3	10.2	14.5

* Means followed by the same letter in the same column were not significantly different by LSD test at $P \leq 0.05$

เมื่อพิจารณาค่าความดีเด่นของลูกผสม พบว่า พริกคู่ผสม A2 × C1 นอกจากแสดงค่าเฉลี่ยทางด้านผลผลิตที่เทียบเท่ากับพันธุ์การค้า ยังแสดงค่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่ โดยแสดงค่าทางบวกทุกลักษณะที่ศึกษา ได้แก่ ด้านการเจริญเติบโต แสดงความดีเด่นเหนือพ่อแม่ร้อยละ 34.6 ด้านน้ำหนักผลผลิตและจำนวนผลต่อต้น

แสดงความดีเด่นเหนือพ่อแม่ร้อยละ 22.9 และร้อยละ 1.3 ตามลำดับ ด้านความยาวผล ความกว้างผล และความหนาเนื้อ แสดงความดีเด่นเหนือพ่อแม่ร้อยละ 34.0, 17.0 และร้อยละ 5.2 ตามลำดับ (Table 3) สอดคล้องกับการทดลองของ Kumar *et al.* (2014) ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมในพริก พบว่า พริกลูกผสมชั่วที่ 1 นอกจากจะให้

Table 3. Percentage of heterosis of 16 F₁ hybrids

Code	Height (cm)	Fruit yield per plant (g)	No. of fruits per plant	Fruit characteristics		
				Length (cm)	Width (mm)	Flesh thickness (mm)
A1 × C1	41.0**	14.2**	-8.7	39.6*	14.9	-3.9
A1 × C2	27.6**	54.1**	25.1*	16.5*	-16.1	-11.7
A1 × C3	17.4*	96.2**	31.2*	1.4*	10.6	8.6
A1 × C4	-27.2	-23.3	-50.9	25.8*	40.6*	1.9
A2 × C1	34.6**	22.9**	1.3	34.0*	17.0	5.2
A2 × C2	0.4	32.2**	-12.4	13.1*	-14.9	-30.8
A2 × C3	-5.7	132.9**	42.6*	37.5*	-0.2	-11.9
A2 × C4	-18.6	15.7**	-6.1	13.7*	-19.6	26.2
A3 × C1	-11.6	-2.0	-17.6	27.2*	26.2	5.2
A3 × C2	-5.4	63.9**	59.3**	12.0*	-20.4	-10.3
A3 × C3	17.4*	95.1**	39.3*	5.5*	-26.2	-42.2
A3 × C4	-18.8	-29.7	-48.7	16.5*	14.5	11.3*
A4 × C1	50.3**	-0.3	-6.5	12.8*	38.5*	-7.1
A4 × C2	1.7	18.4**	19.2*	-0.1	-27.4	-19.2
A4 × C3	-6.8	110.2**	40.9*	1.1*	-15.0	-34.4
A4 × C4	-14.7	-50.1	-61.8	7.1*	13.2	-9.4

*Significant at $P \leq 0.05$; ** Significant at $P \leq 0.01$

ผลผลิตที่สูงกว่าพ่อแม่ ยังให้ลักษณะคุณภาพของผลที่ดี เช่น ผลมีขนาดใหญ่ ยาวและกว้าง จำนวนผลต่อต้นมาก Spaldon *et al.* (2015) รายงานว่าความดีเด่นเหนือพ่อแม่ นั้นเป็นผลมาจากอิทธิพลของยีนซิมและส่วนน้อยมาจาก ปฏิกริยาร่วมระหว่างยีนที่อยู่คนละตำแหน่ง ยิ่งพ่อแม่มี ลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน ความดีเด่นของ ลูกผสมก็ยังมีมากขึ้น

สรุป

การศึกษาความดีเด่นของพริกลูกผสม จำนวน 16 คู่ผสม พบว่า พริกคู่ผสม A1 × C2 และ A2 × C1 ให้ ผลผลิตเทียบเท่ากับพันธุ์การค้า และแสดงลักษณะความ ดีเด่นเหนือพ่อแม่ในด้านต่าง ๆ ทั้งความสูง ผลผลิต และ ลักษณะทางพืชสวน จึงเหมาะสำหรับนำไปพัฒนาเพื่อ ผลิตเป็นพันธุ์ลูกผสมเชิงการค้าต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจาก บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และขอขอบคุณ ศุนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิยะ คณะ เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำ การทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Chongkid, B. 2005. Principles and technique of plant breeding. Thammasat printing house, Bangkok. 186 p. (in Thai)
- Kumar, R.L., O. Sridevi, U. Kage, P.M. Salimath, D. Madalageri and P. Natikar. 2014. Heterosis studies in Chilli (*Capsicum annuum* L.).

- International Journal of Horticulture 4(8): 40-43.
- Office of Permanent Secretary, Ministry of Commerce. 2019. Exports group structure. (Online). Available: http://www.ops3.moc.go.th/infor/menucomth/stru1_export/export_re/report.asp (September 17, 2019). (in Thai)
- Payakhapaab, S., D. Boonyakiat and M. Nikornpun. 2012. Evaluation of heterosis and combining ability of yield components in Chillies. Journal of Agricultural Science (Toronto) 4(11): 154-161.
- Pérez-Grajales, M., V.A. González-Hernández, A. Peña-Lomelí and J. Sahagún-Castellanos. 2009. Combining ability and heterosis for fruit yield and quality in Manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R & P) landraces. Revista Chapingo Serie Horticultura 15(1): 47-55.
- Samphantharak, K. 2003. Plant Breeding: Basic Techniques and Concepts. Kasetsart University Press, Bangkok. 237 p. (in Thai)
- Shankarnag, B. and M. B. Madalageri. 2006. Studies on heterosis in male sterile based hybrids in chili (*Capsicum annuum* L.). International Journal of Agricultural Science 2(2): 327-329.
- Singh, P.K., S.K. Dasgupta and S.K. Tripathi. 2004. Hybrid Vegetable Development. Food Products Press, New York. 441 p.
- Spaldon, S., S. Hussain, N. Jabeen and P. Lay. 2015. Heterosis studies for earliness, fruit yield and yield attributing traits in chilli (*Capsicum annuum* L.). The Bioscan 10(2): 813-818.
- Tarinta, T., A. Bankhantod, N. Jeeatid and S. Techawongstien. 2016. Heterosis in F₁ hybrids from maintainer female parent lines of cayenne pepper (*Capsicum annuum* L.). Songklanakarin Journal of Plant Science 3(Suppl. 3): 1-8. (in Thai)
- Techawongstien, S. 2006. Chili: Production Management and Breeding. Press Media Co., Bangkok. 168 p. (in Thai)
-

ผลของสารละลายกรดซาลิไซลิกและกรดจิบเบอเรลลิกต่อความงอก
และความแข็งแรงของเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร

Effects of Salicylic Acid and GA₃ Solutions on Germination and Vigor of 'Khaek
Dam Kaset' Papaya Seed

วิลาสินี รัตนพันธุ์ รัฐพล จัตรบรรยงค์ และ พิจิตรา แก้วสอน*

Wilasinee Rattanaphan, Rattaphol Chatbanyong and Pichitra Kaewsorn*

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author: Email: pichitra.k@ku.th

(Received: 10 July 2019; Accepted: 19 November 2019)

Abstract: The methods of germination enhancement of 'Khaek Dam Kaset' papaya seed to enhance the germination and seed vigor were studied. Seeds were soaked in reverse osmosis (RO) water, gibberellic acid (GA₃) solution and salicylic acid (SA) solution in different concentrations for 16 hours. The experiment was designed in a completely randomized design composed of 7 treatments: RO water, 500 mg/L GA₃ solution and SA solution at 50, 100, 250 and 500 mg/L compared with the untreated seed (control). The results showed that soaked seeds in 500 mg/L GA₃ solution had no effect on germination when compared with control, but these treatments had faster mean germination time (MGT) than control (approximately 1 day). Moreover, soaked seeds in all concentrations of SA solution did not affect on germination, when compared with control.

Keywords: Speed of germination, mean germination time, seed enhancement

บทคัดย่อ: ศึกษาวิธีการกระตุ้นความงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรเพื่อให้เมล็ดมีความงอกและความแข็งแรงสูง โดยแช่เมล็ดในน้ำ reverse osmosis (RO) สารละลายกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) และสารละลายกรดซาลิไซลิก (SA) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 7 กรรมวิธี ได้แก่ น้ำ RO สารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลาย SA ความเข้มข้น 50, 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) พบว่าการแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อความงอกเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดในชุดควบคุม แต่กรรมวิธีนี้มีผลทำให้เวลาเฉลี่ยในการงอกเร็วกว่าเมล็ดในชุดควบคุม (ประมาณ 1 วัน) นอกจากนี้การแช่เมล็ดในสารละลาย SA ทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อความงอกเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดในชุดควบคุม

คำสำคัญ: ความเร็วในการงอก เวลาเฉลี่ยในการงอก การกระตุ้นความงอกของเมล็ด

คำนำ

ในปี พ.ศ. 2561 ประเทศไทยมีการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะละกอประมาณ 374.50 กิโลกรัม มูลค่าประมาณ 88 ล้านบาท (Agricultural Regulatory Office, 2018) พันธุ์มะละกอที่นิยมปลูกเป็นพันธุ์การค้า ได้แก่ แขกดำ แขกนวล และฮอลแลนด์ (Babpraserth, 2008) มะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรได้ถูกพัฒนาพันธุ์โดยภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม เป็นพันธุ์ที่มีเนื้อแดงไม่ผ่านการตัดแต่งพันธุกรรม ผลทรงกระบอกยาว น้ำหนักผลประมาณ 1.5 กิโลกรัม ผลดิบมีเปลือกสีเขียวเข้ม เนื้อสีขาว เนื้อกรอบหวาน ผลสุกมีเปลือกสีส้ม เนื้อสีแดง เนื้อหนา มีความหวาน 13.3 องศาบริกซ์ เหมาะสำหรับบริโภคผลดิบและผลสุก การบริโภคผลสุก 100 กรัมต่อวัน มีปริมาณวิตามินบีเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย (Kasetsart University Research and Development Institute, 2019) การขยายพันธุ์ทำได้หลายวิธี เช่น การเพาะเมล็ด การปักชำ การตอกิ่ง แต่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด เนื่องจากทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ผลิตต้นได้ในปริมาณมาก (Sansuk, 2014)

เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพเป็นปัจจัยสำคัญ แต่มักพบปัญหาเมล็ดมีความงอกต่ำและงอกไม่สม่ำเสมอ อาจมีสาเหตุเกิดจากความแข็งแรงของเมล็ด ลักษณะทางพันธุกรรม การแก่ของเมล็ด เยื่อหุ้มเมล็ด และปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ แสง ความเป็นกรด-ด่าง

(pH) ออกซิเจน ความชื้น (Duangpatra, 1986) เมล็ดมะละกอมีการพักตัวเนื่องจากสารเคมีที่พบได้บริเวณเนื้อของผล เยื่อหุ้มเมล็ด และน้ำยางของมะละกอ ในเมล็ดมะละกอพบสาร benzyl isothiocyanate (BITC) ปริมาณ 2,910 มิลลิกรัมต่อลิตร ของน้ำหนักแห้ง เมื่อเมล็ดแก่สูงขึ้นเป็น 6,800 มิลลิกรัมต่อลิตร (Tang, 1971) การทำลายการพักตัวของเมล็ดมีหลายวิธี เช่น การแช่น้ำ การแช่ในกรด การแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไนเตรด (KNO_3) การแช่ในสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น กรดจิบเบอเรลลิก (gibberellic acid; GA_3) กรดซาลิไซลิก (salicylic acid; SA) (Riley, 1981) Zanotti *et al.* (2014) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ Formosa ในสารละลาย GA_3 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร นาน 48 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอก 57 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากเมล็ดที่แช่ในน้ำ มีความงอกเพียง 32 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Desai *et al.* (2017) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ Madhubindu ในสารละลาย GA_3 ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เมล็ดมีความงอก 77 และ 87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเมล็ดเป็นเวลา 10 และ 20 วันหลังเพาะเมล็ด ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ISTA (2018) แนะนำวิธีทำลายการพักตัวของเมล็ดมะละกอ โดยแช่ในน้ำหรือแช่ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

กรดซาลิไซลิก (SA) เป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่พืชสร้างขึ้นเองในธรรมชาติ ทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีน และเป็นสัญญาณควบคุมการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ

สารหรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเข้ามาช่วยจับกับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ด (Hayat *et al.*, 2010) ส่วนรายงานการใช้สารละลายกรดซาลิไซลิกในการกระตุ้นความงอกของเมล็ดพันธุ์มะละกอ พบว่ายังไม่ประสบความสำเร็จ ตามงานของ Pompatcharareungkul (2014) ศึกษาการกระตุ้นความงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำที่มีความงอกเริ่มต้น 44 เปอร์เซ็นต์ และมีเมล็ดสดที่ยังไม่งอกหรือเมล็ดพักตัวสูง 56 เปอร์เซ็นต์ ด้วยการแช่ในสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 0.005-0.050 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 0.015 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เมล็ดมีความงอกลดลงจาก 44 เปอร์เซ็นต์ เหลือเพียง 29 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดที่แช่ในน้ำ reverse osmosis มีความงอก 25.5 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Sukkaew (2016) ศึกษาการกระตุ้นความงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ด้วย KNO_3 , CaCl_2 , GA_3 , กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid; AsA), อโทนิค (Atonik) และ SA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอก 58.50 เปอร์เซ็นต์ และมีเวลาเฉลี่ยในการงอก 14.02 วัน ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) ตามที่ Khlaykhum *et al.* (2018) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรในน้ำที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1, 24 และ 48 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอกต่ำกว่าเมล็ดที่ไม่แช่ในน้ำและการแช่เมล็ดในน้ำอุ่น เป็นเวลา 1 และ 24 ชั่วโมง ไม่มีผลทำให้เมล็ดงอกได้เพิ่มขึ้น

จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า KNO_3 , GA_3 และ SA สามารถกระตุ้นความงอกของเมล็ดพันธุ์มะละกอได้ แต่ยังไม่มีการศึกษาวิธีการกระตุ้นความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร ซึ่งมีปัญหาเมล็ดมีความงอกต่ำ งอกช้า และไม่สม่ำเสมอ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารละลายกรดจิบเบอเรลลิกและ SA ต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

เมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตร จากภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม มีน้ำหนัก 17.64 กรัมต่อ 1,000 เมล็ด มาศึกษาการกระตุ้นความงอกด้วยการแช่เมล็ด 400 เมล็ด ในน้ำ reverse osmosis (RO) สารละลาย GA_3 หรือสารละลาย SA ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 16 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) มี 7 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด ได้แก่ เมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) เมล็ดที่แช่ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลาย SA ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (น้ำ RO), 50, 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

บันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์ความงอก นำเมล็ดมาทดสอบความงอกในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการเพาะทราย (sand germination test) จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด ที่อุณหภูมิสดระหว่าง 20 และ 30 องศาเซลเซียส โดยวางไว้ในที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ในสภาพมืด และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ในสภาพมีแสง ประเมินความงอกตามเกณฑ์ของ ISTA โดยนับจำนวนต้นอ่อนปกติที่มีลักษณะรากสมบูรณ์ ลำต้นตั้งตรง และใบเลี้ยงสีเขียว 2 ใบ นับจำนวนต้นอ่อนผิดปกติ เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย โดยนับจำนวนต้นอ่อนปกติครั้งแรกที่ 12 วันหลังเพาะเมล็ด และนับครั้งสุดท้ายที่ 28 วันหลังเพาะเมล็ด (ISTA, 2018) นำมาคำนวณ จากสูตร

เปอร์เซ็นต์ความงอก = $(\text{จำนวนต้นอ่อนปกติ} / \text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}) \times 100$

2. เวลาเฉลี่ยในการงอก (mean germination time; MGT) เพาะเมล็ดเช่นเดียวกับวิธีการทดสอบความงอก นับจำนวนต้นอ่อนปกติทุกวัน เป็นเวลา 28 วันหลังเพาะเมล็ด จากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณหาเวลาเฉลี่ยในการงอก มีหน่วยเป็น วัน จากสูตร

$MGT = \frac{\sum(nT)}{\sum n}$ โดย n คือ จำนวนต้นอ่อน
ปกติในแต่ละวัน, T คือ จำนวนวันที่เมล็ดงอกเป็นต้นอ่อน
ปกติ (Ellis and Roberts, 1980)

3. ความงอกในสภาพโรงเรือน เพาะเมล็ดใน
ถาดหลุมพลาสติกขนาด 104 หลุม โดยใช้พีทมอสเป็น
วัสดุเพาะ จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 25 เมล็ด ในโรงเรือนตาข่าย
หลังคาพลาสติก อุณหภูมิเฉลี่ยภายในโรงเรือนประมาณ
 35 ± 2 องศาเซลเซียส นับจำนวนต้นอ่อนปกติที่ 12 และ 28
วันหลังเพาะเมล็ด จากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณเปอร์เซ็นต์
ความงอก จากสูตร

ความงอก (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนต้นอ่อนปกติ/
จำนวนเมล็ดทั้งหมด) $\times$ 100

วิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลทางสถิติ
(analysis of variance) ด้วยวิธี F-test และเปรียบเทียบ
ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple
range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
โดยใช้โปรแกรม R

ผลการทดลองและวิจารณ์

ความงอกของเมล็ด

การกระตุ้นความงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์
แขกดำเกษตรด้วยการแช่ในน้ำ RO สารละลาย GA_3 และ
สารละลาย SA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง
เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม)

พบว่าเมล็ดที่แช่ในสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 50
มิลลิกรัมต่อลิตร มีความงอกสูงที่สุด คือ 74.50
เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับการแช่เมล็ดใน
สารละลาย SA ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มี
ความงอกต่ำที่สุด คือ 60.50 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่าง
ทางสถิติกับเมล็ดชุดควบคุม (Table 1) อาจเป็นเพราะ
เมล็ดยังคงมีการพักตัว ซึ่งการแช่เมล็ดในสารละลาย SA
ไม่ส่งผลในการกระตุ้นความงอก อย่างไรก็ตาม มีแนวโน้ม
ทำให้เมล็ดมีความงอกเพิ่มขึ้น 11.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อ
เปรียบเทียบกับเมล็ดชุดควบคุม อาจเป็นเพราะ SA เป็น
สารที่มีหน้าที่ควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมและเป็น
สัญญาณควบคุมการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่
เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์
ระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ด (Hayat *et al.*, 2010)
อย่างไรก็ตาม การแช่เมล็ดมะละกอในน้ำ RO สารละลาย
 GA_3 และ SA ทุกกรรมวิธี ไม่มีผลทำให้เมล็ดมีความงอก
แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดชุดควบคุม แต่
การแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม
ต่อลิตร มีแนวโน้มทำให้เมล็ดมีความงอกสูงกว่าความงอก
มาตรฐานของ พ.ร.บ. พันธุ์พืช พ.ศ. 2518 ฉบับปรับปรุงปี
พ.ศ. 2556 ที่ได้กำหนดคุณภาพของเมล็ดพันธุ์มะละกอ
ต้องมีความงอกไม่น้อยกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (The
Secretariat of the Cabinet, 2013) ส่วนสารละลาย SA
ความเข้มข้นสูง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลยับยั้งการงอก
ของเมล็ดได้ นอกจากนี้เมล็ดที่ผ่านการกระตุ้นความงอก

Table 1. Seed germination and mean germination time of 'Khaek Dam Kaset' papaya by the different soaking treatments under laboratory (LAB) and greenhouse (GH) conditions

Treatment	LAB germination (%)	Mean germination time (days)	GH germination (%)
Untreated seed (control)	63.50 ab	15.81 b	65.00 abc
RO water	66.50 ab	14.64 c	53.00 bc
500 mg/L GA_3 solution	68.00 ab	14.86 c	76.00 a
50 mg/L SA solution	74.50 a	15.90 b	72.00 ab
100 mg/L SA solution	69.50 ab	15.69 b	59.00 abc
250 mg/L SA solution	70.00 ab	16.00 b	67.00 abc
500 mg/L SA solution	60.50 b	17.06 a	47.00 c
CV (%)	11.08	3.42	24.01

¹Means within the same column follow by different letters showed significantly different between treatments by DMRT at $P \leq 0.05$

ด้วยการแช่ในน้ำ GA_3 และ SA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ยังมีจำนวนเมล็ดสดไม่งอกและเมล็ดตายไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดในชุดควบคุม ยกเว้นในสารละลาย SA ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบมีเมล็ดสดที่ยังไม่งอก 29.00 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดในชุดควบคุม (Figure 1, 2)

การกระตุ้นความงอกเมล็ดที่แช่ในสารละลาย SA ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบเมล็ดสดไม่งอกสูงสุด คือ 29.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเมล็ดสดไม่งอก 23.50 และ 23.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) มีเมล็ดสดไม่งอก 21.50 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1) เมล็ดดูดน้ำเข้าไปภายในเมล็ดเพื่อให้ความชื้นของเมล็ดเพิ่มขึ้น และอยู่ในปริมาณที่เพียงพอต่อการเกิดกระบวนการต่าง ๆ สำหรับการงอก (Duangpatra, 1986) ซึ่งการเคลื่อนที่ของน้ำเข้า

สู่เมล็ด คือ ศลศักย์ (water potential; Ψ) น้ำเคลื่อนที่ตามระดับของพลังงานจากที่มีค่าชลศักย์สูงไปสู่บริเวณที่มีค่าชลศักย์ต่ำ ซึ่งในน้ำบริสุทธิ์มีค่าชลศักย์สูงที่สุดมีค่าเป็น 0 MPa ส่วนค่าชลศักย์ของสารละลายหรือน้ำที่มีอนุภาค หรือสารประกอบละลายอยู่มีค่าเป็นลบ (Chanprasert, 2010) ซึ่งกระบวนการนี้เมล็ดต้องได้รับน้ำในระยะเวลาหนึ่งที่เพียงพอและแตกต่างกันไปตามชนิดพืช (Bewley and Black, 1978) จากการทดลองนี้การแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าชลศักย์ของสารละลายต่ำ ทำให้เมล็ดดูดซับน้ำได้ช้า จึงชะลอการดูดน้ำของเมล็ดในระยะที่ 2 หรือ lag phase ให้ความชื้นภายในเมล็ดไม่เพียงพอต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวข้องกับการงอก จึงทำให้เมล็ดงอกได้ช้า สอดคล้องกับ Pompatchareungkul (2014) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำในสารละลาย SA ความเข้มข้น 0.005 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำภายใน

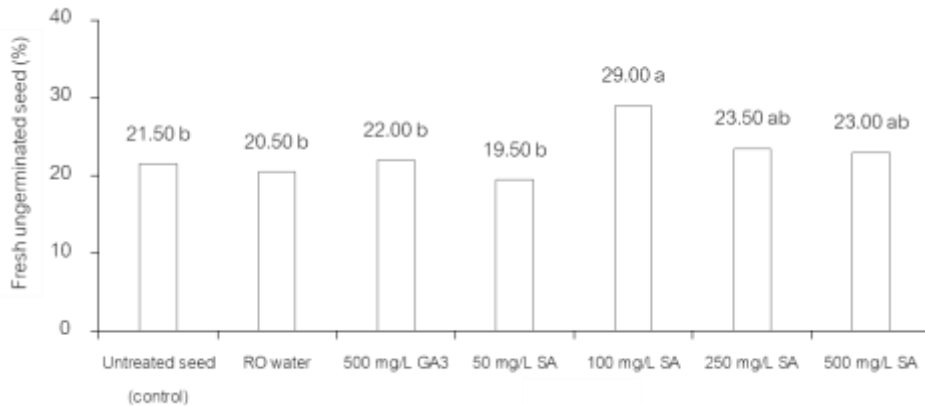


Figure 1. Fresh ungerminated seeds of 'Khaek Dam Kaset' papaya by the different soaking treatments

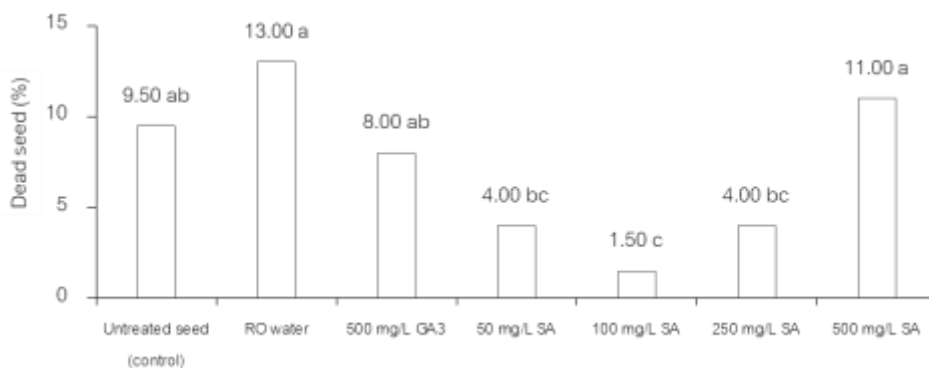


Figure 2. Dead seeds of 'Khaek Dam Kaset' papaya seed by the different soaking treatments

เมล็ดน้อยกว่าการแช่ในสารละลาย SA ความเข้มข้น 0.001 เปอร์เซ็นต์ เพราะสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 0.005 เปอร์เซ็นต์ มีค่าซดักย่นน้อยกว่าสารละลาย SA ความเข้มข้น 0.001 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เมล็ดที่แช่ในสารละลาย SA ดูน้ำได้น้อยกว่าเมล็ดที่แช่ในสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 0.001 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองนี้พบเมล็ดสดไม่ออกถึง 20-30 เปอร์เซ็นต์ อาจมีสาเหตุจากการพักตัวของเมล็ด เนื่องจากเป็นเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวมาใหม่ จึงส่งผลให้เมล็ดยังมีสารยับยั้งการงอก (Tang, 1971) ซึ่งสอดคล้องกับ Alonso-Esquivel *et al.* (2011) รายงานการเก็บรักษาเมล็ดมะละกอพันธุ์ Maradol Roja ในช่วง 6 เดือนแรก มีความงอกต่ำ (55.6 เปอร์เซ็นต์) แต่หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 9 และ 12 เดือน เมล็ดมีความงอกเพิ่มขึ้น

การแช่เมล็ดในน้ำ RO มีผลทำให้มีเมล็ดตายสูงที่สุด คือ 13.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) และเมล็ดที่แช่ในสารละลาย GA₃ ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเมล็ดตาย 11.00, 9.50 และ 8.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเมล็ดตายมีสาเหตุเกิดจากเชื้อราเข้าทำลายส่วนเมล็ดที่แช่ในสารละลาย SA ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบเมล็ดตายน้อยที่สุด คือ 1.50 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2) เมล็ดที่แช่ในสารละลาย SA ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเมล็ดตายน้อยกว่าเมล็ดในชุดควบคุม แต่มีเมล็ดสดที่ยังไม่งอกสูงกว่าเมล็ดในชุดควบคุม (Figure 1) แสดงว่าความเข้มข้นของสารละลาย

SA ที่ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลยับยั้งหรือชะลอการงอกของเมล็ดหรือเมล็ดยังคงมีการพักตัว

การกระตุ้นความงอกด้วยวิธีการแช่น้ำไม่มีผลทำให้เมล็ดเกิดเป็นต้นอ่อนผิดปกติ (Figure 3) โดยทุกกรรมวิธีพบต้นอ่อนผิดปกติจากการทดลองมีเพียง 0.00-5.50 เปอร์เซ็นต์ ที่มีลักษณะรากงอ ใบเลี้ยงเน่า เปลือกเมล็ดติดกับใบเลี้ยง และลำต้นโค้งงอ

เวลาเฉลี่ยในการงอก (mean germination time)

ใน Table 1 แสดงเวลาเฉลี่ยในการงอกบอกถึงความเร็วในการงอกของเมล็ดหรือความแข็งแรงของเมล็ด โดยเมล็ดที่มีค่าเวลาเฉลี่ยในการงอกน้อย แสดงว่าเมล็ดนั้นมีความแข็งแรงและงอกได้เร็ว (Sukprakarn, 2008) การงอกของเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรที่ผ่านการแช่ในน้ำ RO สารละลาย GA₃ และสารละลาย SA เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมล็ดที่แช่ในน้ำ RO มีผลทำให้เมล็ดมีเวลาเฉลี่ยในการงอกเร็วที่สุด คือ 14.64 วัน และไม่แตกต่างทางสถิติกับการแช่เมล็ดในสารละลาย GA₃ ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเวลาเฉลี่ยในการงอก 14.86 วัน แต่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) ซึ่งเร็วกว่าประมาณหนึ่งวัน เพราะทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่ม น้ำสามารถซึมผ่านเข้าไปได้ง่าย ทำให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น นอกจากนี้ GA₃ มีคุณสมบัติช่วยทำลายการพักตัวของเมล็ดและกระตุ้นความงอกของเมล็ดได้ (Desai *et al.*, 1997) โดยไปกระตุ้นการทำงานของเอมไซม์

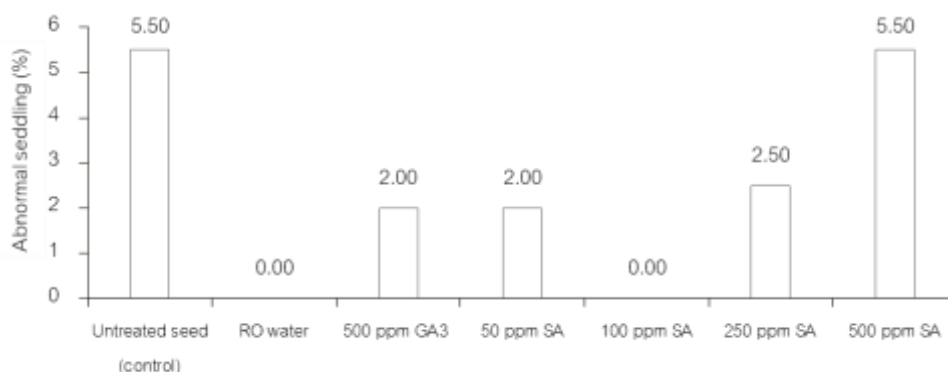


Figure 3. Abnormal seedlings of 'Khaek Dam Kaset' papaya seed by the different soaking treatment

α -amylase และ β -amylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยแป้งที่สะสมอยู่ในเอนโดสเปิร์มของเมล็ด ทำให้พืชสามารถนำน้ำตาลมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในการหายใจระหว่างการงอกของเมล็ด (Aekaraj, 2003) สอดคล้องกับงานวิจัยที่ใช้สารละลาย GA_3 ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการกระตุ้นความงอกของเมล็ดมะละกอ ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น พันธุ์กรรม ระดับการพักตัวเมล็ด สารยับยั้งการงอกภายในเมล็ด หากเมล็ดมีระดับการพักตัวลึก (deep dormancy) อาจมีสารยับยั้งการงอกมาก (Bewley and Black, 1978) Furutani (1987) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ Kapoho Solo ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ ทำให้เมล็ดมีจำนวนวันแทงอกได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เร็วกว่าเมล็ดที่แช่น้ำและเมล็ดที่ไม่ได้แช่น้ำ นอกจากนี้ Desai *et al.* (2017) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ Madhubindu ในสารละลาย GA_3 ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เมล็ดมีความงอก 77 และ 87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อ 10 และ 20 วันหลังเพาะเมล็ด ตามลำดับ ซึ่งเร็วกว่าเมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก จากงานทดลองนี้เมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรที่แช่ในสารละลาย SA ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเวลาเฉลี่ยในการงอกช้าที่สุด คือ 17.06 วัน อาจเป็นเพราะสารละลาย SA ที่ความเข้มข้นสูง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีตัวถูกละลายมากทำให้สารละลายความเข้มข้นสูงขึ้นซึ่งเป็นการลดค่าศักย์ (water potential) ทำให้ขัดขวางการดูดน้ำเข้าสู่เมล็ด (Bradford, 1990)

ความงอกในสภาพโรงเรือน (greenhouse germination)

จากการเพาะเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรในสภาพโรงเรือนด้วยวิธีการแช่เมล็ดตามกรรมวิธีที่ศึกษาเป็นเวลา 16 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) พบว่าการแช่เมล็ดมีผลต่อความงอกในสภาพโรงเรือน (Table 1) โดยเมล็ดที่แช่ในสารละลาย GA_3 ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความงอกในสภาพโรงเรือนสูงที่สุด คือ 76.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และการแช่เมล็ดในน้ำ RO มีความงอกในสภาพโรงเรือนต่ำที่สุดและไม่แตกต่างทางสถิติ คือ

47.00 และ 53.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นความงอกโดยการแช่เมล็ดในสารละลาย GA_3 ช่วยให้เมล็ดงอกได้สูงขึ้นประมาณ 11 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดในชุดควบคุม อาจเป็นเพราะสารละลาย GA_3 เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งเซลล์และขยายตัวของเซลล์ มีผลทำให้เซลล์มีรูปร่างยืดยาวขึ้น จึงกระตุ้นการเจริญของรากแรกเกิด (radicle) ซึ่งสารละลาย GA_3 นิยมนำมาใช้กระตุ้นการงอกและทำลายการพักตัวของเมล็ดพืช (Bewley and Black, 1978) มีงานวิจัยที่ใช้สารละลาย GA_3 ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมแตกต่างกันเพื่อกระตุ้นความงอกของเมล็ดมะละกอ เช่น Zanotti *et al.* (2014) รายงานการแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์ Formosa ในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอก 57 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่แช่น้ำ มีความงอกเพียง 32 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Carrillo-Castañeda *et al.* (2013) รายงานการใช้วิธีการเตรียมพร้อมเมล็ดพันธุ์ (seed priming) ของเมล็ดมะละกอ 'Maradol' ด้วยสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 10^{-3} M ทำให้เมล็ดมีความงอกในห้องปฏิบัติการและความงอกในสภาพโรงเรือนสูง 69.3 และ 78.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่เตรียมพร้อมเมล็ดพันธุ์มีความงอกเพียง 30.7 และ 53.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการศึกษาวิธีการกระตุ้นความงอกในทุกกรรมวิธีไม่มีผลทำให้เมล็ดมีความงอกในสภาพโรงเรือนแตกต่างทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่กระตุ้นความงอก (ชุดควบคุม) อาจเป็นเพราะสารละลาย SA ที่ระดับความเข้มข้นสูง 100, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ครอบคลุมหรือลดการแบ่งเซลล์ของเมล็ดในระหว่างการงอก (Hayat *et al.*, 2010) ทำให้เมล็ดมีความแข็งแรงต่ำ เมื่อนำมาเพาะในสภาพโรงเรือนที่มีอุณหภูมิสูงประมาณ 35 องศาเซลเซียส จึงทำให้มีความงอกต่ำ นอกจากนี้เมล็ดที่ผ่านการกระตุ้นความงอกมีความงอกในห้องปฏิบัติการสูงกว่าความงอกในสภาพโรงเรือน (Table 1) จึงสามารถแสดงถึงความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยสภาพโรงเรือนที่มีอุณหภูมิสูงประมาณ 35 องศาเซลเซียส จึงมีความงอกต่ำ

เนื่องจากทดสอบความงอกมาตรฐานในห้องปฏิบัติการเป็นการทดสอบภายใต้สภาพปัจจัยที่เหมาะสมต่อเมล็ดพันธุ์จะงอกได้ ยกเว้นเมล็ดที่แช่ในสารละลาย GA_3 ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความงอกในสภาพโรงเรือนสูงกว่าในห้องปฏิบัติการ แสดงว่าเมล็ดมีความแข็งแรง เนื่องจากสารละลาย GA_3 จะช่วยกระตุ้นการสังเคราะห์เอนไซม์ α -amylase และ β -amylase ในการย่อยแป้งที่สะสมอยู่ในเมล็ดให้เป็นน้ำตาลมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในการหายใจและกระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นในระหว่างการงอกของเมล็ด (Aekaraj, 2003)

สรุป

1. การแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรในสารละลาย GA_3 ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และในน้ำ RO เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอกไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดในชุดควบคุม แต่กรรมวิธีนี้มีผลทำให้เมล็ดมีเวลาเฉลี่ยในการงอกเร็วกว่าเมล็ดในชุดควบคุมประมาณหนึ่งวัน

2. การแช่เมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำเกษตรในสารละลาย SA ทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อความงอกเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดในชุดควบคุม ซึ่งระดับความเข้มข้นสูง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังทำให้เมล็ดงอกช้ากว่าชุดควบคุมประมาณหนึ่งวัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์เพื่องานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Aekaraj, C. 2003. Seed Technology. Tarnkasettakum Publishing, Nonthaburi. 197 p. (in Thai)

Agricultural Regulatory Office. 2018. Quantity and value of controlled seed exports for commercial purposes. (Online). Available: <http://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2019/03/PS1PL-Ex61.pdf> (July 5, 2019). (in Thai)

Alonso-Esquivel, M., Y. Ortiz-Lopez, R. Ramos-Ramirez, H. Oliva-Diaz and M. Capote-del Sol. 2011. Dormancy of papaya seeds cv. Maradol Roja during storage. *Agronomia Mesoamericana* 22(2): 351-357.

Babpraserth, C. 2008. Papaya. (Online). Available: <http://www.rakbankerd.com/agriculture/page.php?id=514&s=tblplant&w=%E0%B8%95%E0%B9%89%E0%B8%99%E0%B8%81%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%97%E0%B8%A2> (July 4, 2019). (in Thai)

Bewley, J.D. and M. Black. 1978. Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination: Volume 1. Development, Germination and Growth. Springer-Verlag, Berlin. 306 p.

Bradford, K.J. 1990. A water relations analysis of seed germination rates. *Plant Physiology* 94: 840-849.

Carrillo-Castañeda, G.M., F. Bautista-Calles and A. Villegas-Monter. 2013. Postharvest seed treatments to improve the papaya seed germination and seedlings development. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 16(1): 133-141.

Chanprasert, W. 2010. Seed Physiology. Extension and Training Office Press, Kasetsart University, Bangkok. 163 p. (in Thai)

Desai, B.B., P.M. Kotecha and D.K. Salunkhe. 1997. Seeds Handbook: Biology, Production, Processing and Storage. Marcel Dekker, Inc., New York. 627 p.

- Desai, A., B. Panchal, A. Trivedi and D. Prajapati. 2017. Studies on seed germination and seedling growth of papaya (*Carica papaya* L.) cv. Madhubindu as influenced by media, GA₃ and cow urine under net house condition. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(4): 1448-1451.
- Duangpatra, J. 1986. Seed Technology. 2nd ed. Agriculture Book Group, Bangkok. 210 p. (in Thai)
- Ellis, R.H. and E.H. Roberts. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany* 45(1): 13-30.
- Furutani, S.C. 1987. Influence of temperature, KNO₃, GA₃ and seed drying on emergence of papaya seedling. *Scientia Horticulturae* 32: 67-72.
- Hayat, Q., S. Hayat, M. Irfan and A. Ahmad. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and Experimental Botany* 68(1): 14-25.
- ISTA. 2018. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Basserdorf, Switzerland. 298 p.
- Kasetsart University Research and Development Institute. 2019. Papaya cv. Khaek Dam Kaset. (Online). Available: <https://www3.rdi.ku.ac.th/wp-content/uploads/2018/08/มะละกอ-แขกดำเกษตร.pdf> (July 23, 2019). (in Thai)
- Khlaykhum, A., D. Thawornchareon and K. Thaipong. 2018. Effect of prehydration on germination of papaya seed. *Agricultural Science Journal* 49: 1(Suppl.): 399-401. (in Thai)
- Pompatchareungkul, P. 2014. Effect of salicylic acid on germination of 'Khaek Dam' papaya (*Carica papaya* L.) seed. B.S. Special Problem. Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. 16 p. (in Thai)
- Riley, J.M. 1981. Growing rare fruit from seed. *CRFG Yearbook* 13: 1-47.
- Sansuk, M. 2014. Papaya is Making Rich Money. Nana Publishing, Bangkok. 160 p. (in Thai)
- Sukkaew, S. 2016. Effect of seed enhancement by chemical solution on quality of 'Holland' papaya (*Carica papaya* L.) seed. B.S. Special Problem. Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. 23 p. (in Thai)
- Sukprakarn, S. 2008. Seed Testing for Horticultural Crop. 10th ed. Department of Horticulture, Kasetsart University, Bangkok. 153 p. (in Thai)
- Tang, C.S. 1971. Benzyl isothiocyanate of papaya fruit. *Phytochemistry* 10(1): 117-121.
- The Secretariat of the Cabinet. 2013. Announcement of Ministry of Agriculture and Cooperatives on "Standard quality and storage of controlled seed (Volume 2) B.E. 2556". *Royal Thai Government Gazette*. 130, Special Chapter 148 Ngor. p. 32-33. Dated 31 October B.E. 2556. (in Thai)
- Zanotti, R.F., D.C.F.S. Dias, R.S. Barros, F.M. DaMatta and G.L. Oliveira. 2014. Germination and biochemical changes in 'Formosa' papaya seeds treated with plant hormones. *Acta Scientiarum, Agronomy* 36(4): 435-442.

ผลของการใช้บาซิลลัสละลายฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยเคมีต่อผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยในชุดดินปากช่อง

Effects of Phosphate-solubilizing Bacillus Application with Chemical Fertilizer on Yield and Yield Components of Sugarcane in Pak Chong Soil Series

สิรินภา ช่วงโอภาส* และ ชัยสิทธิ์ ทองจุ
Sirinapa Chungopast* and Chaisit Thongjoo

ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Nakhon Pathom 73140, Thailand

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

(Received: 3 July 2019; Accepted: 9 March 2020)

Abstract: The objective of this research was to study the phosphate solubilizing and bacterial leaching when adding PSB biofertilizer (phosphate-solubilizing bacteria biofertilizer) in Pak Chong soil series and studying the effect of using PSB biofertilizer with chemical fertilizers for sugarcane cultivation. The study was divided into 2 experiments. The first experiment was the study of the effect of using PSB biofertilizer on the solubilization of phosphate in Pak Chong soil series by completely randomized design in 3 replications and 7 treatments with 7 different rate of PBS fertilizer applications (2-64 g/kg soil). Available phosphorus and bacteria number in the leaching water through the soil column were examined in the 90 day period. The results found that Pak Chong soil series with PSB biofertilizer at 64 g/kg soil had the highest available phosphorus in leaching water as 31.10 mg/l. Although continuous water washout, but also found that the amount of available phosphorus was high. This indicated that the bacteria still had phosphate solubilizing activity and had survival in the soil. For second experiment, a complete randomized experiment were conducted to study of the effect of using PSB bio-fertilizer with chemical fertilizer on yield and yield components of Lampang cultivars sugarcane in pots as 9 treatments 3 replications. The results found that adding PSB biofertilizer together with use of chemical fertilizers according to soil analysis resulted in yield and yield components of sugarcane increased following by the increasing use of PSB biofertilizer. The maximum yield of sugarcane when using chemical fertilizer 15-7.5-15 kg/rai with PSB biofertilizer at the rate of 36 kg/rai was showed. Therefore, it is recommended to apply PSB biofertilizer in phosphates solubilizing for promoting the yield and yield components of sugarcane that is grown in a low amount of available phosphorus soil such as Pak Chong soil series.

Keywords: Phosphate-solubilizing bacteria, *Bacillus* sp., sugarcane

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการละลายฟอสเฟตและการชะล้างของแบคทีเรียเมื่อใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปี (phosphate-solubilizing bacteria biofertilizer) ในชุดดินปากช่อง และศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปีร่วมกับปุ๋ยเคมีในการปลูกอ้อย โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปีต่อการละลายฟอสเฟตในชุดดินปากช่อง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 3 ซ้ำ และ 7 ตำรับการทดลอง ที่มีการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปีที่แตกต่างกัน 7 อัตรา (2 - 64 กรัมต่อกิโลกกรัมดิน) ตรวจสอบปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และจำนวนของแบคทีเรียในน้ำที่ชะล้างผ่านคอลัมน์ดิน ในระยะเวลา 90 วัน ผลการศึกษาพบว่าชุดดินปากช่องที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปี อัตรา 64 กรัมต่อกิโลกกรัมดิน มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในน้ำชะล้างสูงสุดเท่ากับ 31.10 มิลลิกรัมต่อลิตร และแม้ว่าจะมีการชะล้างด้วยน้ำอย่างต่อเนื่องแต่ยังพบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียยังคงมีการทำกิจกรรมการละลายฟอสเฟตและมีการอยู่รอดในดิน สำหรับการทดลองที่ 2 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ในการศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปีร่วมกับปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยพันธุ์ลำปางที่ปลูกในกระถาง ทำการทดลอง 9 ตำรับ 3 ซ้ำ ผลการศึกษาพบว่าการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปีร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินทำให้ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยที่ปลูกในชุดดินปากช่องมีผลผลิตเพิ่มขึ้นตามอัตราการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปีที่เพิ่มขึ้น และอ้อยมีผลผลิตสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยเคมี 15-7.5-15 กิโลกรัมต่อไร่ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปีอัตรา 36 กิโลกรัมต่อไร่ ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิโอสปีในการละลายฟอสเฟตเพื่อส่งเสริมผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อย ที่ปลูกในดินที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำ เช่นชุดดินปากช่องได้

คำสำคัญ: แบคทีเรียละลายฟอสเฟต บาซิลลัส อ้อย

คำนำ

ธาตุฟอสฟอรัสในดินที่อยู่ในรูปฟอสเฟตไอออน คือ ไฮโดรเจนฟอสเฟต (HPO_4^{2-}) และไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (H_2PO_4^-) ซึ่งเป็นรูปที่สามารถละลายได้ในน้ำและเป็นประโยชน์ต่อพืช ฟอสฟอรัสช่วยในการเจริญเติบโตของรากแขนงและรากฝอยในระยะแรก ช่วยให้ดอก ผล และเมล็ดของพืชสมบูรณ์ หากสภาพดินเป็นกรดจะทำให้เหล็ก ไอออนและอะลูมิเนียมไอออนจะเข้าทำปฏิกิริยากับฟอสเฟตไอออนเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ เช่น เฟอร์ริกฟอสเฟต (FePO_4) และอะลูมิเนียมฟอสเฟต (AlPO_4) เป็นต้น ในขณะที่สภาพดินเป็นด่างแคลเซียมไอออนและแมกนีเซียมไอออนจะทำปฏิกิริยากับฟอสเฟตไอออนเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ เช่น ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) และแมกนีเซียมฟอสเฟต ($\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$) เป็นต้น จึงเป็นสาเหตุของปัญหาการตรึงฟอสฟอรัสในดิน ส่วนพีเอชที่เป็นกลาง (pH 6.5-7) ฟอสเฟตจะอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ ในงานวิจัยนี้เลือกชุดดินปากช่องในการทดลอง เนื่องจากลักษณะและสมบัติดินของชุดดินปากช่อง เป็นดินลึกมาก ดินบนเป็นดิน

เหนียวหรือดินเหนียวปนทรายแป้ง สีนํ้าตาลปนแดงเข้ม ดินล่างเป็นดินเหนียว สีนํ้าตาลปนแดงเข้ม ถึงสีแดง พีเอชในดินบนเป็นกรดปานกลางถึงเป็นกลาง (pH 6.0-7.0) แต่ในดินล่างเป็นกรดจัดมากถึงเป็นกรดจัด (pH 4.5-5.5) ดังนั้น อาจพบเหล็กและแมงกานีสสะสมในดินล่าง และก่อให้เกิดการตรึงฟอสฟอรัสในดิน พบปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำในชุดดินปากช่องทั้งในดินลึก 0-25, 25-50 และ 50-100 เซนติเมตร (Office of soil Resources Survey and Research, 2019) จึงเหมาะสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ชุดดินปากช่องมีการระบายน้ำดีปานกลางถึงดี ความอุดมสมบูรณ์ต่ำถึงปานกลาง เป็นกลุ่มชุดดินที่ 29 เป็นดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งพื้นที่ปลูกอ้อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือมี 4,750,671 ไร่ (Office of the Cane and Sugar Board, 2017) และพื้นที่ปลูกอ้อยของเกษตรกรส่วนใหญ่มีสภาพดินที่ไม่ค่อยเหมาะสม แต่ยังสามารถปลูกอ้อยได้ขึ้นอยู่กับการจัดการดิน จากตัวอย่างการสำรวจพื้นที่ของเกษตรกรที่ปลูกอ้อยในเขตปฏิรูปที่ดินจังหวัดขอนแก่นมีการปลูกอ้อยในชุดดินปากช่องร้อยละ 11.11 (Agricultural Land Reform Office, 2019)

โดยทั่วไปฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงสุดในดินจะอยู่ระหว่างพีเอช 6 ถึง 7 (White, 2003) การใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตจะทำให้ฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายน้ำได้ยากสามารถละลายออกมาได้ เช่น *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* และ *Rhizobium* (Kanamnuay, 2007; Mala, 2007) ซึ่งมีกลไกหลักที่สำคัญคือการสร้างและปลดปล่อยกรดออกนอกเซลล์ ทำให้ค่าพีเอชของสภาพแวดล้อมลดลง หรือกรดไฮดรอกซิลบางชนิดอาจเกิดคีเลตกับแคลเซียมและเหล็ก จึงทำให้ฟอสเฟตละลายได้มากขึ้น กรดอินทรีย์ที่จุลินทรีย์สร้างและปลดปล่อยออกมามีหลายชนิด ได้แก่ กรดฟอร์มิก อะซิติก โพรพิโอนิก แลคติก และไกลโคลิก เป็นต้น หรืออาจเป็นการสร้างกรดอินทรีย์ ได้แก่ ไนตริก ซัลฟูริก เป็นต้น (Alori *et al.*, 2017) รายงานของ Saeid *et al.* (2018) ทำการทดสอบ *Bacillus megaterium*, *B. cereus* และ *B. subtilis* พบว่ามีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และการใส่ *B. megaterium* ร่วมกับกระดูกปลา 5 กรัมต่อลิตร ทำให้ฟอสฟอรัสที่ปลดปล่อยออกมาสูงสุดเท่ากับ 483 มิลลิกรัมต่อลิตร การประยุกต์ใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตบ่งชี้ถึงประโยชน์ที่มีต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพน้ำอ้อย และยังทำให้ลดปริมาณปุ๋ยฟอสฟอรัส 25 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงได้รับผลผลิตอ้อยเพิ่มขึ้น 12.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสร่วมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Sundara *et al.*, 2002) ปัจจุบันแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้ถูกนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ เพื่อใช้ในด้านการผลิตพืช เช่น ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสบี ซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดกลม ประกอบไปด้วยแบคทีเรียในกลุ่มบาซิลัสที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต งานวิจัยนี้ได้นำปุ๋ยชีวภาพนี้มาศึกษาประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตในชุดดินปากช่อง การชะล้างแบคทีเรียและทดสอบการใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตของอ้อยในกระถาง

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ดินของชุดดินปากช่อง

สุ่มเก็บตัวอย่างดินจากชุดดินปากช่อง บริเวณตำบลสิงห์ อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี พิกัด N14.066332 E99.232837 ที่ความลึก 0-30 เซนติเมตร นำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร แล้วนำมาวิเคราะห์สมบัติดินบางประการก่อนการทดลอง ได้แก่ พีเอชโดยวัดด้วยพีเอชมิเตอร์ ค่าอีซีวัดด้วยอีซีมิเตอร์ (Department of Agriculture, 2005) วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุโดยวิธี Walkey and Black (1934) วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดโดยย่อยตัวอย่างด้วยกรดเข้มข้นผสม $\text{HClO}_4\text{:HNO}_3$ (อัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตร) ใช้รีเอเจนต์ของโมลิบดีนัมนาเดต อ่านค่าด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 400-420 นาโนเมตร (Department of Agriculture, 2005) วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์โดยวิธี Bray II (Bray and Kurtz, 1945) โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ โดยสกัดกับแอมโมเนียมอะซิเตตที่พีเอช 7.0 (Pratt, 1965) และ ลักษณะเนื้อดินตามวิธีบีเปต (Department of Soil Science, 2011)

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในปุ๋ยชีวภาพฟิเอสบี

ศึกษาปริมาณแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในห้องปฏิบัติการ โดยชั่งปุ๋ยชีวภาพฟิเอสบี 10 กรัม จากนั้นเจือจางสารละลายให้อยู่ในช่วง 10^{-1} - 10^{-7} ดูดสารละลายจากความเจือจางที่เหมาะสม 10^{-5} , 10^{-6} และ 10^{-7} มาบีเปตอย่างละ 0.1 มิลลิเมตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารอาหารฟิโคสคายา (Pikovskaya) สำหรับเลี้ยงแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Mala *et al.*, 2018) แล้วเกลี่ยเชื้อในจานเพาะเชื้อทำ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 24-30 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 2-7 วัน นับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่ปรากฏวงใสล้อมรอบโคโลนี และบันทึกผล

การศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีต่อการละลายของฟอสเฟตในชุดดินปางช่อง

ศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีต่อการละลายของฟอสเฟตในชุดดินปางช่อง ได้ดำเนินการในสภาพห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรกำแพงแสน ระหว่างเดือนสิงหาคม 2559 ถึงกรกฎาคม 2560 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 7 ดำรับการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ ได้แก่ ดำรับที่ 1 ดำรับควบคุม ดำรับที่ 2-7 คือปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปี 2, 4, 8, 16, 32 และ 64 กรัม ตามลำดับ นำดินตัวอย่างดินจากชุดดินปางช่อง ที่ผ่านการร่อนจากตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร มาผสมกับปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปี ซึ่งมีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตในอัตราต่าง ๆ กัน ต่อดิน 1 กิโลกรัม ใส่ไผ่คอล์มนดิน ประกอบด้วยกระบอกจากพลาสติกพีวีซี มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร ความสูง 18 เซนติเมตร และปากกระบอกรูปกรวยซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของช่องระบาย 2 เซนติเมตร มีลวด และผ้าขาวบางกันตรงส่วนปลายคอล์มนที่น้ำจะไหลลงมา หลังจากนั้นเทน้ำกลั่นมาเชื้อ

500 มิลลิลิตร ใส่คอล์มนดินแต่ละคอล์มนเพื่อเก็บตัวอย่างน้ำที่ผ่านการชะล้าง โดยเทน้ำทุก ๆ 10 วัน เป็นระยะเวลา 90 วัน นำไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ตามกรรมวิธีของ Bray and Kurtz (1945) และปริมาณแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในน้ำชะล้าง ตามกรรมวิธีของ Mala *et al.* (2018)

การศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีที่มีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยในกระถาง

ศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีร่วมกับปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยพันธุ์ลำปางที่ปลูกในกระถาง ได้ดำเนินการทดลอง ณ โรงเรือนทดลองของภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน ระหว่างเดือนสิงหาคม 2559 ถึงกรกฎาคม 2560 โดยวางแผนวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จำนวน 9 ดำรับ โดยรายละเอียดของดำรับได้แสดงไว้ใน Table 1 แบ่งใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปี 2 ครั้ง ๆ ละครั้งอัตราในแต่ละดำรับทดลอง ที่อายุ 2 และ 4 เดือนหลังปลูก ปลูกอ้อยในกระถางพลาสติกสาน

Table 1. Experimental treatments of sugarcane culture in Pak Chong soil series

Treatments		Detail	Code	Macronutrient (N-P ₂ O ₅ -K ₂ O kg/rai)
T1	No fertilizer input		control	0-0-0
T2	Chemical fertilizer input according to soil analysis		FI _{DOA}	12-6-12
T3	Chemical fertilizer input according to soil analysis with PSB biofertilizer at a rate of 12 kg/rai		FI _{DOA} +PSB ₁₂	12-6-12
T4	Chemical fertilizer input according to soil analysis with PSB biofertilizer at a rate of 24 kg/rai		FI _{DOA} +PSB ₂₄	12-6-12
T5	Chemical fertilizer input according to soil analysis with PSB biofertilizer at a rate of 36 kg/rai		FI _{DOA} +PSB ₃₆	12-6-12
T6	Chemical fertilizer input 125 % of soil analysis		FI _{125%-DOA}	15-7.5-15
T7	Chemical fertilizer input 125 % of soil analysis with PSB biofertilizer at a rate of 12 kg/rai		FI _{125%-DOA} +PSB ₁₂	15-7.5-15
T8	Chemical fertilizer input 125 % of soil analysis with PSB biofertilizer at a rate of 24 kg/rai		FI _{125%-DOA} +PSB ₂₄	15-7.5-15
T9	Chemical fertilizer input 125 % of soil analysis with PSB biofertilizer at a rate of 36 kg/rai		FI _{125%-DOA} +PSB ₃₆	15-7.5-15

FI = Fertilizer input, DOA= Department of Agriculture, and PSB= Phosphate-solubilizing bacteria

ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 18 นิ้ว โดยฝังท่อนพันธุ์อ้อย 1 ท่อนต่อกระถาง (มีจำนวน 3 ตา) มีการให้น้ำทุก ๆ 15 วัน จนกระทั่งอ้อยมีอายุ 8 เดือน เก็บข้อมูลผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยที่อายุ 12 เดือน ได้แก่ ความยาวลำ เส้นผ่าศูนย์กลางลำ น้ำหนักต่อลำ จำนวนปล้องต่อลำของอ้อย ผลผลิตของอ้อยสด ค่าซีซีเอส (commercial cane sugar) ตามกรรมวิธีของ Jeenyew *et al.* (2013) และผลผลิตน้ำตาล ตามกรรมวิธีของ Hunsigi (1993) จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลและเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สมบัติดินบางประการของชุดดินปากช่อง

สมบัติดินบางประการของชุดดินปากช่อง มีค่าพีเอชเท่ากับ 5.76 เป็นกรดปานกลาง อีซี 0.20 เดซิซีเมนซ์ต่อเมตร ดินไม่เค็ม อินทรีย์วัตถุปานกลาง 1.64 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสทั้งหมด 151.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำ 3.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ต่ำ มีค่าเท่ากับ 47.38 และ 44.84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แคลเซียมสูงเท่ากับ 1,170 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (FAO Project Staff and Land Classification Division, 1973) ลักษณะเนื้อดินเป็นดินเหนียวโดยมีเปอร์เซ็นต์ทราย หยาบ แฉก และดินเหนียวเท่ากับ 11.19, 18.02 และ 70.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำปริมาณอินทรีย์วัตถุ ปริมาณ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มากำหนดอัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับอ้อย คือ 12, 6 และ 12 กก. N, P₂O₅ และ K₂O ต่อไร่ ตามลำดับ (Department of Agriculture, 2010) จะเห็นได้ว่าชุดดินปากช่องมีปริมาณโพแทสเซียมต่ำซึ่งปรับปรุงโดยการใส่ปุ๋ยเคมี และในชุดดินนี้แม้จะมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดสูงแต่มีปัญหาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำ โดยงานวิจัยนี้เน้นการแก้ปัญหาปริมาณฟอสฟอรัสที่ต่ำโดยใช้ปุ๋ยชีวภาพ

จึงนำไปเป็นตัวอย่างดินทดลองการละลายฟอสเฟตโดยแบคทีเรียในขั้นตอนต่อไป

ปริมาณของบราซิลละลายฟอสเฟตในปุ๋ยชีวภาพพีเอสบี

ผลการตรวจนับปริมาณบราซิลในปุ๋ยชีวภาพพบว่าปุ๋ยชีวภาพพีเอสบีมีจำนวนแบคทีเรียเฉลี่ย 8.28×10^6 ซีเอฟยูต่อ 1 เม็ดปุ๋ย ซึ่งตรงตามฉลากปุ๋ยชีวภาพระบุไว้ว่ามีประมาณ 10^6 เซลล์ต่อ 1 เม็ดปุ๋ย หรือ 2.90×10^8 ซีเอฟยูต่อกรัมแห้งของปุ๋ย ขณะที่ปุ๋ยมีความชื้นเท่ากับ 0.18 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตระดับนี้เพียงพอที่จะเกิดกิจกรรมอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานปริมาณแบคทีเรียโดยทั่วไป ที่ควรเตรียมผงเชื้อหรือหัวเชื้อให้มีจำนวนความหนาแน่นของเซลล์อยู่ที่ 10^8 - 10^9 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร สำหรับแตรากพีชหรือใส่ลงดิน (Martinez-Viveros *et al.*, 2010) ปุ๋ยชีวภาพที่เป็นแบคทีเรียละลายฟอสเฟตควรมีปริมาณจุลินทรีย์ไม่น้อยกว่า 10^8 โคโลนีต่อกรัม และกำหนดเกณฑ์ตลาดเคลื่อนขึ้นต่ำไม่เกินร้อยละ 10 ของปริมาณ จุลินทรีย์รับรอง (The Secretariat of the Cabinet, 2009)

ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และจำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในน้ำชะล้าง

จากการทดลองด้วยวิธีทำคอลัมน์ดิน ตำรับที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพพีเอสบีอัตราต่าง ๆ ในชุดดินปากช่อง (Figure 1a) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นทุก ๆ 10 วันอย่างต่อเนื่อง ยกเว้นในตำรับควบคุม พบปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ผันแปรอยู่ในช่วง 2.70-5.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดระยะเวลาการศึกษา 90 วัน โดยตำรับที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีเอสบี อัตรา 64 กรัมต่อกิโลกรัมดิน ที่ระยะ 90 วัน มีค่าฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงสุดเท่ากับ 31.10 มิลลิกรัมต่อลิตร จากค่าวิเคราะห์น้ำเริ่มต้นในชุดดินปากช่องมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เท่ากับ 2.70 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำ แม้ว่าดินจะมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดมาก (151.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แต่พืชก็ไม่สามารถนำไปใช้ได้ เมื่อใส่ปุ๋ยชีวภาพ

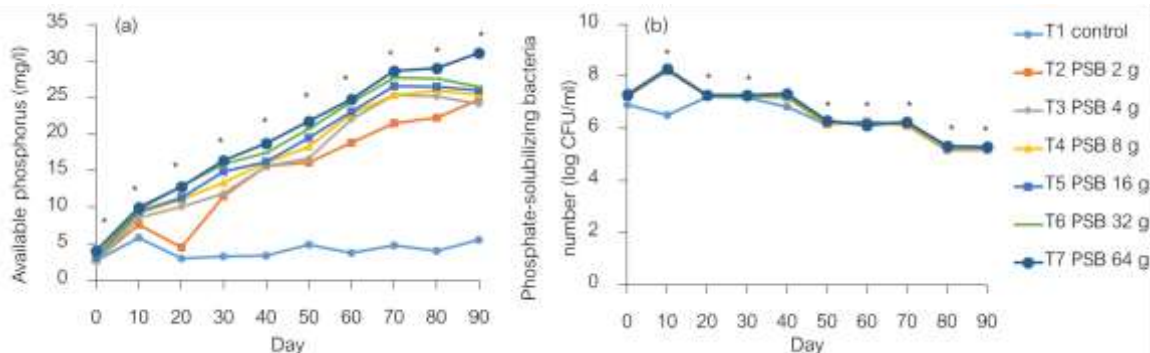


Figure 1. Effects of different PBS-biofertilizer application rates on available phosphorus (a) and the number of PSB (b) in water leached from Pak Chong soil series during 90 days of experiment. The significant differences by using DMRT at $P < 0.05$

ฟิเอสปีลงไปทำให้มีการละลายฟอสเฟตสูงขึ้นและทำให้ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Sharma *et al.* (2013) รายงานความหลากหลายของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตและความสามารถผลิตกรดอินทรีย์ เช่น *B. subtilis* และ *B. megaterium* ผลิตกรดแลคติก กรดมาลิก กลุ่มบาซิลลัสเป็นแบคทีเรียละลายฟอสเฟตช่วยเพิ่มการดูดซึมฟอสฟอรัสโดยพืช (Rodríguez and Fraga, 1999) และรายงานของ Kang *et al.* (2014) แสดงให้เห็นว่า *B. megaterium* mjl212 เป็นแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่สามารถใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพเพิ่มผลผลิต และการเจริญเติบโตของต้นมันฝรั่ง ข้อมูลจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปี อัตรา 2-64 กรัม/กิโลกรัมดินทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นตามอัตราการใส่ปุ๋ยชีวภาพ โดยอัตราที่แนะนำคือปุ๋ยชีวภาพ 64 กรัม ต่อดิน 1 กิโลกรัมที่ทดลอง สำหรับการปลูกพืชในกระถาง เนื่องจากให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงสุด อย่างไรก็ตามควรมีการทดสอบการใช้ปุ๋ยชีวภาพนี้เพิ่มเติมเพื่อหาอัตราที่เหมาะสมสำหรับการใช้ในแปลงผลิตจริง

จำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากน้ำชะล้างผ่านคอลัมน์ (Figure 1b) ในชุดดินปากช่อง พบว่าที่ระยะเวลา 10 วัน มีจำนวนแบคทีเรียที่ถูกชะออกมาประมาณ 8 ลีออคซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ยกเว้นตัวรับที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.52 ลีออคซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร

เนื่องจากในตำรับอื่น ๆ มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีลงไปถึงทำให้มีแบคทีเรียจำนวนมากที่ตัวรับควบคุม และแบคทีเรียนั้นมีโอกาสถูกชะออกมามากกว่า ตัวรับที่ไม่ใส่ปุ๋ยและไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพ ที่ระยะเวลา 20 วัน มีปริมาณแบคทีเรียถูกชะออกมาใกล้เคียงกันแต่ปริมาณฟอสเฟตในน้ำที่ถูกชะออกมาแตกต่างกัน แสดงว่าอัตราปุ๋ยชีวภาพที่สูงจะมีแบคทีเรียที่เหลืออยู่ในดินมากกว่า จึงสามารถเกิดกิจกรรมการละลายฟอสเฟตได้มากกว่า หลังจากระยะเวลา 40 วัน มีจำนวนแบคทีเรียที่ถูกชะลดลงมาจนกระทั่งที่ 90 วัน โดยมีค่าประมาณ 5 ลีออคซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าปริมาณของแบคทีเรียที่ถูกชะล้างออกมาไม่มีผลต่อปริมาณฟอสเฟตที่ถูกชะออกมากับน้ำ แบคทีเรียยังคงอยู่รอดและดำเนินกิจกรรมในดิน เป็นเวลา 70 วัน ในชุดดินปากช่องโดยไม่จำเป็นต้องใส่ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีเพิ่ม แต่หลังจากนั้นปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จะลดลง เป็นไปได้ว่าจำนวนแบคทีเรียที่อยู่ในดินลดน้อยลงหรือปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินที่ถูกตรึงไว้ลดลง ดังนั้นการศึกษาแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในน้ำชะล้างเป็นการประเมินทางอ้อมจากการชะล้างว่าแม้จะมีการชะล้างแต่ยังคงมีการละลายฟอสเฟตอยู่ แสดงว่าแบคทีเรียสามารถอยู่รอดในดินและสามารถแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนตลอดจนมีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตในดินต่อไป

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยที่อายุ 12 เดือน

การใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินอย่างเดียว หรือการใส่ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีอัตราต่าง ๆ มีผลให้ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยพันธุ์ลำปางที่ระยะเก็บเกี่ยวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Table 2) กล่าวคือในตำรับ 9 ($FI_{125\%-DOA} + PSB_{36}$) มีผลให้ความยาวลำของอ้อย เส้นผ่านศูนย์กลางลำของอ้อย น้ำหนักต่อลำของอ้อย และจำนวนปล้องต่อลำของอ้อยมากที่สุด เท่ากับ 163.35 เซนติเมตร 3.28 เซนติเมตร 1.63 กิโลกรัมต่อลำ และ 23.42 ปล้องต่อลำ ตามลำดับ รองลงมาคือตำรับ 8 ($FI_{125\%-DOA} + PSB_{24}$) ซึ่งไม่แตกต่างกับตำรับ 7 ($FI_{125\%-DOA} + PSB_{12}$) ขณะที่ตำรับควบคุมมีผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยน้อยที่สุด โดยมีผลทำให้ความยาวลำของอ้อยเท่ากับ 67.48 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางลำของอ้อยเท่ากับ 2.53 เซนติเมตร น้ำหนักต่อลำของอ้อยเท่ากับ 0.87 กิโลกรัมต่อลำ และจำนวนปล้องต่อลำของอ้อยเท่ากับ 14.28 ปล้องต่อลำ การใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินอย่างเดียว หรือการใส่ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีอัตราต่าง ๆ มีผลให้ผลผลิตอ้อยสด ค่าซีซีเอส และผลผลิตน้ำตาลของอ้อยที่ระยะเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน

กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Table 3) กล่าวคือในตำรับ 9 ($FI_{125\%-DOA} + PSB_{36}$) มีผลทำให้ผลผลิตของอ้อยสดค่าซีซีเอส และผลผลิตน้ำตาลของอ้อยมากที่สุดเท่ากับ 6.55 กิโลกรัมต่อกระถาง 11.42 เปอร์เซ็นต์ และ 748.01 กรัมต่อกระถาง ซึ่งอาจเป็นเพราะฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญต่อการสร้างน้ำตาลซูโครสจากแป้งและรีดิคิงซูการ์ที่สะสมภายในลำต้น (Mengead, 2019) รองลงมาคือในตำรับ 8 ($FI_{125\%-DOA} + PSB_{24}$) ตำรับ 7 ($FI_{125\%-DOA} + PSB_{12}$) และตำรับ 5 ($FI_{DOA} + PSB_{36}$) ตามลำดับ ขณะที่ตำรับควบคุมมีผลให้ผลผลิตอ้อยสดน้อย ค่าซีซีเอสและผลผลิตน้ำตาลของอ้อยน้อยที่สุดเท่ากับ 1.46 กิโลกรัมต่อกระถาง 8.26 เปอร์เซ็นต์ และ 120.60 กรัมต่อกระถาง ตามลำดับ การปลูกพืชที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยในระยะยาวจะมีผลให้ปริมาณธาตุอาหารในดินลดน้อยลง และไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิตของพืช (Pumpuang *et al.*, 2014) ดินที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นชุดดินปากช่อง ซึ่งมีฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินมากแต่ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ไม่เพียงพอ ดังนั้นการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิเอสปีจะช่วยละลายฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยเคมีส่งผลให้อ้อยมีการตอบสนองที่ดี การเจริญเติบโตของอ้อยจากการทดลองข้างต้นมีความสอดคล้องกับการใช้แบบที่เรียละลาย

Table 2. The yield and yield components of sugarcane grown in Pak Chong soil series at 12 months after planting

Treatment	Stem length (cm)	Stem diameter (cm)	Weight per stem (kg/stem)	Internode number per stem
T ₁ = control	67.48 ^f	2.53 ^f	0.87 ^f	14.28 ^c
T ₂ = FI_{DOA}	132.60 ^e	2.76 ^e	1.24 ^e	18.34 ^b
T ₃ = $FI_{DOA} + PSB_{12}$	140.67 ^d	2.83 ^e	1.28 ^e	18.53 ^b
T ₄ = $FI_{DOA} + PSB_{24}$	142.48 ^d	2.97 ^d	1.32 ^{de}	18.76 ^b
T ₅ = $FI_{DOA} + PSB_{36}$	155.42 ^b	3.13 ^{bc}	1.42 ^{cd}	21.63 ^a
T ₆ = $FI_{125\%-DOA}$	149.60 ^c	3.01 ^{cd}	1.36 ^{cde}	19.32 ^b
T ₇ = $FI_{125\%-DOA} + PSB_{12}$	157.35 ^b	3.17 ^{ab}	1.47 ^{bc}	21.78 ^a
T ₈ = $FI_{125\%-DOA} + PSB_{24}$	158.58 ^b	3.22 ^{ab}	1.58 ^{ab}	22.18 ^a
T ₉ = $FI_{125\%-DOA} + PSB_{36}$	163.35 ^a	3.28 ^a	1.63 ^a	23.42 ^a
F-test	**	**	**	**
CV (%)	12.89	12.48	13.57	13.64

FI_{DOA} = Fertilizer input according to soil analysis for sugarcane 12, 6, and 12 kg N, P_2O_5 and K_2O per rai respectively (Department of Agriculture, 2005), Means within the same column followed by different letters are significantly different according to DMRT test at

** $P < 0.01$

Table 3. Fresh sugarcane yield, CCS and sugar yield of sugarcane grown in Pak Chong soil series at 12 months after planting

Treatment	Fresh sugarcane yield (kg/pot)	CCS (%)	Sugar yield (g/pot)
T ₁ = control	1.46 ^h	8.26 ^g	120.60 ⁱ
T ₂ = FI _{DOA}	4.03 ^g	9.76 ^f	393.33 ^h
T ₃ = FI _{DOA} +PSB ₁₂	4.31 ^f	9.83 ^{ef}	423.67 ^g
T ₄ = FI _{DOA} +PSB ₂₄	4.50 ^f	10.32 ^{de}	464.40 ^f
T ₅ = FI _{DOA} +PSB ₃₆	5.25 ^d	10.87 ^{bc}	570.68 ^d
T ₆ = FI _{125%-DOA}	4.73 ^e	10.54 ^{cd}	498.54 ^e
T ₇ = FI _{125%-DOA} +PSB ₁₂	5.56 ^c	10.93 ^{abc}	607.71 ^c
T ₈ = FI _{125%-DOA} +PSB ₂₄	6.16 ^b	11.28 ^{ab}	694.85 ^b
T ₉ = FI _{125%-DOA} +PSB ₃₆	6.55 ^a	11.42 ^a	748.01 ^a
F-test	**	**	**
CV (%)	12.37	12.83	12.21

FI_{DOA} = Fertilizer input according to soil analysis for sugarcane 12, 6, and 12 kg N, P₂O₅ and K₂O per rai respectively (Department of Agriculture, 2005), CCS= commercial cane sugar, Means within the same column followed by different letters are significantly different according to DMRT test at **P<0.01

ฟอสเฟต *Xanthomonas maltophilia* และ *Enterobacter cloacae* โดย Martínez and Martínez (2007) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในการเจริญเติบโตของอ้อย เมื่อมีการใส่ฟอสเฟตร่วมกับส่วนผสมของแบคทีเรียทั้งสองชนิด ทำให้ความยาวลำต้นเท่ากับ 32 เซนติเมตร ซึ่งยาวกว่าตำรับควบคุม สำหรับการเจริญเติบโตของรากนั้นเพิ่มขึ้น 2.57 เท่า ความยาวรากเพิ่มขึ้น 0.73 เท่า นอกจากนี้มีข้อสังเกตว่าตำรับที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินอัตราต่าง ๆ ทั้งที่ใช้เดี่ยวหรือใช้ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟอสเฟตในอัตราที่สูงขึ้น (ตำรับที่ 6-9) มีผลให้ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยโดยภาพรวมสูงกว่าตำรับที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราต่าง ๆ ทั้งที่ใช้เดี่ยวหรือใช้ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟอสเฟตในอัตราที่ต่ำกว่า (ตำรับที่ 2-5) โดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟอสเฟตอัตรา 36 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-7.5-15 กิโลกรัมต่อไร่ เป็นกรรมวิธีที่ดีที่สุดในการปลูกอ้อย อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นการทดลองในกระถาง ดังนั้นควรนำไปศึกษาเพิ่มเติมกับการปลูกอ้อยในแปลงจริงเพื่อยืนยันผลการใช้ปุ๋ยชีวภาพนี้ต่อไป

สรุป

บราซิลสลายฟอสเฟตจากปุ๋ยชีวภาพฟอสเฟตที่มีปริมาณเชื้อในปุ๋ยชีวภาพที่เหมาะสม 10⁸ ซีเอฟยูต่อกรัมแห้งของปุ๋ย ที่จะช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพ การใช้ปุ๋ยชีวภาพฟอสเฟต 64 กรัมต่อกิโลกรัมของดิน ทำให้ค่าฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงสุดในสภาพห้องปฏิบัติการ ถึงแม้แบคทีเรียที่ใส่ลงไปในดินสามารถถูกชะล้างด้วยน้ำออกไปจากดิน แต่ยังคงมีปริมาณเชื้อที่มากเพียงพอต่อการดำเนินกิจกรรมการละลายฟอสเฟตต่อไปได้ภายในระยะเวลา 90 วัน และเมื่อนำปุ๋ยชีวภาพฟอสเฟตไปทดสอบกับการปลูกอ้อยในชุดดินปากช่อง ซึ่งมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินต่ำ ในสภาพการปลูกในกระถางทดลอง การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม อัตรา 15-7.5-15 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพฟอสเฟตอัตรา 36 กิโลกรัมต่อไร่ มีผลให้อ้อยพันธุ์ลำปางมีการเจริญเติบโตและได้ผลผลิตของอ้อยที่ระยะเก็บเกี่ยวดีที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณการสนับสนุนจาก Food Security Center (FSC), University of Hohenheim, Stuttgart, Germany และโครงการพัฒนาวิชาการระหว่าง บริษัท เจ พี อะโกร (ประเทศไทย) จำกัด และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน

เอกสารอ้างอิง

- Agricultural Land Reform Office. 2019. Study on biofertilizerion and technical efficiency of sugarcane biofertilizerion of farmers in Khon Kaen province. (Online). Available: https://www.alro.go.th/research_plan/article_attach/article_attach_201609051473069346.doc (July 8, 2019). (in Thai)
- Alori, E.T., B.R. Glick and O.O. Babalola. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology* 8: 971, doi: 10.3389/fmicb.2017.00971.
- Bray, R.H. and N. Kurtz. 1945. Determination of total organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Science* 59: 39-45.
- Department of Agriculture. 2010. Recommendations for using fertilizers with economic crops. Academic documents no. 8/2005. Department of Agriculture, Bangkok. (in Thai)
- Department of Soil Science. 2011. Laboratory Manual for Soil Science. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. 207 p. (in Thai)
- FAO Project Staff and Land Classification Division. 1973. Soil Interpretation Handbook for Thailand. Department of Land Development, Bangkok.
- Hunsigi, G. 1993. Production of Sugarcane: Theory and Practice. Springer-Verlag, Berlin.
- Jeenyew, W., C. Thongjoo, S. Amkha, T. Pornprom and S. Bootpetch. 2013. Utilization of waste materials from ethanol factory for increasing yield of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), pp. 86-99. *In: Proceedings of the 10th National KU-KPS Conference*, Nakhon Pathom. (in Thai)
- Kanamnuay, N. 2007. Diversity and efficiency of *Bacillus* sp. on inorganic phosphate solubilization. M.S. Thesis. Kasetsart University, Bangkok. 76 p. (in Thai)
- Kang, S.M., R. Radhakrishnan, Y.H. You, G.J. Joo, I.J. Lee, K.E. Lee and J.H. Kim. 2014. Phosphate solubilizing *Bacillus megaterium* mj1212 regulates endogenous plant carbohydrates and amino acids contents to promote mustard plant growth. *Indian Journal of Microbiology* 54(4): 427-433.
- Mala, T. 2007. Organic Fertilizers and Biofertilizers: Biofertilizerion Techniques and Use. 2nd ed. Kasetsart University Press, Bangkok. 300 p. (in Thai)
- Mala, T., S. Chungopast, K. Sinma, C. Hongprayoon and W. Phungsang. 2018. Soil Microbiology Laboratory. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom. 44 p. (in Thai)
- Martínez, M. and A. Martínez. 2007. Effects of phosphate-solubilizing bacteria during the rooting period of sugar cane (*Saccharum officinarum*), Venezuela 51-71 variety, on the grower's oasis substrate. pp. 317-323. *In: E. Velázquez and C. Rodríguez-Barrueco* (eds.). First International Meeting

- on Microbial Phosphate Solubilization. Springer, Dordrecht.
- Martinez-Viveros, O., M. A. Jorquera, D.E. Crowley, G. Gajardo and M.L. Mora. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 10(3): 293-319.
- Mengead, Y. 2019. Effect of chemical fertilizer management in combination with boron on yield of first ratoon cane planted in Kamphaeng Saen series. M.S. Thesis. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Office of soil Resources Survey and Research. 2019. Soil series properties and characteristics of the north east. (Online). Available: http://www.idd.go.th/thaisoils_museum/pf_desc/northeast/Pc.htm (July 8, 2019). (in Thai)
- Office of the Cane and Sugar Board. 2017. Report of the annual sugarcane planting area survey 2016/17. (Online). Available: <http://www.ocsb.go.th/upload/journal/fileupload/923-9999.pdf> (July 8, 2019). (in Thai)
- Pratt, P.F. 1965. Potassium. pp. 1022-1030. *In*: C.A. Black, D.D. Evans, L.E. Ensminger, J.L. White and F.E. Clark (eds.). *Method of Soil Analysis. Part 2*. American Society of Agronomy Inc., Madison, Wisconsin.
- Pumpuang, P., C. Thongjoo, T. Mala, S. Amkha, W. Thaymuang, C. Khongsud, T. Klumchaun, P. Katpiyarat and S. Bootpetch. 2014. Efficient of using different forms of urea on growth and yield components of sugarcane. pp. 11-13. *In*: *Proceedings of 11th Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus Conference: Plant and Biotechnology*, Nakhon Pathom. (in Thai)
- Rodríguez, H. and R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319-339.
- Saeid, A., E. Prochownik and J. Dobrowolska-Iwanek. 2018. Phosphorus solubilization by *Bacillus* species. *Molecules* 23(11): 2897, doi: 10.3390/molecules23112897.
- Sharma, S.B., R.Z. Sayyed, M.H. Trivedi and T.A. Gobi. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus* 2: 587, doi: 10.1186/2193-1801-2-587.
- Sundara, B., V. Natarajan and K. Hari. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research* 77(1): 43-49.
- The Secretariat of the Cabinet. 2009. Ministry of Agriculture and Cooperatives Announcement: Determine the error of the quantity of microorganisms certified. Follow by Fertilizer Act B.E. 1975 Amended by Fertilizer Act (No. 2) B.E. 2007. *Government Gazette* 126(63): 65 (in Thai)
- Walkley, A. and C.A. Black. 1934. An examination of degtjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-35.
- White, R.E. 2003. *Soils for Fine Wines*. Oxford University Press, New York. 312 p.

ผลของโซเดียมเบนทอนไต์ต่อสมบัติทางเคมีของดินตามแนววางท่อส่งก๊าซธรรมชาติ

Effects of Na-bentonite on Soil Chemical Properties in Natural Gas Pipeline Rights of Way

ธมลวรรณ คงไชย¹ ณัฐพล จิตมัตย์^{1*} เสาวนุช ทาวรพฤกษ์¹ ดาวจรัส เกตุโรจน์¹

สุรเชษฐ์ อร่ามรักษ์¹ และ กิตติพงษ์ ทรงรักษ์เกียรติ²

Thamonwan Khongchai¹, Natthapol Chittamart^{1*}, Saowanuch Tawornpruek¹, Daojarus Ketrot¹,
Surachet Aramrak¹ and Kittiphong Songrukkiat²

¹ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

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

²ฝ่ายสนับสนุนโครงการและการจัดการสิ่งแวดล้อม บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) กรุงเทพฯ 10900

²Project Environmental Management Department, PTT Public Company Limited, Bangkok 10900, Thailand

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

(Received: 18 October 2019; Accepted: 10 March 2020)

Abstract: Sodium bentonite (NaB) is a lubricant used in the horizontal directional drilling (HDD) to penetrate through obstacles for constructing natural gas pipelines which cause bentonite contaminated in natural soils in the construction site. This contaminant may affect the change in soil chemical properties. Therefore, the studies on the effects of NaB on soil chemical properties in natural gas pipeline rights of way was carried out to evaluate its effect on agricultural soil properties. The experiment was studied in three acid sulfate soils and three normal soils collected from the natural gas pipeline from Rayong to Nonthaburi. The acid sulfate soils with the presence of sulfuric horizons were Sena series (Se) and Ongkharuk series (Ok). The acid sulfate soils containing the sulfidic horizons was locally named as Bang Nam Priao series (Bp), whereas the normal soils were Sattahip (Sh), Satuk (Suk) and Huai Pong (Hp). The soil samples were artificially contaminated with NaB and incubated with the ratios (NaB:soil) of 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10, 6:10, 7:10, 8:10, 9:10 and 10:10, respectively. After incubation for two weeks, the soils were analyzed for their pH, effective electrical conductivity (EC_e), exchangeable sodium percentage (ESP), sodium adsorption ratio (SAR), cation exchange capacity (CEC) and exchangeable sodium (exch. Na). The results showed that increasing NaB significantly increased with pH, CEC, ESP and SAR of acid sulfate soils, as well as significantly raised EC_e , CEC, ESP and SAR of normal soils. Furthermore, NaB rates had and exponentially correlated with soil chemical properties especially pH ESP and SAR for acid sulfate and normal soils. Our results imply that the NaB can alter agricultural soil properties, especially ESP and SAR. These soil parameters need further management to yield the normal range when the contamination ratio of NaB to soil of 1:10 occurs.

Keywords: Soil chemical properties, acid sulfate soil, Na-bentonite, soil in natural gas pipeline rights of way

บทคัดย่อ: โซเดียมเบนโทไนต์เป็นวัสดุหล่อลื่นหัวเจาะลดสิ่งกีดขวางสำหรับการวางท่อส่งก๊าซธรรมชาติ ซึ่งทำให้โซเดียมเบนโทไนต์ปะปนอยู่ในดินธรรมชาติซึ่งอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดิน จึงทำการศึกษาผลของโซเดียมเบนโทไนต์ต่อสมบัติทางเคมีของดินตามแนววางท่อส่งก๊าซธรรมชาติเพื่อประเมินผลต่อสมบัติของดินทางการเกษตร โดยเลือกตัวแทนชุดดินจากสองกลุ่มดินคือดินเปรี้ยวจัดและดินทั่วไปตามแนวท่อก๊าซธรรมชาติจากจังหวัดระยองถึงนนทบุรี โดยมีดินเปรี้ยวจัดจำนวน 3 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดินเสนา (Se) ชุดดินองครักษ์ (Ok) และชุดดินบางน้ำเปรี้ยว (Bp) และมีกลุ่มดินปกติจำนวน 3 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดินสติก (Suk) ชุดดินห้วยโป่ง (Hp) และชุดดินสัดหีบ (Sh) ทำการจำลองการปนเปื้อนโซเดียมเบนโทไนต์โดยการบ่มดินในสัดส่วนโซเดียมเบนโทไนต์ต่อดินเท่ากับ 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10, 6:10, 7:10, 8:10, 9:10, 10:10 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน ได้แก่ ค่า pH, ค่าการนำไฟฟ้าขณะดินอิ่มตัวด้วยน้ำ (EC_e), ความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC), อัตราร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP), อัตราส่วนการดูดซับโซเดียม (SAR), และโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exch. Na) วิเคราะห์สหสัมพันธ์ของข้อมูล ผลการศึกษาพบว่า การเพิ่มสัดส่วนโซเดียมเบนโทไนต์ทำให้ค่า pH, CEC, ESP และ SAR ในดินเปรี้ยวจัดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และทำให้ค่า EC_e , CEC, ESP และ SAR ในกลุ่มดินปกติ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ อัตราโซเดียมเบนโทไนต์มีสหสัมพันธ์เชิงบวกแบบเอกโพเนนเชียลกับ pH ESP และ SAR ในกลุ่มดินเปรี้ยวและดินปกติ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโซเดียมเบนโทไนต์ทำให้สมบัติดินทั้งในดินเปรี้ยวจัดและดินปกติเปลี่ยนแปลงเข้าใกล้สมบัติของเบนโทไนต์โดยเฉพาะ ESP และ SAR ซึ่งจำเป็นต้องมีการจัดการหากมีการปนเปื้อนเบนโทไนต์ในพื้นที่ในสัดส่วนโซเดียมเบนโทไนต์ต่อดินตั้งแต่ 1:10 ขึ้นไป

คำสำคัญ: ดินเปรี้ยวจัด โซเดียมเบนโทไนต์ สมบัติทางเคมีของดิน ดินตามแนววางท่อก๊าซธรรมชาติ

คำนำ

โซเดียมเบนโทไนต์เป็นวัสดุที่ใช้สำหรับการวางท่อส่งก๊าซธรรมชาติในขั้นตอนการเจาะลด (horizontal directional drilling: HDD) ซึ่งเป็นวิธีที่จะต้องใช้เครื่องชุดเจาะขนาดใหญ่ในการเจาะลดสิ่งกีดขวางเช่น แม่น้ำหรือถนน โดยโซเดียมเบนโทไนต์เป็นวัสดุสำหรับหล่อลื่นหัวเจาะและเคลือบผนังท่อที่ชุดเจาะ รวมทั้งเคลือบช่องดินที่เจาะไม่ให้ทรุดตัวภายหลังดึงท่อก๊าซธรรมชาติผ่านช่องเจาะ (Chunlapan, 2001) สารโซเดียมเบนโทไนต์ที่ใช้จะอยู่ในรูปของไหล (fluid) ซึ่งเตรียมโดยใช้ผงโซเดียมเบนโทไนต์ผสมกับน้ำในอัตราที่กำหนด จะได้โซเดียมเบนโทไนต์ที่สามารถพองตัวและมีลักษณะคล้ายดินโคลน (Uresk and Yamamoto, 1986)

โซเดียมเบนโทไนต์มีรูปผลึกแบบโมโนคลินิก ลักษณะเนื้อเหมือนดินหรือเป็นฝุ่น ละเอียดคล้ายดิน มีสีขาวเทาออกเหลือง ความวาวแบบดิน ความแข็ง 1-2 ซึ่งจัดว่าอ่อนมาก น้ำหนักเบา ทึบแสงเพราะอนุภาคเล็กมาก

(Department of Mineral Resources, 2007.) มีแร่ดินเหนียวประเภท 2:1 กลุ่มสเมกไทต์ (smectite group) อยู่ในปริมาณมากและมีสมบัติในยึด-หดตัวสูง สามารถพองตัวด้วยน้ำได้ (shrink-swelling property) ทำให้ใช้เป็นสารหล่อลื่นได้เป็นอย่างดี และยังมีสมบัติแบบซีโอไลต์ (zeolitic property) คือ สามารถแลกเปลี่ยนและดูดซับไอออนหรือโมเลกุลต่าง ๆ ได้ (Meesuk *et al.*, 2000) เนื่องจากความสามารถในการแทนที่ของอะตอมประจุไฟฟ้าบวกด้วยธาตุที่มีวาเลนซ์ต่ำกว่า เช่น การแทนที่ของ Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} หรือ H^+ ใน Si^{4+} และ Al^{3+} รวมทั้งการมีพื้นผิวสัมผัสต่อปฏิกิริยาทางเคมีมาก มีความสามารถสูงในการแลกเปลี่ยนประจุไฟฟ้าบวก ความสามารถในการดึงดูดน้ำเข้ามาเป็นส่วนประกอบหนึ่งของโมเลกุลทำให้น้ำคงอยู่ในดินได้เป็นระยะเวลานาน และความสามารถในการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการไหลของของเหลว ทำให้โซเดียมเบนโทไนต์มีประสิทธิภาพในการช่วยเพิ่มความหนืดและเกิดการพองตัวกลายเป็นเจล (Inglethorpe *et al.*, 1993)

ปี พ.ศ. 2558 คณะกรรมการพลังงานแห่งชาติ (กพช.) มีมติเห็นชอบให้วางระบบท่อส่งก๊าซธรรมชาติเพื่อรองรับความต้องการที่สูงขึ้นอย่างยั่งยืน โดยมีบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) เป็นผู้ดำเนินการ การขุดเจาะเพื่อวางท่อส่งก๊าซธรรมชาติบนบกเส้นที่ 5 ระยะทาง 415 กิโลเมตร มีวัตถุประสงค์เพื่อเสริมสร้างความมั่นคงของระบบโครงข่ายก๊าซธรรมชาติ ระบบท่อส่งก๊าซในปัจจุบันและเพิ่มกำลังการส่งก๊าซธรรมชาติจากฝั่งตะวันออกไปยังโครงข่ายระบบท่อส่งก๊าซธรรมชาติฝั่งตะวันตก จัดส่งก๊าซธรรมชาติ ให้แก่ โรงไฟฟ้าบางปะกง โรงไฟฟ้าวังน้อย โรงไฟฟ้าพระนครเหนือ และโรงไฟฟ้าพระนครใต้ และเพื่อเชื่อมโยงระบบกับโครงข่ายระบบท่อส่งก๊าซธรรมชาติที่มีอยู่เดิม โดยพาดผ่านพื้นที่ทั้งหมด 8 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดระยอง ชลบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี กรุงเทพมหานคร ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา และนนทบุรี โดยเส้นทางดังกล่าวมีดินหลากหลายชนิด หนึ่งในนั้นคือ ดินเปรี้ยวจัด ซึ่งจัดเป็นดินที่มีปัญหาเนื่องจากเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแร่ไพไรต์จะทำให้เกิดกรดกำมะถัน ดินมีความเป็นกรดรุนแรง สภาพกรดจัดส่งผลต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช การเจริญเติบโตของพืช ความเป็นพิษของธาตุโลหะ (Attanandana, 2007; Ljung *et al.*, 2009) ซึ่งการวางท่อก๊าซผ่านพื้นที่ดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อการทำเกษตรในปัจจุบันได้ นอกจากนี้เบนโทไนด์ที่มีโซเดียมไฮดรอกไซด์และมีความเป็นด่างสูงหากตกค้างในดินมากเกินไป อาจทำให้ดินมีลักษณะคล้ายดินที่ได้รับอิทธิพลจากเกลือที่มีปริมาณโซเดียมแลกเปลี่ยนได้สูง (Voorhees, 1986) และเมื่อดินเปียกจะมีลักษณะคล้ายดินเหนียวสามารถดูดซับน้ำและอุ้มน้ำได้มาก ซึ่งอาจเกิดความจำเป็นของพืชในการใช้ประโยชน์ แต่เมื่อดินแห้งจะทำให้ดินหดตัวเป็นผลทำให้เกิดแผ่นแข็งที่ผิวดิน (surface crusting) และทำให้ความสามารถในการขนไซหาอาหารของรากพืชลดลง (Schuman *et al.*, 1994) นอกจากนี้พืชอาจได้รับผลกระทบจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ละลายออกมา (Dollhopf and Bauman, 1981) หากมีการปนในดินธรรมชาติ จึงจำเป็นต้องหาแนวทางป้องกันผลกระทบที่อาจเกิดขึ้น และหาแนวทางปรับปรุงดินปนเปื้อนโซเดียมเบนโทไนด์ที่เหลือจากการขุดเจาะ ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโซเดียมเบนโทไนด์ต่อการ

เปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดิน ตามแนวท่อส่งก๊าซธรรมชาติบนบกเส้นที่ 5 ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นต้นแบบในการแก้ไขปัญหาและนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อวางแผนลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากการใช้ประโยชน์โซเดียมเบนโทไนด์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิเคราะห์สมบัติทางฟิสิกส์และเคมี

ดินที่ใช้ศึกษาเป็นตัวแทนชุดดินที่อยู่ตามแนวท่อส่งก๊าซธรรมชาติ จำนวน 6 ชุดดิน โดยเป็นตัวแทนของดินที่มีลักษณะดินครอบคลุมตลอดทั้งแนวท่อก๊าซ เนื่องจากดินมีลักษณะแตกต่างกันทั้งทางกายภาพและทางเคมี จึงแบ่งลักษณะดินออกเป็น 2 กลุ่มคือ 1) กลุ่มดินเปรี้ยวจัดจำนวน 3 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดินเสนา (Se) ชุดดินองครักษ์ (Ok) และชุดดินบางน้ำเปรี้ยว (Bp) และ 2) กลุ่มดินปกติจำนวน 3 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดินสติก (Suk) ชุดดินห้วยโป่ง (Hp) และชุดดินสัดหีบ (Sh) โดยสถานที่เก็บตัวอย่างดินแสดงรายละเอียดใน Table 1 เก็บตัวอย่างโดยใช้สวิงเจาะดินลึก 2 เมตร ตามชั้นกำเนิดดิน และทำการแบ่งตัวอย่างชั้นดินออกเป็นดินบน (0-100 เซนติเมตร, topsoil) และดินล่าง (100-200 เซนติเมตร, subsoil) ซึ่งแบ่งตามระดับความลึกที่ขุดวางท่อก๊าซ นำตัวอย่างดินที่ได้ไปผึ่งแห้งในที่ร่ม หลังจากนั้นนำไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ทำการวิเคราะห์สมบัติดินทางฟิสิกส์และเคมีตามวิธีมาตรฐาน (National Soil Survey Center, 1996) ประกอบด้วย การแจกกระจายขนาดอนุภาคดิน โดยวิธี pipette method พีเอชดิน (soil pH) โดยใช้ pH meter อัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1:1 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (organic matter) โดยวิธี Wet digestion and titration และวัดค่าสภาพการนำไฟฟ้าจากสารละลายที่สกัดจากดินอิ่มตัวด้วยน้ำ (electrical conductivity at saturation extract, EC_s) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสด้วยเครื่อง EC meter ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (cation exchange capacity, CEC) โดยวิธี 1M NH₄OAc pH 7.0 และปริมาณเบสที่สกัดได้โดยวิธี 1M NH₄OAc pH 7.0 และวัดปริมาณด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AAS) อัตราส่วนการดูดซับโซเดียม

Table 1. Soil sampling sites

Soil series	Elevation and coordinates	Location	Land use
Acid sulfate soils			
Sena (Se)	22 m. AMSL, 47P 0669874E, 1531555N	Wang Noi district, Phra Nakhon Si Ayutthaya province	Paddy rice cultivation
Ongkharak (Ok)	-7 m. AMSL, 47P 0697268E, 1571995N	Bueng Ka Sam subdistrict, Nong Suea district, Pathum Thani province	Paddy rice cultivation
Bang Nam Priao (Bp)	12 m. AMSL, 47P 0703210E, 1543494N	Lam Sai subdistrict, Lam Luk Ka district, Pathum Thani province	Paddy rice cultivation
Normal soils			
Satuk (Suk)	54 m. AMSL, 47P 0753762E, 1475160N	Tha Bun Mi subdistrict, Ko Chan district, Chon Buri province	Cassava planting
Huai Pong (Hp)	47 m. AMSL, 47P 0738261E, 1413869N	Map Kha subdistrict, Nikhom Phatthana district, Rayong province	Cassava planting
Sattahip (Sh)	14 m. AMSL, 47P 0736119E, 1404079N	Noen Phra subdistrict, Mueang Rayong district, Rayong province	Sugarcane planting

(sodium adsorption ratio, SAR) ได้จากการนำสารละลายดินที่สกัดจากดินอิ่มตัวด้วยน้ำ (saturated extract) ไปหาปริมาณโซเดียม แคลเซียม และแมกนีเซียมแลกเปลี่ยนได้ ด้วยเครื่อง AAS แล้วนำค่าดังกล่าวมาคำนวณตามสูตร (ก) ปริมาณร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable sodium percentage, %ESP) โดยการนำค่าโซเดียมแลกเปลี่ยนได้และค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนมาคำนวณตามสูตร (ข)

(ก) อัตราส่วนการดูดซับโซเดียม (sodium adsorption ratio, SAR)

$$SAR = \frac{Na^+}{\sqrt{\frac{Ca^{2+} + Mg^{2+}}{2}}}$$

ข) ปริมาณร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable sodium percentage, %ESP)

$$ESP(\%) = \frac{\text{exchangeable Na (cmolc kg}^{-1}\text{)}}{\text{cation exchange capacity (cmolc kg}^{-1}\text{)}} \times 100$$

การวิเคราะห์ผลของโซเดียมเบนทอไนต์ต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดิน

การศึกษาลักษณะของโซเดียมเบนทอไนต์ต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดิน โดยนำตัวอย่างดินทั้ง 6 ชุดดิน มาบ่มกับโซเดียมเบนทอไนต์ ในอัตราส่วนโซเดียมเบนทอไนต์ต่อดินเท่ากับ 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10, 6:10, 7:10, 8:10, 9:10, 10:10 ซึ่งเป็นอัตราจำลองการปนเปื้อนของเบนทอไนต์ในดินจากน้อยไปหามาก ผสมให้เข้ากันและบ่มไว้ที่ความชื้นสนาม เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากบ่มดินแล้ว อบให้แห้ง (อุณหภูมิ 60

องศาเซลเซียส) (Chittamart *et al.*, 2018) เพื่อวิเคราะห์ค่า pH, EC_e , CEC, SAR, ESP และ exchangeable Na เพื่อนำมาสร้างกราฟหาสมสัมพันธ์ด้วย linear equation และ exponential function

โซเดียมเบนทอไนต์ (Table 2) ที่ใช้ในการศึกษามีค่าพีเอชเป็นด่างรุนแรงมาก มีค่าการนำไฟฟ้า (EC_e) ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) สูงมาก มีปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียมและโพแทสเซียมแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable Ca, Mg, Na และ K) มีค่า 31.13, 7.73, 53.94 และ 0.72 เซนติโมลต่อกิโลกรัมตามลำดับ ซึ่งอยู่ในระดับปานกลางถึงสูง ค่าสัดส่วนการดูดซับโซเดียม (SAR) สูงมาก และร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP) ในระดับสูงมาก

ผลการทดลอง

สมบัติทางฟิสิกส์ของดิน

ดินที่ทำการศึกษามีสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดินทั้งสองกลุ่มผันแปรไปตามวัตถุดิบกำเนิดดิน โดยดินเปรี้ยวจัดเป็นกลุ่มดินที่มีลักษณะเนื้อดินอยู่ในกลุ่มดินเนื้อละเอียดในชั้นดินบน และกลุ่มดินเนื้อละเอียดปานกลางถึงละเอียดในชั้นดินล่าง ส่วนกลุ่มดินปกติมีลักษณะเนื้อดินอยู่ในกลุ่มดินเนื้อหยาบถึงละเอียดในชั้นดินบน และกลุ่มดินเนื้อหยาบปานกลางถึงเนื้อละเอียดในชั้นดินล่าง เพื่อให้ครอบคลุมทุกกลุ่มเนื้อดินตลอดแนวทอสงภัทธรรมชาติ ซึ่งผลจากการวิเคราะห์การแจกกระจายขนาดอนุภาคดิน (Table 3) พบว่า ชุดดินเสนา (Se) ชุดดิน

องครักษ์ (Ok) และชุดดินบางน้ำเปรี้ยว (Bp) มีเนื้อดินเป็นดินเหนียวถึงเหนียวปนทรายแป้งในชั้นดินบน และมีเนื้อดินเหนียวถึงร่วนเหนียวในชั้นดินล่าง ซึ่งจากสภาพพื้นที่ของดินที่ทำการศึกษาเป็นที่ลุ่มต่ำในบริเวณที่ราบน้ำทะเลเคยท่วมถึง มีวัตถุดิบกำเนิดดินเป็นตะกอนน้ำกร่อยและตะกอนน้ำทะเล การที่มีชั้นดินเป็นดินเนื้อละเอียด ทำให้ดินมีความพรุนน้อย มีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง มีตะกอนชนิดใหม่มาทับถมบนตะกอนเดิมโดยกระบวนการสะสมบนผิวหน้า (cumulization) แสดงถึงการทับถมของวัตถุดิบกำเนิดดินที่มีพัฒนาการทางโครงสร้างและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีน้อย (Buol *et al.*, 2011; Kheoruenromne, 2007) ส่วนชุดดินสติก (Suk) ชุดดินห้วยโป่ง (Hp) และชุดดินสัดหีบ (Sh) มีเนื้อดินเป็นดินทรายปนร่วน ดินเหนียวปนทราย และดินร่วนปนทรายตามลำดับ ในชั้นดินบน และมีเนื้อดินร่วนเหนียวปนทรายดินเหนียว และดินร่วนปนทราย ตามลำดับ ในชั้นดินล่าง เนื่องมาจากการที่ดินมีวัตถุดิบกำเนิดดินเป็นวัสดุตกค้าง (residuum) ของหินแกรนิตและหินตะกอนเนื้อหยาบ ทำให้สลายตัวเกิดเป็นดินที่มีเนื้อดินค่อนข้างหยาบในชั้นดินบนเป็นส่วนใหญ่ (Kheoruenromne, 2005)

สมบัติทางเคมีของดิน

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน (Table 3) พบว่า ชุดดินเสนา (Se) และชุดดินองครักษ์ (Ok) มีค่าพีเอชเป็นกรดรุนแรงมากในดินชั้นบน (pH 3.6-3.9) และเป็นกรดรุนแรงมากที่สุดที่ดินชั้นล่าง (pH 2.68-2.98) ซึ่งเป็นลักษณะของดินเปรี้ยวจัดที่มีกรดกำมะถันปริมาณมาก โดยเฉพาะในชั้นวัตถุดิบกำเนิดดินมีค่าพีเอชต่ำกว่า 3.0

Table 2. Composition of the Na-bentonite used in the experiment

Properties	Values
pH (Na-Bentonite:H ₂ O=1:10)	9.54
EC_e (dS m ⁻¹)	0.82
CEC (cmol kg ⁻¹)	71.2
Exchangeable Na (cmol _c kg ⁻¹)	53.9
Exchangeable Ca (cmol _c kg ⁻¹)	31.1
Exchangeable Mg (cmol _c kg ⁻¹)	7.73
Exchangeable K (cmol _c kg ⁻¹)	0.72
SAR	29.9
ESP (%)	75.9

Table 3. Physicochemical properties of the studied soils

Soil series	Soil horizon	pH 1:1 (Soil:H ₂ O)	EC _e dS m ⁻¹	OM (g kg ⁻¹)	SAR	ESP (%)	CEC (---cmol _c kg ⁻¹ ---)	Exch.Na (-----g kg ⁻¹ -----)	Sand	Silt	Clay	Texture
Acid sulfate soils												
Se	topsoil	3.60	3.01	16.0	3.54	7.57	28.4	2.21	57	361	582	Clay
	subsoil	2.98	6.97	47.1	1.71	3.54	31.7	1.10	139	411	450	Silty clay
Ok	topsoil	3.90	2.11	43.9	1.44	2.71	28.5	0.77	31	439	530	Silty clay
	subsoil	2.68	9.81	80.2	0.55	0.99	36.1	0.36	227	441	332	Clay loam
Bp	topsoil	5.10	2.02	15.9	4.59	9.82	31.3	3.07	48	371	581	Clay
	subsoil	6.75	2.75	7.9	10.56	15.49	29.6	4.59	49	315	636	Clay
Normal soils												
Suk	topsoil	4.94	0.70	2.6	1.89	16.5	1.33	0.16	807	114	79	Loamy sand
	subsoil	5.47	0.19	1.6	1.05	21.0	4.25	0.30	657	139	204	Sandy clay loam
Hp	topsoil	4.44	0.09	10.7	0.62	18.0	1.50	0.28	561	78	361	Sandy clay
	subsoil	4.81	0.21	3.5	1.50	8.1	4.50	0.37	420	145	436	Clay
Sh	topsoil	7.32	0.70	5.2	2.90	12.9	5.37	0.35	755	130	115	Sandy loam
	subsoil	4.63	0.62	1.0	4.27	25.9	3.75	0.51	7762	134	104	Sandy loam

ส่วนชุดดินบางน้ำเปรี้ยว (Bp) มีค่าพีเอชดินเป็นกรดจัดถึงเป็นกลาง (pH 5.1-6.75) เนื่องจากเป็นชุดดินที่ยังอยู่ในสภาพที่มีน้ำขัง มีวัสดุซัลไฟด์ที่ยังไม่ได้ถูกออกซิไดส์และยังไม่เกิดกรดกำมะถัน จัดเป็นดินที่มีศักยภาพที่จะเป็นดินเปรี้ยวจัด ค่าการนำไฟฟ้าในขณะที่ดินอิ่มตัวด้วยน้ำ (EC_e) มีค่าค่อนข้างสูงในชั้นดินบนของทุกชุดดิน (2.02-3.01 เดซิซีเมนต่อเมตร) ซึ่งอยู่ในระดับความเค็มน้อย และอาจมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชไม่ทนเค็ม (FAO, 1976) และสูงมากในชั้นดินล่างของชุดดินเสนาและชุดดินองครักษ์ (6.97-9.81 เดซิซีเมนต่อเมตร) เนื่องจากตะกอนดินตอนล่างเป็นตะกอนทะเลเก่า ซึ่งมีไอออนที่นำไฟฟ้าได้ดีสะสมในปริมาณสูง โดยเฉพาะในสภาวะที่เป็นกรดจัด ปริมาณอินทรีย์วัตถุมีค่าอยู่ในระดับปานกลางถึงสูง (15.9-43.9 กรัมต่อกิโลกรัม) ในชั้นดินบนและมีค่าสูงมากในชั้นดินล่างของชุดดินชุดดินเสนาและชุดดินองครักษ์ (47.1-80.2 กรัมต่อกิโลกรัม) เนื่องจากเป็นชั้นวัตถุต้นกำเนิดดิน มีลักษณะเป็นชั้นดินเลนที่มีการสะสมเศษซากพืชจากตะกอนทะเลเก่า ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) มีค่าอยู่ในระดับสูงถึงสูงมาก (28.4-36.1 เซนติโมลต่อกิโลกรัม) สอดคล้องกับลักษณะของเนื้อดินที่มีเนื้อดินละเอียด มีแร่องค์ประกอบ

เป็นแร่ดินเหนียวประเภท 2:1 และมีปริมาณอินทรีย์วัตถุในระดับปานกลางถึงสูงมาก

กลุ่มดินปกติมีค่าพีเอชอยู่ในพิสัย 4.44-7.32 คืออยู่ในระดับที่เป็นกรดจัดถึงเป็นกลาง การที่ดินส่วนใหญ่มีค่าพีเอชอยู่ในระดับที่เป็นกรด เกิดจากดินมีวัตถุต้นกำเนิดดินเป็นวัสดุตกค้าง (residuum) ของหินแกรนิต เมื่อสลายตัวจะให้ดินที่มีค่าพีเอชเป็นกรด โดยทั่วไปความอุดมสมบูรณ์ของดินค่อนข้างต่ำ ค่าการนำไฟฟ้าค่อนข้างต่ำ คืออยู่ในพิสัย 0.09-0.70 เดซิซีเมนต่อเมตร ปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในพิสัย 1.0-10.7 กรัมต่อกิโลกรัม คืออยู่ในระดับต่ำถึงต่ำมาก ซึ่งเป็นลักษณะของดินที่ไม่ได้รับอินทรีย์วัตถุเพิ่มเติมมากพอ ประกอบกับอัตราการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในดินบนของภูมิอากาศในเขตร้อนเป็นไปอย่างรวดเร็ว การชะละลายลงไปในชั้นดินล่างจึงน้อย (Sanchez, 2019) ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนอยู่ในระดับต่ำถึงต่ำมาก (1.33-5.37 เซนติโมลต่อกิโลกรัม)

ค่าสัดส่วนการดูดซับโซเดียม (SAR) ของทั้งสองกลุ่มดินมีค่าอยู่ในพิสัย 0.55-10.56 ซึ่งไม่จัดว่าเป็นดินที่ได้รับอิทธิพลจากโซเดียม และมีค่าร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP) อยู่ในร้อยละพิสัยเท่ากับ 0.99-25.9

ซึ่งมีค่าค่อนข้างสูงในชุดดินบางน้ำเปรี้ยว (Bp) ชุดดิน สดัก (Suk) ชุดดินห้วยโป่ง (Hp) และชุดดินสัดหีบ (Sh) แสดงถึงค่าก่อกวนที่อาจทำให้เกิดดินโซดิกในระดับที่ อันตรายเล็กน้อยถึงปานกลาง เนื่องมาจากชุดดินดังกล่าว อยู่ในบริเวณที่ราบลุ่มน้ำทะเลท่วมถึง มีน้ำขังหรือระดับ น้ำอยู่ใกล้ผิวดินตลอดทั้งปี ดังนั้นในชั้นดินตอนล่างหรือ ชั้นวัตถุต้นกำเนิดดินจึงได้รับอิทธิพลของน้ำทะเลซึ่งมีการ สะสมเกลือโซเดียมมาก ปริมาณโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ สอดคล้องกับค่า SAR และ ESP คือมีค่าอยู่ในพิสัย 0.11- 4.59 เซนติโมลต่อกิโลกรัม และมีปริมาณสูงมากในชุดดิน บางน้ำเปรี้ยว (Bp)

ผลของโซเดียมเบนโทไนต์ต่อการเปลี่ยนแปลง สมบัติทางเคมีของดิน

เมื่อทำการบ่มดินที่ทำการศึกษาทั้งสองกลุ่มดิน ด้วยโซเดียมเบนโทไนต์ในอัตราส่วนโซเดียมเบนโทไนต์ ต่อดินเท่ากับ 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10, 6:10, 7:10, 8:10, 9:10 และ 10:10 ผลการศึกษาพบว่า ในกลุ่มดิน เปรี้ยวจัด ค่าพีเอชของดินมีความสัมพันธ์ของข้อมูลใน ลักษณะ exponential function คือมีการเพิ่มขึ้นของค่าพี เอชตามอัตราโซเดียมเบนโทไนต์และมีแนวโน้มคงที่จนถึง อัตราสุดท้าย (1:1) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการ ตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) อยู่ในพิสัย 0.99-1 ยกเว้นในชั้นดินล่างของชุดดินองครักษ์ (Ok)

($R^2=0.92$) และชุดดินเสนา (Se) ($R^2=0.98$) (Figure 1a) ที่ มีความสัมพันธ์ของข้อมูลในลักษณะเส้นตรง เนื่องจากดิน มีความเป็นกรดรุนแรงมากที่สุด และมีค่าความต้านทาน การเปลี่ยนแปลงพีเอชสูง (pH buffering capacity) ทำให้ การเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชเป็นไปได้ยาก โดยการเพิ่มขึ้นของ ค่าพีเอช เป็นผลมาจาก Na^+ ของโซเดียมเบนโทไนต์ที่ดูด ซึบอยู่ที่ผิวคอลลอยด์ดินทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับน้ำ เกิดเป็นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างแก่ จึงทำให้ดินมีปฏิกิริยาเป็นด่าง (Bloom and Skyllberg, 2012) และมีพีเอชสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าโซเดียมเบนทอ ไนต์สามารถยกระดับค่าพีเอชของดิน และลดความเป็น กรดของดินได้ จากความเป็นกรดรุนแรงมากถึงกรด เล็กน้อย (4.11-6.18 (pH 1:5)) ของดินกลุ่มนี้ ทำให้ความ เป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชหลายชนิดลดลง เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และยังมีข้อจำกัดเรื่องความเป็นพิษ ของ เหล็ก อะลูมิเนียม และแมงกานีส ส่งผลต่อการ เจริญเติบโตและผลผลิตของพืชที่ปลูก ดังนั้นการยกระดับ พีเอชของดินด้วยโซเดียมเบนโทไนต์ที่สัดส่วนโซเดียมเบน ทอไนต์ 30 กรัมต่อดิน 100 กรัม ของชุดดินเสนาและ องครักษ์ ทำให้ดินมีพีเอชในช่วงกรดเล็กน้อยถึงเป็นกลาง (6.0-7.0) ส่งผลต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหาร ต่าง ๆ ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของ พืช (Lesturgez et al., 2006) ต่างจากชุดดินบางน้ำเปรี้ยว ที่มีพีเอชเป็นกรดเล็กน้อย (6.18) เมื่อยกระดับพีเอชด้วย

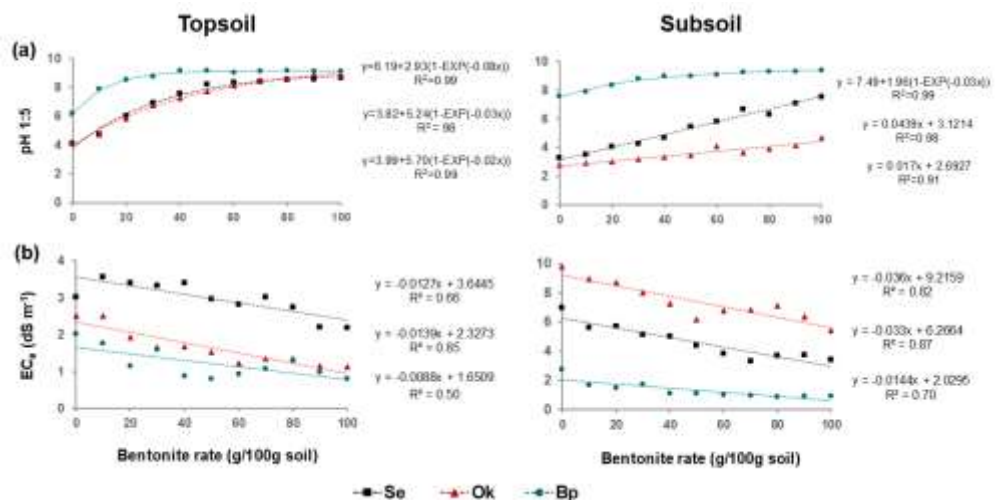


Figure 1. Relationships between bentonite rate with a) pH (1:5) and b) EC_e of acid sulfate soil

*, ** Significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively

โซเดียมเบนทอนไนต์ในสัดส่วนโซเดียมเบนทอนไนต์ 10 กรัม ต่อดิน 100 กรัม ขึ้นไป ทำให้ระดับพีเอชสูงกว่า 7.0 จุล ธาตุพวกเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ที่อยู่ในรูป ที่เป็นประโยชน์แก่พืชลดลง (Troeh and Thompson, 2005) เกิดความเป็นพิษของโซเดียม โบรอน และโม ลิบดีนัม (Weil and Brady, 2017) ค่าการนำไฟฟ้าของดิน ขณะดินอิ่มตัวด้วยน้ำ (EC_e) มีค่าลดลงเมื่ออัตราโซเดียม เบนทอนไนต์เพิ่มขึ้น เนื่องจากโซเดียมเบนทอนไนต์มี ความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวกสูงและดูดซับ ไอออนต่าง ๆ ในสภาวะที่ดินอิ่มตัวด้วยน้ำได้ดี จึงมี ปริมาณไอออนของเกลือละลายออกมาน้อยลง โดยมีค่า R^2 ของสมการ linear equation อยู่ในพิสัย 0.50-0.87 ซึ่งมีค่าสูงที่สุดในดินชั้นบนของชุดดินองครักษ์ (OK) ($R^2=0.85$) และดินชั้นล่างของชุดดินเสนา (Se) ($R^2=0.87$) (Figure 1b) ดินในกลุ่มนี้มีตะกอนดินตอนล่างเป็นตะกอน ทะเลเก่า ซึ่งมีไอออนที่นำไฟฟ้าได้ดีสะสมในปริมาณสูง โดยเฉพาะในสภาวะที่เป็นกรดจัด เมื่อปมด้วยโซเดียมเบน ทอนไนต์ที่อัตราต่าง ๆ สามารถทำให้ค่าการนำไฟฟ้าขณะ ดินอิ่มตัวด้วยน้ำลดลงจากระดับที่เค็มน้อยในดินชั้นบน (2.02-3.01 เดซิซีเมนต่อเมตร) ให้อยู่ในระดับที่ไม่เค็ม และ เค็มปานกลางถึงเค็มมากในดินชั้นล่าง (6.97-9.81 เดซิซี เมนต่อเมตร) ให้อยู่ในระดับที่ไม่เค็มถึงเค็มปานกลาง ใน อัตราที่มีปริมาณโซเดียมเบนทอนไนต์สูงที่สุด (1:1)

สำหรับกลุ่มดินปกติ ผลการศึกษาพบว่า พีเอช ของดินมีค่าเพิ่มขึ้นในอัตราที่ 10 กรัมต่อดิน 100 กรัม และมีแนวโน้มคงที่จนถึงอัตราโซเดียมเบนทอนไนต์ที่ 100 กรัมต่อดิน 100 กรัม (1:1) ทั้งในชั้นดินบนและชั้นดินล่าง และมีการกระจายของข้อมูลในลักษณะ exponential function (Figure 2a) เช่นเดียวกับกลุ่มดินเปรี้ยวจัด และ เนื่องจากดินกลุ่มนี้มีพีเอชอยู่ในระดับที่เป็นกรดจัดถึงเป็น กลาง และมีความต้านทานการเปลี่ยนแปลงพีเอชต่ำกว่า กลุ่มดินเปรี้ยวจัด ทำให้ค่าพีเอชของดินเปลี่ยนแปลงตาม ค่าพีเอชของโซเดียมเบนทอนไนต์ (9.54) ได้ง่ายตั้งแต่อัตรา แรก และการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชของดินกลุ่มนี้อาจส่งผล ให้ดินกลายเป็นดินโซดิก (sodic soil) เพราะมีค่าพี เอชสูงกว่า 8.5 ในทุกอัตรา ค่าการนำไฟฟ้าของดินขณะ ดินอิ่มตัวด้วยน้ำ (EC_e) มีการเพิ่มขึ้นทั้งในลักษณะ เส้นตรงและ exponential function โดยมีค่า R^2 อยู่ใน พิสัย 0.80-0.98 (Figure 2b) ซึ่งการกระจายตัวของข้อมูล ต่างจากกลุ่มดินเปรี้ยวจัดเนื่องจากกลุ่มดินทั่วไปมี ปริมาณเกลือไอออนต่ำ ทำให้มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำกว่า 4 เดซิซีเมนต่อเมตร คืออยู่ในพิสัย 0.09-0.70 เดซิซีเมนต่อ เมตร มีค่าความเค็มในระดับไม่เค็ม เมื่อเพิ่มเติมโซเดียม เบนทอนไนต์ที่มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ (0.82 เดซิซีเมนต่อ เมตร) ลงไป ทำให้ค่าการนำไฟฟ้าของดินมีการ เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (1.22-1.63 เดซิซีเมนต่อเมตร) และ ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช

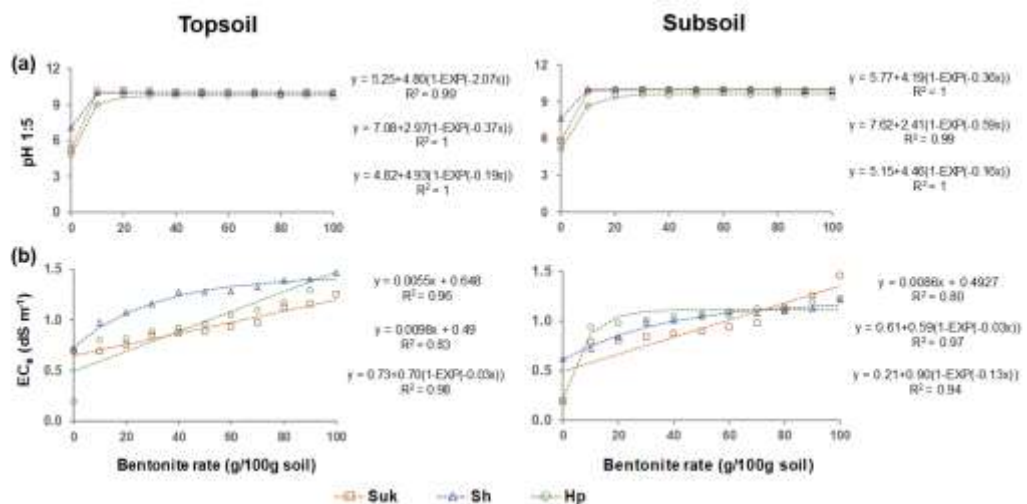


Figure 2. Relationships between bentonite rate with a) pH (1:5) and b) EC_e of Normal soil

*, ** Significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively

ผลการศึกษาค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) และค่าโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (exch. Na) มีค่าเพิ่มขึ้นตามอัตราโซเดียมเบนทอนไนต์ที่เพิ่มขึ้นในลักษณะเส้นตรง ค่าสัดส่วนการดูดซับโซเดียม (SAR) และค่าร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP) มีความสัมพันธ์ของข้อมูลในลักษณะ exponential function ทั้งสองกลุ่มดิน ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) ของกลุ่มดินเหนียวจัดมีค่า R^2 ของสมการ linear equation อยู่ในพิสัย 0.80-0.98 (Figure 3a) โดยธรรมชาติของดินในกลุ่มนี้มีค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนสูง จึงมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่ากลุ่มดินปกติ คือมีค่าเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 30-50 เซนติโมลต่อกิโลกรัม ค่าสัดส่วนการดูดซับโซเดียม (SAR) มีค่า R^2 อยู่ในพิสัย 0.93-0.99 (Figure 3b) โดยทุกชุดดิน

มีค่า SAR มากกว่า 13 ในอัตราโซเดียมเบนทอนไนต์ 20 กรัมต่อดิน 100 กรัม (2:10) จนถึงอัตราโซเดียมเบนทอนไนต์ 100 กรัมต่อดิน 100 กรัม (1:1) ค่าร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP) มีค่า R^2 อยู่ในพิสัย 0.97-0.98 (Figure 3c) โดยทุกชุดดินมีค่า ESP มากกว่า 15 ในอัตราโซเดียมเบนทอนไนต์ 10 กรัมต่อดิน 100 กรัม (1:10) จนถึงอัตราโซเดียมเบนทอนไนต์ 100 กรัมต่อดิน 100 กรัม (1:1) ซึ่งทั้งค่า SAR และ ESP เป็นเกณฑ์ที่ใช้ในการจำแนกกลุ่มของดินที่ได้รับอิทธิพลจากเกลือ คือหากมีปริมาณโซเดียมเบนทอนไนต์มากเกินไปดังกล่าว อาจมีผลทำให้ดินมีสภาพคล้ายกลุ่มดินโซดิก (sodic soil) ค่าโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (exch. Na) มีค่า R^2 อยู่ในพิสัย 0.93-0.98 (Figure 3d) โดยปริมาณโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ของดินที่

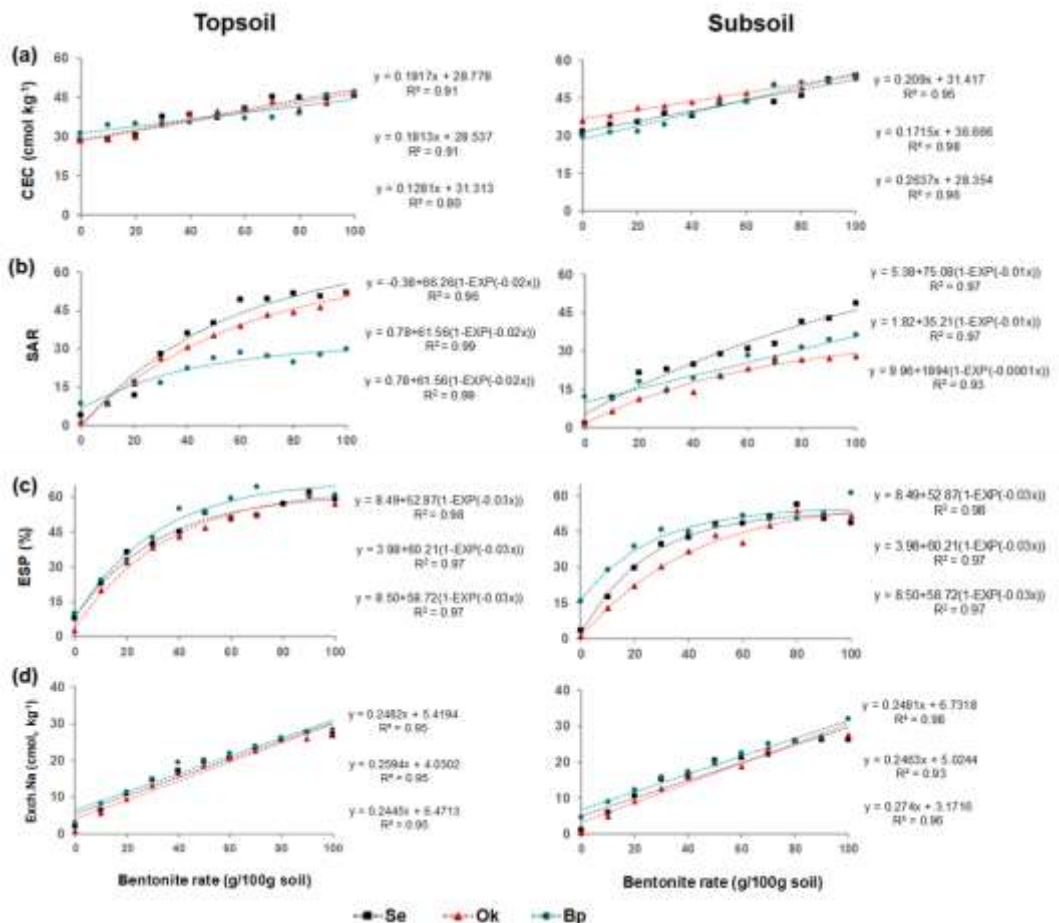


Figure 3. Relationships between bentonite rate with ion exchange soil properties i.e. CEC (a), SAR (b), ESP (c) and exch. Na (d) of acid sulfate soil.

*, ** Significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively

ปมด้วยโซเดียมเบนโทไนต์สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ของเบนโทไนต์ (53.94 เซนติโมลต่อกิโลกรัม) ปริมาณโซเดียมที่มีอยู่มากส่งผลให้โครงสร้างดินไม่แข็งแรง ถูกทำลายได้ง่าย ดินแน่นทึบ มีข้อจำกัดในการซึมน้ำ การระบายน้ำระคายอากาศ ส่งผลต่อการชอนไชของรากพืช (Chhabra, 2005) และอาจส่งเสริมให้พืชดูดใช้คลอไรด์และโซเดียมมากเกินไป

สำหรับผลการศึกษาค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) ค่าสัดส่วนการดูดซับโซเดียม (SAR) ค่าร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP) และค่าโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (exch. Na) ของกลุ่มดินปกติ พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันกับกลุ่มดินเปรี้ยวจัด ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) มีค่า R^2 ของสมการ linear equation อยู่ในพิสัย 0.89-0.96 (Figure 4a) กลุ่ม

ดินนี้มีปริมาณความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนต่ำ ทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนมากกว่ากลุ่มดินเปรี้ยวจัด คือมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 10-35 เซนติโมลต่อกิโลกรัม ช่วยเพิ่มความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวกของดิน ค่าสัดส่วนการดูดซับโซเดียม (SAR) มีค่า R^2 อยู่ในพิสัย 0.67-0.93 (Figure 4b) ซึ่งค่า SAR จะเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มคงที่ทุกชุดดินทั้งในชั้นดินบนและล่าง โดยทุกชุดดินมีค่า SAR มากกว่า 13 ในอัตราโซเดียมเบนโทไนต์ 10 กรัมต่อดิน 100 กรัม (1:10) จนถึงอัตราโซเดียมเบนโทไนต์ 100 กรัมต่อดิน 100 กรัม (1:1) ค่าร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP) มีค่า R^2 อยู่ในพิสัย 0.84-0.98 (Figure 4c) ซึ่งค่า ESP จะเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มคงที่ในชุดดินสีกและสัดหีบของชั้นดินบนและทุกชุดดินของชั้นดินล่าง โดยทุกชุดดินมีค่า ESP มากกว่า 15 ในอัตรา

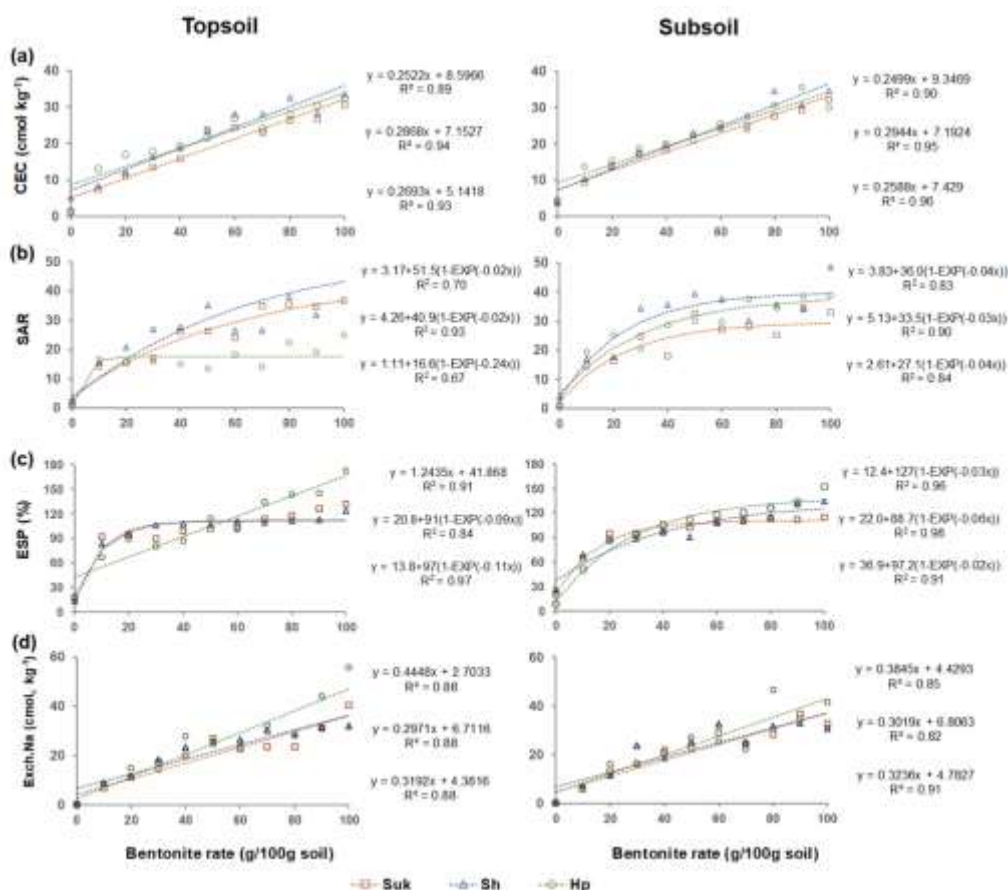


Figure 4. Relationships between Na-bentonite rates with ion exchange properties of soils i.e. CEC (a), SAR (b), ESP (c) and exch. Na (d) of Normal soil.

*, ** Significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively

โซเดียมเบนทอไนต์ 10 กรัมต่อดิน 100 กรัม (1:10) จนถึงอัตราโซเดียมเบนทอไนต์ 100 กรัมต่อดิน 100 กรัม (1:1) ซึ่งทั้งค่า SAR และ ESP เป็นเกณฑ์ที่ใช้ในการจำแนกกลุ่มของดินที่ได้รับอิทธิพลจากเกลือในกลุ่มดินโซดิก เช่นเดียวกับดินเปรี้ยวจัด ค่าโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (exch. Na) มีค่า R^2 ของสมการ linear equation อยู่ในพิสัย 0.82-0.91 (Figure 4d) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าโซเดียมเบนทอไนต์มีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดิน เนื่องจากโซเดียมเบนทอไนต์ที่ใช้ในการศึกษามีปริมาณโซเดียมแลกเปลี่ยนได้สูงเท่ากับ 53.94 เซนติโมลต่อกิโลกรัม ดังนั้นเมื่อมีการใส่โซเดียมเบนทอไนต์ลงไปผสมในดิน ทำให้ดินมีปริมาณโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ที่มีความสัมพันธ์กับการใส่โซเดียมเบนทอไนต์ในอัตราที่มากขึ้น (Sangkum, 2009) จึงส่งผลให้มีค่าร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP) ที่ได้จากการคำนวณมีค่ามากขึ้นด้วย ส่วนค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) เป็นค่าที่บอถึงความสามารถของดินในการดูดซับแคตไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ทั้งหมด โดยส่วนใหญ่เป็นประจุบวกของ Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ และ Na^+ ซึ่งจากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีบางประการของโซเดียมเบนทอไนต์ พบว่า มีปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม และ โซเดียมแลกเปลี่ยนได้เท่ากับ 31.13, 7.73, 0.72 และ 53.94 เซนติโมลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และมีค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน เท่ากับ 71.2 เซนติโมลต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในระดับสูงมาก ดังนั้นเมื่อมีการใส่โซเดียมเบนทอไนต์ในดินอัตราที่มากขึ้นทำให้ดินมีค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนสูงขึ้นด้วย (Crocker *et al.*, 2004)

สรุป

การศึกษาผลของโซเดียมเบนทอไนต์ในดินต่อสมบัติทางเคมีของดินตามแนวท่อส่งก๊าซธรรมชาติ แสดงให้เห็นว่า โซเดียมเบนทอไนต์ส่งผลทำให้สมบัติทางเคมีของดินเปลี่ยนแปลงตามปริมาณของโซเดียมเบนทอไนต์ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งโซเดียมเบนทอไนต์นั้นทำให้ดินทั้งที่เป็นดินเปรี้ยวจัดและดินปกติตามแนวท่อก๊าซมีพีเอช ค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) ค่าสัดส่วนการดูดซับโซเดียม (SAR) ค่าร้อยละโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (ESP)

และค่าโซเดียมแลกเปลี่ยนได้ (exch. Na) สูงขึ้น ยกเว้นค่าการนำไฟฟ้าขณะดินอิ่มตัวด้วยน้ำ (EC_e) ที่มีค่าเพิ่มขึ้นในกลุ่มดินปกติ แต่ลดลงในกลุ่มดินเปรี้ยวจัด โดยสมบัติของดินปนเบนทอไนต์จะเปลี่ยนแปลงจนเข้าใกล้สมบัติธรรมชาติของเบนทอไนต์ที่ใช้ในการศึกษา ซึ่งเห็นได้ชัดเจนในค่าพีเอช ค่า ESP และ SAR ทั้งนี้อัตราเร็วในการเปลี่ยนแปลงสมบัติดินขึ้นกับสมบัติของดินตั้งต้น อย่างไรก็ตามผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า โซเดียมเบนทอไนต์ส่งผลเชิงบวกสำหรับดินเปรี้ยวจัดมากกว่ากลุ่มดินปกติ โดยทำให้พีเอชของดินเปรี้ยวจัดซึ่งเป็นกรดรุนแรงมากมีค่าเพิ่มสูงขึ้นถึงระดับที่ไม่เป็นพิษกับพืชโดยทั่วไปตั้งแต่อัตราเบนทอไนต์ 10 กรัมต่อดิน 100 กรัม ดังนั้นการปนเปื้อนโซเดียมเบนทอไนต์ในดินเปรี้ยวไม่ควรเกินร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก และต้องคำนึงถึงค่า SAR และค่า ESP ที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโซเดียมในดินไม่ควรเกินค่ามาตรฐาน เช่นเดียวกับกลุ่มดินปกติ โซเดียมเบนทอไนต์มีผลทำให้ค่าพีเอช ค่า SAR และ ESP เพิ่มขึ้นรวดเร็ว ดังนั้นการปนเปื้อนโซเดียมเบนทอไนต์ในกลุ่มดินไม่ควรเกินร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ทั้งนี้หากการปนเปื้อนในอัตราที่สูงกว่านี้อาจจะส่งผลต่อการใช้พื้นที่เพื่อการทำเกษตรกรรม อย่างไรก็ตามเนื่องจากโซเดียมเบนทอไนต์มีเนื้อเป็นดินเหนียวและส่งเสริมความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดินโดยเฉพาะดินเนื้อหยาบซึ่งจะทำให้ดินมีสมบัติด้านการแลกเปลี่ยนของดินดีขึ้น และหากมีการปนเปื้อนเบนทอไนต์มากเกินไปค่ามาตรฐานควรศึกษาปรับปรุงสมบัติดินปนเปื้อนเบนทอไนต์โดยการใช้อยิปซัมให้อยู่ในระดับที่ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) สำหรับทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

Attanandana, T. 2007. Paddy Soil. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. 393 p. (in Thai)

- Bloom, P.R. and U. Skjellberg. 2012. Soil pH and pH buffering. pp. 19-1 to 19-14. *In*: P.M. Huang, Y. Li and M.E. Sumner (eds.). Handbook of Soil Sciences: Properties and processes. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Buol, S.W., R.J. Southard., R.C. Graham and P.A. McDaniel. 2011. Soil Genesis and Classification. 6th ed. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa. 543 p.
- Chhabra, R. 2005. Soil Salinity and Water Quality. A.A. Balkema Publishers, Brookfield.
- Chittamart, N., S. Tawornpruek, D. Ketrot, S. Aramrak, K. Chittanukul and R. Sattapun. 2018. Utilization of Na-bentonite to improve pH-buffering capacity of acid sulfate soils in natural gas transmission pipeline rights-of-way, Thailand. Journal of IOP Science (IOP Conference Series: Earth and Environmental Science) 151(2018) 012023, doi: 10.1088/1755-1315/151/1/ 012023.
- Chunlapan, P. 2001. Solid waste leachate treatment by coagulation process with bentonite. M.S. Thesis. Kasetsart University, Bangkok. 163 p. (in Thai)
- Crocker, J., R. Poss, C. Hartmann and S. Bhuthorndharaj. 2004. Effects of recycled bentonite addition on soil properties, plant growth and nutrient uptake in a tropical sandy soil. Plant and Soil 267(1-2): 155-163.
- Department of Mineral Resources. 2007. Mineral and rock used in the industry. (Online). Available: http://www.dmr.go.th/ewt_news.php?nid=1033&filename=m (September 24, 2007). (in Thai)
- Dollhopf, D.J. and B.J. Bauman. 1981. Bentonite mine land reclamation in the northern great plains. Montana Agricultural Experiment Station Research Report 179, Montana State University, Bozeman. 41 p.
- FAO. 1976. Prognosis of salinity and alkalinity. FAO Soil Bulletin 31. FAO, Rome.
- Inglethorpe, S.D. J., D.J. Morgan, D.E. Highley and A.J. Bloodworth. 1993. Industrial Minerals Laboratory Manual: Bentonite. Technical Report WG/93/20: Mineralogy and Petrology Series. British Geological Survey, Keyworth, Nottingham. 116 p.
- Kheoruenromne, I. 2005. Soil Survey. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Kheoruenromne, I. 2007. Acid Sulfate Soil in Thailand. Text and Journals Publishing, Bangkok. (in Thai)
- Lesturgez, G., R. Poss, C. Hartmann, E. Bourdon, A. Noble and S. Ratana-Anupap. 2004. Roots of *Stylosanthes hamata* create macropores in the compact layer of a sandy soil. Plant and Soil. 260: 101-109.
- Ljung, K., F. Maley, A. Cook and P. Weinstein. 2009. Acid sulfate soils and human health - A millennium ecosystem assessment. Environment International 35(8): 1234-1242.
- Meesuk, L., M. Ruaysap and P. Wathanakul. 2000. Potentiality of Thai bentonite for soybean oil decolourisation. pp. 242-247. *In*: Proceedings of the 40th Kasetsart University Annual Conference: Science. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- National Soil Survey Center. 1996. Soil Survey Laboratory Methods Manual. Soil Survey Invest. Report. No 42, Version 3.0. USDA, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Sangkum, P. 2009. Effects of Na-bentonite on soil properties and growth of Rayong 5 cassava

- variety. M.S. Thesis. Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom. (in Thai)
- Schuman, G.E., E.J. Depuit and K.M. Roadifer. 1994. Plant responses to gypsum amendment of sodic bentonite mine spoil. *Journal of Range Management* 47(3): 206-209.
- Sanchez, P.A. 2019. *Properties and Management of Soils in the Tropics*. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge. 666 p.
- Troeh, F.R. and L.M. Thompson. 2005. *Soils and Soil Fertility*. 6th ed. Blackwell Publishing, Oxford.
- Uresk, D.W. and T. Yamamoto. 1986. Growth of forbs, shrubs, and trees on bentonite mine spoil under greenhouse conditions. *Journal of Range Management* 39(2): 113-117.
- Voorhees, M.E. 1986. Infiltration rate of bentonite mine spoil as affected by amendments of gypsum, sawdust and inorganic fertilizer. *Reclamation and Revegetation Research* 5: 483-490.
- Weil, R.R. and N.C. Brady. 2017. *The Nature and Properties of Soil*. 15th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
-

Effects of Nitrogen Fertilizer Rates and Irrigation Methods on Growth and Yield of Sweet Corn in Chiang Mai Province

ผลของอัตราปุ๋ยไนโตรเจนและวิธีการให้น้ำต่อการเติบโตและผลผลิต ของข้าวโพดหวานในจังหวัดเชียงใหม่

Panitnart Mungmoon and Choochad Santasup*

พนิตนาถ มั่งมูล และ ชูชาติ สันทรทรัพย์

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

ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

**Corresponding author: Email: santasup@gmail.com*

(Received: 8 January 2020; Accepted: 10 April 2020)

บทคัดย่อ: การศึกษาการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับวิธีการให้น้ำสำหรับการปลูกข้าวโพดหวาน ได้ดำเนินการทดลองในพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวานของเกษตรกร อำเภอแม่ฮาด และในแปลงวิจัย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ในระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2560 ถึง มีนาคม 2561 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design, RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธีทดลอง ได้แก่ (1) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 190.75 กิโลกรัม/เฮกตาร์ และให้น้ำแบบปล่อยตามร่องปลูก (กรรมวิธีที่เกษตรกรนิยมปฏิบัติ) (2) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 156.25 กิโลกรัม/เฮกตาร์ (ใส่ปุ๋ยตามความต้องการของพืชและตามค่าวิเคราะห์ดิน) และให้น้ำแบบปล่อยตามร่องปลูก (3) ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 156.25 กิโลกรัม/เฮกตาร์และให้น้ำแบบระบบน้ำหยด (4) ไม่ใส่ปุ๋ยและให้น้ำแบบปล่อยตามร่องปลูก (กรรมวิธีควบคุม) ผลการศึกษาพบว่า อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่ประเมินจากความต้องการของข้าวโพดหวานและค่าวิเคราะห์ดิน ไม่ทำให้ความสูง ค่าความชื้นสีเขียวในใบพืช และความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก ปริมาณและคุณภาพผลผลิต แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่เกษตรกรนิยมปฏิบัติ ทั้งในระบบปล่อยน้ำตามร่องปลูกและระบบน้ำหยด โดยข้าวโพดหวานที่ปลูกในแปลงของเกษตรกร มีน้ำหนักฝักเฉลี่ย 410.48-430.10 กรัม/ฝัก และผลผลิตฝักสดอยู่ระหว่าง 19.85-20.79 ตัน/เฮกตาร์ และข้าวโพดหวานที่ปลูกในแปลงวิจัย มีน้ำหนักฝักเฉลี่ย 319.85-367.65 กรัม/ฝัก และผลผลิตฝักสดอยู่ระหว่าง 16.87-18.33 ตัน/เฮกตาร์ และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้มากกว่า 14 องศาบริกซ์ ทั้งสองแปลงทดลอง อย่างไรก็ตาม ระบบน้ำหยดสามารถลดการใช้น้ำลงได้ 40 และ 58 เปอร์เซ็นต์ ทั้งที่ในแปลงของเกษตรกรและในสถานีวิจัย ตามลำดับ

คำสำคัญ: ข้าวโพดหวาน ระบบน้ำหยด ปุ๋ยไนโตรเจน ผลผลิต คุณภาพของข้าวโพดหวาน

Abstract: The study on nitrogen fertilizer management and irrigation methods for sweet corn, this study was conducted in farmer's field at Mae Ai district and in the research field of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai province during November 2017 to March 2018. The experimental design was a randomized complete block design (RCBD) with 4 replications and 4 treatments as follows: (1) nitrogen application at the rate of 190.75 kg/ha and furrow irrigation system (farmer practice), (2) nitrogen application at the rate of 156.25 kg/ha (site-specific fertilizer management) with furrow irrigation, (3) nitrogen application at the rate of 156.25 kg/ha with drip irrigation and (4) control treatment, non-fertilization and irrigated by furrow. The results revealed that the rate of nitrogen application based on the nutrient requirement of sweet corn and soil analysis data (site-specific fertilizer management) did not affect plant height, leaf greenness value and primary nutrient content in ear leaf, fresh yield and yield quality significantly when compared to farmer practice treatment both in furrow and drip irrigations. The range of ear weight and fresh yield were 410.48-430.10 g/ear, 19.85-20.79 t/ha in farmer's field and 319.85-367.65 g/ear, 16.87-18.33 t/ha in the research field, respectively. Moreover, the total soluble solids in the kernel were higher than 14 °Brix in both experimental fields. However, the drip irrigation system saved 40% water usage compared to the furrow system in the farmer's field and saved 58% in the research field.

Keywords: Sweet corn, drip system, nitrogen fertilizer, yield, quality of sweet corn

Introduction

Sweet corn is a quality agricultural commodity of Thailand for its potential for fresh produce distribution and raw material in the food processing industry with a high volume of export. Sweet corn (*Zea mays* L. *Saccharata*) belongs to the family Poaceae. It is a naturally-occurring genetic mutation of field corn and consumed at the soft dough stage with succulent grains, emerges as an alternative dish of vegetable, roasted ears, soups and sweetness, etc. The sweet corn season is shorter than that of field corn because the marketable ears are harvested earlier from 35 to 45 days compared to the field corn (Bhatt, 2012) when kernel sugar content is optimal.

Nitrogen is one of the most important plant nutrients as it is required to produce proteins and chlorophyll, maintain photosynthetic efficiency, leaf area development and ultimately dry matter

production (Muchow, 1998). Nitrogen fertilization and soil management practices are very important to enhance crop yield (Atkinson *et al.*, 2005). Min *et al.* (2011) reported that the nitrogen fertilizer use efficiency was only 18% under the conventional application rate, increasing from 522 to 870 kg/ha and apparent nitrogen losses of 71-86% were caused by leaching, leaching was the primary nitrogen loss pathway. Some researchers noted that an increasing amount of nitrogen increased yield significantly (Maqsood *et al.*, 2001; Sharar *et al.*, 2003). Biswas and Ma (2016) also reported that corn yield, nitrogen in kernel and stover biomass increased with an increasing nitrogen rate. However, higher nitrogen rates (200 kg N/ha) did not provide a yield advantage as compared to 150 kg N/ha in 2010, but the highest grain yield was produced with 200 kg N/ha in 2011. The economic optimal nitrogen rate varied greatly from year to year, the average economic optimal nitrogen rate (170-180 kg/ha) did

not change from 1992-2010 (Schlegel and Havlin, 2017). However, most of the cereal crops require a large amount of nitrogen to produce maximum yield and for which nutrient use efficiency (NUE) is estimated to be less than 50% (Raun and Johnson, 1999). NUE currently averages 33% for wheat and corn production around the world (Freeman and Raun, 2007). It varies from one situation to another due to variability in several factors such as crop health, soil types, years and locations, application timings, methods of application/incorporation of the fertilizer in the soil and nutrient responses of the cultivated variety (Nielsen, 2006). Thus, nitrogen management is one of the most extensively-researched topics in agriculture (Subedi *et al.*, 2006).

In the current water crisis, sufficient available freshwater resources are becoming the binding constraint for food production. Limited water sources are among the reasons that force many farmers to reduce irrigation applications. The fact that water is one of the most important environmental factors that affect the growth, development and crop production of the plant, it is a critical issue limiting plant growth by having an impact on anatomical, morphological, physiological and biochemical processes (Setter *et al.*, 2001). NeSmith and Ritchie (1992) reported that the yield of corn reduction ranged from 21% to 40% in the water-deficit treatment, with kernel weight being the most affected component. Thus, irrigation is an important practice for sustainable agriculture, especially in crop production to meet retailer demands for quality when rainfall is insufficient. Drip irrigation is the most effective method in terms of both maximizing yield and water conservation (Cetin and Bilgel, 2002) as well as providing efficient use of limited water (Viswanatha *et al.*, 2002). It saved about 56.4% water

compared to furrow irrigation method (Tagar *et al.*, 2012). Ramamurthy *et al.* (2009) reported that water use efficiency with drip irrigation was 45-68% higher than the flood method. Hence, this study aimed to investigate drip irrigation and site-specific nitrogen fertilizer management (SSFM) to increase yield and save water.

Materials and Methods

Two field experiments were conducted in Chiang Mai province, Northern Thailand from November 2017 to March 2018. Sweet corns were planted in the area with different soil types and field managements including a farmer's field in Mae Ai district and research field at Mae Hia Agricultural Research, Demonstration and Training Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. The initial soil properties of the farmer's field were loam soil (35.3 % sand, 42.4 % silt, 22.3 % clay) and the chemical properties were as follows; pH 5.59 (pH meter; Rhoades, 1982), electrical conductivity (EC) 45 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (conductivity meter; Siwasin, 1984), organic matter (OM) 4.48% (titration; Nelson and Sommers, 1980), available phosphorus (avai. P) 86 mg/kg (Bray II; Houba *et al.*, 1988) and exchangeable potassium (exch. K) 88 mg/kg (NH_4OAc 1M pH 7; Helmke and Sparks, 1996). While the soil texture of the research field was sandy loam (57.7 % sand, 31.7 % silt, 16.6 % clay). The soil properties were pH 6.06, EC 21 $\mu\text{S}/\text{cm}$, OM 1.60 %, avai. P 22.14 mg/kg and exch. K 99 mg/kg. Sweet corn seeds, Hi-Brix 53 variety were sown in the spacing of 75 x 25 cm by hand. Weed and pest controls were performed as necessary.

Experimental design: The experimental size was 0.16 ha (1,600 m²). Sweet corn was planted in a randomized complete block design with 4

replications and 4 treatments as follows; (1) nitrogen application at the rate of 190.75 kg/ha with furrow irrigation (farmer practice rate, CP-Furrow), (2) nitrogen application at the rate of 156.25 kg/ha (site-specific fertilizer management) (Sanjunthong, 2017) with furrow irrigation, (3) nitrogen application at the rate of 156.25 kg/ha and drip irrigation and (4) control treatment, non-fertilization and water irrigated by furrow. P and K fertilizer were applied at the same rate, 46.75 kg P_2O_5 /ha and 46.75 kg K_2O /ha. Urea and compound fertilizer (15-15-15) were used as N, P and K sources in the experiment. Fertilizer was applied 3 times; 10% of nitrogen fertilizer and 40% of phosphorus and potassium fertilizers were applied at 15 days after sowing (DAS). The second application, 60% of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers were applied at 27 DAS. In the last application, 30% of nitrogen fertilizer was applied at 45 DAS.

The fertilizer rate of SSFM treatment applied in this experiment was obtained from Sanjunthong (2017) who suggested that sweet corn which was grown in the farmer's field where the soil contained moderate level of OM (>1.5%), moderate to high level of available P (>20 mg/kg) and moderate level of exchangeable K (60-100 mg/kg), application of N at the rate of 156.25 kg/ha (minimum N requirement of sweet corn), P (P_2O_5) and K (K_2O) fertilizer at the rate of 47.75 kg/ha was sufficient for sweet corn production. Water management on the farmer's field was performed by the farmer and the amount of irrigation water was recorded using a water meter. For water management in the research field, the amount of irrigation water and irrigation frequency were controlled by tensiometer and recorded using the water meter as well.

Data collection: The height of sweet corn was measured (from the soil surface to top of fully-

developed leaf) at 20, 40 and 60 days after sowing, using a measuring tape. When sweet corn was in the V6 growth stage (50 DAS), leaf greenness (SPAD) was measured by chlorophyll meter (Konica, SPAD-502). At the silking stage, ear leaf was collected for nutrient analysis. Sweet corn ear was harvested at the R3 stage (milk stage, 101 DAS) by sampling 40 plants (7.5 m^2), then marketable yield and yield component (ear weight, ear diameter, ear length and the number of row/ear) were recorded. (Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2012). In addition, total soluble solids (TSS) by Otago Digital Brix Refractometers, nitrogen (N) (Novozamsky *et al.*, 1974), phosphorus (P) (Walinga *et al.*, 1995) and potassium (K) (Kalra, 1998) in the kernel were analyzed.

Data analysis: Data analysis was performed using Statistix 9.0. All parameters were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and mean separation was performed by the least significant difference (LSD) test. Unless noted otherwise, statistical tests were performed at the $\alpha = 0.05$ level of significance.

Results

Plant growth: Results in Table 1 showed that the plant height of sweet corn was influenced by different fertilizer and water management. In the farmer's field, plant heights of the treated plants were in the range of 14.79-15.46 cm, 33.06-35.98 cm and 166.23-179.24 cm at 30, 50 and 70 DAS, respectively. In the research field, plant heights of the treated plants were in the range of 15.25-16.65 cm, 55.25-59.59 cm and 197.36-202.56 cm at 30, 50 and 70 DAS, respectively. The minimum plant height was found in the control treatment at 70 DAS in both experimental fields.

Table 1. Effect of fertilizer and water management on plant height of sweet corn

Treatment	Plant height (cm)					
	Farmer's field			Research field		
	30 DAS	50 DAS	70 DAS	30 DAS	50 DAS	70 DAS
CP-Furrow	14.79 a	33.06	166.23 a	15.80	59.59	202.56 a
SSFM-Furrow	15.46 a	35.98	179.24 a	16.65	57.66	200.37 a
SSFM-Drip	14.85 a	35.69	170.00 a	15.25	55.25	197.36 a
Control	12.38 b	28.31	134.86 b	16.26	47.44	143.01 b
CV (%)	7.77	11.85	12.06	9.53	10.04	5.33
LSD _{0.05}	1.79	ns	31.35	ns	ns	15.84

Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$, ns = non-significant, DAS = day after sowing

Plant nutrient status: Fertilizer and water management did not affect the SPAD and plant nutrient concentration in ear leaf significantly (Table 2). In the farmer's field, the SPAD was in the range of 57.33-59.34 SPAD units. However, in the research field, the SPAD was in the range of 45.78-47.57 SPAD units. The minimum SPAD was found in the control treatment in both fields. N, P and K concentrations in ear leaf of farmer's field were in the range of 1.98-2.30%, 0.23-0.26% and 2.10-2.28%, respectively. On the other hand, N, P, and K concentrations in ear leaf in the research field were in the range of 2.43-2.54%, 0.20-0.24% and 1.88-2.09%, respectively. The minimum N concentration in ear leaf was found in the control treatment in both experimental fields (1.69% in the farmer's field and 1.61 in the research field). In contrast, the control treatment showed maximum P concentrations (0.55%) in ear leaf in both fields. Moreover, the concentrations of K in the ear leaf of sweet corn were not significant in the farmer's field while the lowest potassium content (1.52%) was noted in control treatment in the research field.

Biomass: The data in Table 3 showed that fertilizer and water management did not affect biomass significantly. The stem and ear dry weights

of sweet corn planted in the research field were 172.78-216.79 and 87.91-99.29 g/plant, respectively. In the farmer's field, the stem and ear dry weights were 134.87-143.55 and 80.71-87.77 g/plant, respectively. On the other hand, most of the control treatments showed the lowest dry weight of stem and ear. The dry weight was 38.58 g/plant in stem and 29.31 g/plant in ear in farmer's field. For the research field, the dry weights were 22.70 and 16.87 g/plant in the stem and ear, respectively.

Corn yield: The results in Table 3 clearly showed that fertilizer application treatments increased fresh yield of sweet corn significantly compared to the no fertilization treatment (control treatment). However, the different fertilizer rates and water management did not affect the yield of sweet corn at both experimental fields significantly. The sweet corn yields in the farmer's field were in the range of 19.85-20.79 t/ha while in the research field ranged from 16.87 to 18.33 t/ha. The minimum fresh yield (8.19 t/ha) was observed in the control treatment in the farmer's field. It should be noted that, in the research field, the fresh yield of sweet corn was not available because the ear of sweet corn was incomplete in the kernel setting.

Table 2. Effect of fertilizer and water management on SPAD and nutrients concentration in ear leaf of sweet corn

Treatment	SPAD		Concentration (%)					
	(SPAD unit)		Farmer's field			Research field		
	Farmer's field	Research field	N	P	K	N	P	K
CP-Furrow	57.33 a	45.99	2.30 a	0.25 bc	2.10	2.43 a	0.20 c	1.91 a
SSFM-Furrow	59.34 a	45.78	2.29 a	0.26 b	2.28	2.44 a	0.20 c	1.88 a
SSFM-Drip	58.76 a	47.57	1.98 b	0.23 c	2.23	2.54 a	0.24 b	2.09 a
Control	30.32 b	45.38	1.69 c	0.55 a	1.81	1.61 b	0.55 a	1.52 b
CV (%)	5.86	3.34	8.67	4.95	10.38	8.96	7.00	8.59
LSD _{0.05}	4.87	ns	0.29	0.03	ns	0.32	0.03	0.25

Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$, ns = non-significant, DAS = days after sowing, ear leaf = ear leaf at silking stage

Table 3. Effect of fertilizer and water management on fresh yield and biomass of sweet corn

Treatment	Fresh yield		Biomass (g/plant)			
	(t/ha)		Farmer's field		Research field	
	Farmer's field	Research field	Stem	Ear	Stem	Ear
CP-Furrow	20.75 a	16.93	139.72 a	87.77 a	216.79 a	90.05 a
SSFM-Furrow	19.85 a	16.87	143.55 a	82.92 a	172.78 b	87.91 a
SSFM-Drip	20.79 a	18.33	134.87 a	80.71 a	181.01 b	99.29 a
Control	8.19 b	N/A	38.58 b	29.31 b	22.70 c	16.87 b
CV (%)	7.12	4.41	14.86	13.61	13.43	10.84
LSD _{0.05}	1.98	ns	27.13	15.28	34.55	12.75

Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$, ns = non-significant, N/A = not available

Yield quality: The fertilizer and water managements did not affect yield quality of sweet corn at the harvest stage significantly. In the farmer's field (Table 4), ear weights of sweet corn were in the range of 410.48-430.10 g/ear. Ear lengths ranged from 31.35 to 32.25 cm and ear diameters were in the range of 63.77-64.95 mm. The number of rows per ear was in the range of 17.58-18.45 and TSS was 14.57-14.60 °Brix. Moreover, the lowest quality of all parameters showed in the control. The ear weight was only 154.00 g/ear. Ear length was 22.45 cm and

ear diameter was 45.11 mm. The number of rows per ear was 15.60 and TSS was 14.48 °Brix. For the research field, the fresh yield was not available because the ear of sweet corn was incomplete in the kernel setting, so the quality of sweet corn was calculated from the fertilizer treatment. Ear weights of sweet corn were 319.85-367.65 g/ear. For ear lengths and diameters, they were in the range of 29.24-29.76 and 59.95-60.48 mm, respectively. The number of rows per ear was 16.13-18.10 and TSS was 14.78-15.06 °Brix.

Nutrient concentration in kernels: In the farmer's field trial, drip irrigation treatment showed a positive effect on the nitrogen concentration (3.19%) in the ear significantly (Table 5). In contrast, the concentrations of phosphorus in the ear were not significant among fertilizer treatments. The concentrations of phosphorus were observed in the range of 0.49-0.51 %. In contrast, the highest phosphorus concentration (0.54%) in the kernel was recorded in the control treatment. However, the concentration of potassium in the ear was not significant for all treatments, it was found in the range of 1.67-1.85%. For the research field, the fertilizer and water management did not affect N, P and K

concentration in kernels. The concentrations of nitrogen, phosphorus and potassium were observed in the range of 2.15-2.30%, 0.34-0.35 % and 1.13-1.15%, respectively.

Water usage: For the amount of irrigation water, water irrigation by furrow system was to low efficiency (Figure 1). In the farmer's field, approximately 1,989-2,064 m³/ha/crop of water was applied for producing sweet corn while the amount of irrigation water by drip irrigation was only 1,238 m³/ha/crop. Similar to the research field experiment, 5,740-5,840 m³/ha/crop of water was applied to sweet corn under the furrow system compared to the drip irrigation that was applied only 2,407 m³/ha/crop.

Table 4. Effect of fertilizer and water management on sweet corn qualities

Treatment	Ear weight (g/ear)		Ear length (cm)		Ear diameter (mm)		No. of row/ear		TSS (°Brix)	
	Farmer's field	Research field	Farmer's field	Research field	Farmer's field	Research field	Farmer's field	Research field	Farmer's field	Research field
CP-Furrow	430.10 a	325.83	32.00 a	29.41	64.95 a	59.95	18.18 a	16.38	14.60	14.78
SSFM-Furrow	410.48 a	319.85	31.35 a	29.24	63.77 a	60.14	18.45 a	16.13	14.58	14.85
SSFM-Drip	427.70 a	367.65	32.25 a	29.76	64.84 a	60.48	17.58 a	18.10	14.57	15.06
Control	154.00 b	N/A	22.45 b	N/A	45.11 b	N/A	15.60 b	N/A	14.48	N/A
CV (%)	7.09	12.02	3.01	2.49	2.47	3.35	3.75	12.33	1.17	1.28
LSD _{0.05}	40.35	ns	1.42	ns	2.35	ns	1.05	ns	ns	ns

Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$, ns = non-significant, TSS = total soluble solid, N/A = not available

Table 5. Effect of fertilizer and water management on nutrient concentration in the kernel of sweet corn

Treatment	Nutrient concentration in kernel (%)					
	Farmer's field			Research field		
	N	P	K	N	P	K
CP-Furrow	2.78 b	0.51 b	1.67	2.28	0.35	1.14
SSFM-Furrow	2.56 b	0.49 b	1.77	2.15	0.34	1.13
SSFM-Drip	3.19 a	0.50 b	1.79	2.30	0.34	1.15
Control	2.60 b	0.54 a	1.85	-----	N/A -----	-----
CV (%)	6.75	2.95	6.37	7.94	6.46	5.22
LSD _{0.05}	0.30	0.02	ns	ns	ns	ns

Means within the same column followed by different letters are significantly different according to LSD test at $P \leq 0.05$, ns = non-significant, N/A = not available

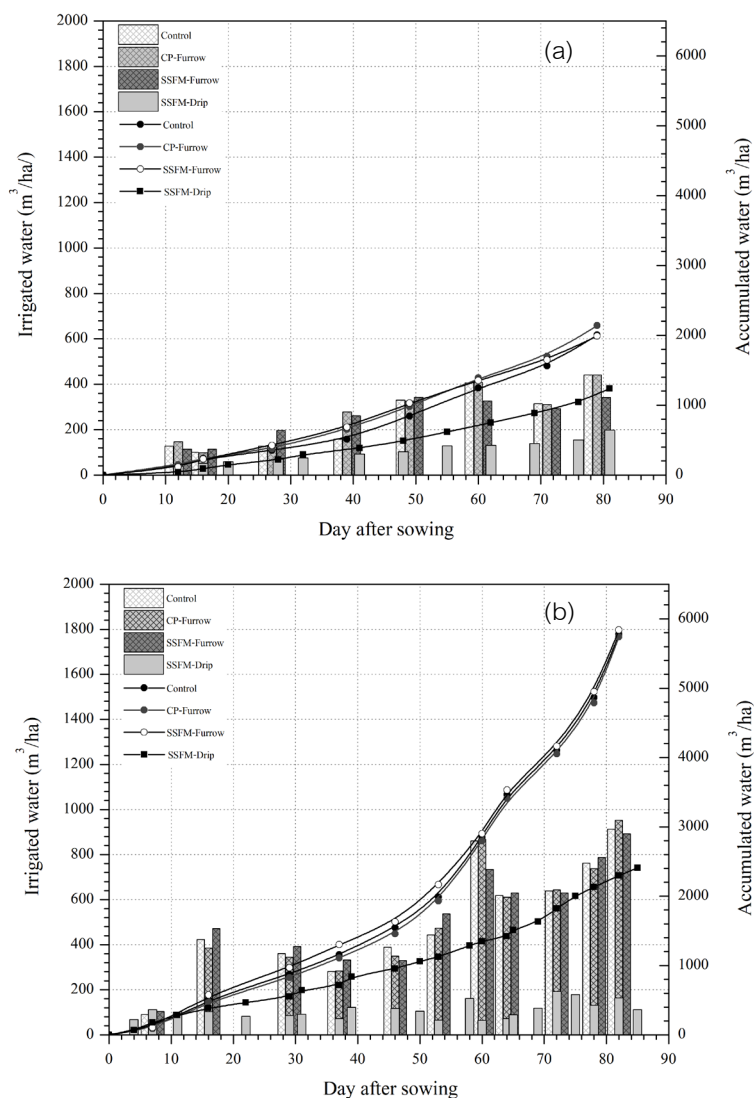


Figure 1. Irrigated water (bar) and accumulated water (line) for sweet corn planted in the farmer's field (a) and research field (b)

Discussion

The results of this study indicated that fertilizer still play and important role for plant growth, especially nitrogen fertilizer. Sweet corn that was cultivated without fertilizer (control treatment) gave low or no marketable yield. Asaduzzaman *et al.* (2014) reported that N-fertilizer had significant effect on plant height at all growth stage, the tallest plant

was observed at 160 kg/ha which was statistically similar to 200 kg/ha and the shortest at 0 kg/ha. Significant variation was observed in respect of dry matter accumulation due to different N fertilizer rates. However, fertilization based on nutrient requirements and soil analysis data (SSFM) under different irrigation system (drip and furrow irrigation system) did not significantly affect the plant height, SPAD value and nutrient concentration in ear leaf of sweet

corn in both areas. Chlorophyll meter is used worldwide in the corn-field for crop N status assessment because the SPAD value was highly correlated with leaf chlorophyll content determined with destructive measurements (Schaper and Chacko, 1991) and highly correlated with N concentration in corn leaf tissue (Schepers *et al.*, 1992). A positive response of leaf N concentration to photosynthetic rate has been widely reported, so nitrogen promotes foliage growth that is responsible for photosynthesis activities and accumulation of dry matter. At 50 DAS, the SPAD values of sweet corn leaf obtained from low N treatment (156.25 kg N/ha) and high nitrogen treatment (190.75 kg N/ha) were not significantly different in both drip and furrow irrigation systems. These results indicated that N fertilizer application at the rate of 156.25 kg/ha was sufficient for sweet corn growth, which was confirmed by the non-significant difference of N concentration in ear leaf at the silk stage. Ta and Weiland (1992) presented that leaves and stalk each contributed 45% of total N remobilized into the ear, and 10% was contributed by the root. At the harvest stage, N rate of 156.25 kg/ha with different irrigation systems could have the nitrogen concentration in the kernel not less than the N rate of 190.75 kg/ha. Since N content could be converted to crude protein, hence low N fertilizer rate (156.25 kg/ha) still maintained the level of crude protein, resulting in a great economic (fertilizer) costs and reducing environmental impact. In contrast, it was found that P concentration in ear leaf of the control treatment was higher than the other treatments in both experimental fields. Ziadi *et al.* (2007) and Riedell (2010) reported that under limiting N condition, P concentration was increased. However, increasing N concentration provided an increase of shoot biomass while the P concentration was also decreased.

Moreover, the fresh yield of sweet corn under application rates of 156.25 kg N /ha with a drip and furrow irrigation system was not significantly different compared to the common practice rate (190.75 kg N/ha). This result indicated that the rate of 156.25 kg N/ha was sufficient for sweet corn growth and good quality yield, the same as the rate of 190.75 kg N/ha. The obtained results conformed with Sanjunthong (2017) who observed that N requirement of sweet corn (var. Brightgene) was 158.5 kg N/ha and applying the 156.25 kg N/ha was the optimal rate of N fertilizer which resulted in the highest yield. A similar result was also observed that the recommended rate of 156.25 kg N/ha with 46.88 kg K₂O/ha was sufficient for yield and quality of sweet corn grown in farmer's field where soil contained a low level of exch. K (Chalernthai and Santasup, 2017). Pampolino *et al.* (2012) reported that the higher maize yield in Indonesia was obtained from 160 kg N/ha compared with 173 kg N/ha (farmer's fertilizer application rate). Noppa and Santasup (2016) reported that N fertilizer application at the rate of 125 kg/ha was sufficient for good yield and quality of field corn seed production compared to the higher rate of N (156.25 kg/ha) that farmers widely applied. These results suggested that N fertilizer at the rate of 156.25 kg/ha was sufficient for sweet corn production, the same as the rate of 190.75 kg /ha. The N fertilizer rate in this experiment (156.25 kg/ha) which was determined based on N requirement and soil analysis data showed great results, maintained the high amount and quality of productivity while minimizing waste, economic loss and environmental impacts. The low rate of N application (156.25 kg/ha) was not only the ability to maintain a high amount of yield but also the quality of sweet corn. The total soluble solids (TSS), one of the most important qualities of sweet corn, was still in the

high value both in the farmer's field (14.57°Brix) and the research field (15.06 °Brix). These values were higher than the sweet corn's TSS value of Thai agricultural standard (> 9 °Brix) (Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2012). Similar results were also reported by Chalernthai and Santasup (2018). Besides, the ear length (29.24 and 32.25 cm) and ear diameter (59.95 and 64.95 mm) were not significantly different as compared to the higher rate of N application, both in the farmer's field and researcher field. However, these properties were affected by the application of fertilizer and occasionally attributed to seasonal limitations (Okumura *et al.*, 2014). For the control treatment, the fresh yield of sweet corn sowed the different results in different fields. The research field found that the yield of sweet corn was not available because the ear of sweet corn was incomplete in the kernel setting. Prempramote (2010) found that the experiment without fertilizing, corn yield is lower than the fertilizer application significantly. Noppa (2011) reported that in soil with low levels of organic matter (0.94%), mineralized N was not sufficient and corn unable to yield production. The soil with moderate levels of organic matter (1.55%), corn yield was only one third compared to the fertilizer treatment. Consistent with the farmer's field that the control treatment gave the yield 2.5 times lower than fertilizer treatment.

The 156.25 kg N/ha showed no significant differences in the sweet corn yield in drip and furrow irrigation systems. Using a drip irrigation system greatly reduced water usage than the furrow irrigation system in different soil types. In areas with limited water resources, sweet corn can be grown by using a drip irrigation system. However, the amount of water and frequency of irrigation was dependent on the soil texture. The farmer's field where the soil

texture was to loamy characteristics, the water was approximately irrigated weekly. On the other hand, the research field where the soil texture was to sandy loam characteristics, the frequency of irrigation was approximately once in three days. Mojid *et al.* (2009) reported that loam soil saved more than 50% irrigation water compared with sandy loam soil. Omran *et al.* (2016) demonstrated that the amount of water applied by drip irrigation was found to be higher in the clay soil than in the sandy soil because it was dominated by large pores compared with fine texture clay soil. Sandy soil had a low pore space and a high infiltration was responsible for a low water-holding capacity, consequently led to higher frequency of irrigation. Low water-holding capacity resulting in each time that irrigation the water was lost. Thus, more frequent of the irrigation cycle, the water will lose more as well. However, drip irrigation is watering only around the root zone of plants, resulting in less water usage and reduced water loss. When compared with furrow irrigation using drip irrigation water usage in sandy soil, it can save more water than loam soil. Therefore, drip irrigation is a promising method, however, its cost is still high and needs a good quality source of water.

Conclusions

The results of the current study revealed that the application of nitrogen fertilizer at the rate of 156.25 kg/ha/crop based on the nutrient requirement and soil analysis data under drip and furrow irrigation system was suitable for producing sweet corn in Chiang Mai province. This rate was sufficient for providing good growth, yield and quality of sweet corn in both loam and sandy loam soil texture. Moreover, water irrigation by drip irrigation saved the

amount of water more than 40% compared to the furrow system at both experimental sites.

Acknowledgments

This research was supported by The Thailand Research Fund (TRF). We thank our colleagues from Soil Chemistry Laboratory and Soil Science Laboratory, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University for providing expertise and valuable assistance to this work.

References

- Asaduzzaman, M., M. Biswas, M.N. Islam, M.M. Rahman, R. Begum and M.A.R. Sarkar. 2014. Variety and N-fertilizer rate influence the growth, yield and yield parameters of baby corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural Science* 6(3): 118-131.
- Atkinson, D., K.E. Black, L.A. Dawson, Z. Dunsiger, C.A. Watson and S.A. Wilson. 2005. Prospects, advantages and limitations of future crops production systems dependent upon the management of soil processes. *Annals of Applied Biology* 146(2): 203-215.
- Bhatt, P.S. 2012. Response of sweet corn hybrid to varying plant densities and nitrogen levels. *African Journal of Agricultural Research* 7(46): 6158-6166.
- Biswas, D.K. and B.L. Ma. 2016. Effect of nitrogen rate and fertilizer nitrogen source on physiology, yield, grain quality, and nitrogen use efficiency in corn. *Canadian Journal of Plant Science* 96: 392-403.
- Cetin, O. and L. Bilgel. 2002. Effect of different irrigation methods on shedding and yield of cotton. *Agricultural Water Management* 54: 1-15.
- Chalernthai, P. and C. Santasup. 2018. Effect of potassium fertilizer on quality and yield of sweet corn in Ngao district, Lampang province. *Journal of Agriculture* 34(1): 29-40. (in Thai)
- Freeman, K.W. and W.R. Raun. 2007. Advances in nitrogen handling strategies to increase the productivity of wheat. pp. 169-173. *In*: H.T. Buck, J.E. Nisi and N.Salomon. *Wheat Production in stressed Environments*. Springer, Dordrecht.
- Helmke, P A. and L. Spark. 1996. Lithium, sodium, potassium, rubidium and cesium. Book Series: 5 Method of soil analysis part 3 chemical method. Soil Science Society of America Journal. United States of America. pp. 551-574.
- Houba, V.J.G., J.J. Van Der Lee, I. Novozamsky and J. Wallinga. 1988. Determination of phosphorus. Department of Soil Science and Plant Nutrition, Wageningen Agricultural University, Netherland.
- Kalra, Y.P. 1998. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, Boca Raton. 300 p.
- Maqsood, M., A.A. Abid, A. Iqbal and M.I. Hussain. 2001. Effect of variable rates of nitrogen and phosphorus on growth and yield of maize (golden). *OnLine Journal of Biological Sciences* 1(1): 19-20.
- Min, J., X. Zhao, W.M. Shi, G.X. Xing and Z.L. Zhu. 2011. Nitrogen balance and loss in a greenhouse vegetable system in southeastern China. *Pedosphere* 21(4): 464-472.

- Ministry of Agricultural and Cooperatives. 2012. Thai agricultural standard: Sweet corn. Royal Thai Government Gazette 129: 14D Special.
- Mojid, M.A., S.M.T. Mustafa and G.C.L. Wyseure. 2009. Growth, yield and water use efficiency of wheat in silt loam-amended loamy sand. *Journal of the Bangladesh Agricultural University* 7(2): 403-410.
- Muchow, R.C. 1998. Nitrogen utilization efficiency in maize and grain sorghum. *Field Crops Research* 56: 209-216.
- Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1980. Total nitrogen analysis of soil and plant tissue. *Association of Official Analytical Chemists Journal* 63: 770-778.
- NeSmith, D.S. and J.T. Ritchie. 1992. Maize (*Zea mays* L.) response to a severe soil water-deficit during grain-filling. *Field Crops Research* 29(1): 23-35.
- Nielsen, R.L. 2006. N loss mechanisms and nitrogen use efficiency. (Online). Available: <http://agry.purdue.edu/ext/pubs/2006NLossMechanisms.pdf> (October 12, 2019)
- Noppan, K. 2014. Appropriate fertilizer management for field corn seed production in northern Thailand. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 124 p. (in Thai)
- Noppan, K. and C. Santasup. 2016. Appropriate fertilizer management for field corn seed production in Tak province. *Journal of Agricultural Research and Extension* 33(1): 10-19. (in Thai)
- Novozamsky, I., R. Van Eck, J.C. Van Schouwenburg and I. Walinga. 1974. Total nitrogen determination in plant material by means of the indophenol blue method. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 22: 3-5
- Okumura, R.S., P.S.V. Filho, C.A. Scapim, O.J. Marques, A.A.N. Franco, R.S. de Souza and D.L. Reche. 2014. Effects of nitrogen rates and timing of nitrogen topdressing applications on the nutritional and agronomic traits of sweet corn. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 12(2): 391-398.
- Omran, H.A., I.R. Kareem and R.S. Hassan. 2016. Evaluation of the operation of a drip irrigation system in different types of soil. *Kufa Journal of Engineering* 7(2): 104-121.
- Pampolino, M.F., C. Witt, J.M. Pasuquin, A. Johnston and M.J. Fisher. 2012. Development approach and evaluation of the nutrient expert software for nutrient management in cereal crops. *Computers and Electronics in Agriculture* 88: 103-110.
- Prempramote, P. 2010. Effects of plant spacing and nitrogen fertilizer on agronomic characters and yield in local waxy corn. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 92 p. (in Thai)
- Ramamurthy, V., N.G. Patil, M.V. Venugopalan and O. Challa. 2009. Effect of drip irrigation on productivity and water-use efficiency of hybrid cotton (*Gossypium hirsutum*) in Typic Haplusterts. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 79(2): 118-121.
- Raun, W.R. and G.V. Johnson. 1999. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agronomy Journal* 91(3): 357-363.
- Rhoades, J.D. 1982. *Method of Soil Analysis: Part II. Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Riedell, W.E. 2010. Mineral-nutrient synergism and dilution responses to nitrogen fertilizer in

- field-grown maize. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173(6): 869-874.
- Sanjunthong, W. 2017. Appropriate fertilizer rate for sweet corn production. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 69 p. (in Thai)
- Schaper, H. and E.K. Chacko. 1991. Relation between extractable chlorophyll and portable chlorophyll meter readings in leaves of eight tropical and subtropical fruit-tree species. *Journal of Plant Physiology* 138(6): 674-677.
- Schepers, J.S., D.D. Francis, M. Vigil and F.E. Below. 1992. Comparison of corn leaf nitrogen concentration and chlorophyll meter readings. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 23(17-20): 2173-2187.
- Schlegel, A.J. and J.L. Havlin. 2017. Corn yield and grain nutrient uptake from 50 years of nitrogen and phosphorus fertilization. *Agronomy Journal* 109(1): 335-342.
- Setter, T.L., B.A. Flannigan and J. Melkonian. 2001. Loss of kernel set due to water deficit and shade in maize: carbohydrate supplies, abscisic acid, and cytokinins. *Crop Science* 41(5): 1530-1540.
- Sharar, M.S., M. Ayub, M.A. Nadeem and N. Ahmad. 2003. Effect of different rates of nitrogen and phosphorus on growth and grain yield of maize (*Zea mays* L.). *Asian Journal of Plant Sciences* 2(3): 347-349.
- Siwasin, N. 1984. Laboratory Manual for Soil, Plant and Fertilizer Analysis. Department of Soil Science and Conservation, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai. 138 p. (in Thai)
- Subedi, K.D., B.L. Ma and D.L. Smith. 2006. Response of a leafy and non-leafy maize hybrid to population densities and fertilizer nitrogen levels. *Crop Science* 46(5): 1860-1869.
- Ta, C.T. and R.T. Weiland. 1992. Nitrogen partitioning in maize during ear development. *Crop Science* 32(2): 443-451.
- Tagar, A., F.A. Chandio, I.A. Mari and B. Wagan. 2012. Comparative study of drip and furrow irrigation methods at farmer's field in Umarkot. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* 6(9): 788-792.
- Viswanatha, G.B., B.K. Ramachandrappa and H.V. Nanjappa. 2002. Soil-plant water status and yield of sweet corn (*Zea mays* L. cv. Saccharata) as influenced by drip irrigation and planting methods. *Agricultural Water Management* 55(2): 85-91.
- Walinga, I., J.J. van der Lee, V.J.G. Houba, W. van Vark and I. Novozamsky. 1995. *Plant Analysis Manual*. Springer, Dordrecht. 275 p.
- Ziadi, N., G. Belanger, A.N. Cambouris, N. Tremblay, M.C. Nolin and A. Claessens. 2007. Relationship between P and N concentrations in corn. *Agronomy Journal* 99: 833-841.

ผลของสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมาในการควบคุมด้วงวงข้าว

Effects of Crude Extract from Fever Vine (*Paederia linearis* Hook. f.) in Controlling Rice Weevil (*Sitophilus oryzae* L.)

ดวงเดือน วัฒนารักษ์* และ ณัฐพงศ์ เมธินธรังสรรค์
Duangduan Wattanuruk* and Nathapong Matintarangson

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จ. ปทุมธานี 13180
Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University, Pathum Thani 13180, Thailand

*Corresponding author: Email: duanwatta@hotmail.com

(Received: 19 June 2019; Accepted: 20 April 2020)

Abstract: The problem in rice storage is the infestation and damage by insect pests of rice. Especially, the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L., is one of the major insects in rice production in Thailand. The objectives are to study the effects of extract from fever vine, *Paederia linearis* as the repellent, insecticidal and progeny deterrent on rice weevil. The various concentrations of extract from fever vine at 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 and 8% (w/v) were applied. The treatments were arranged in a completely randomized design (CRD) and replicated 5 times on 10 adults. The experiment was conducted in laboratory at 25-27 °C and 75-80% RH. The results found that the repellent, insecticidal and progeny deterrent of extract from fever vine on the rice weevil were significantly effective ($P<0.05$) when compared with the untreated control. At the concentration of 8%, of extract from fever vine was the highest effective as the repellent, insecticidal and progeny deterrent on rice weevil. The repellent of rice weevil was 9.60 ± 0.48 adults (PR=92%) at 12 h and the highest 10.0 ± 0.00 adults (PR=100%) at 24 h. The percent of mortality on the rice weevil was the highest value 100% and the LC_{50} value with 1.62 and 0.89% at 24 and 48h, respectively. In the progeny deterrent, the number of progeny was 0.40 ± 0.48 adults, percent of progeny deterrent was 98.84% and developmental time was 52.20 ± 1.72 days. Whereas in untreated control, the number of progeny was 34.60 ± 3.55 adults, percent of progeny deterrent was 0.0% and developmental time was 29.60 ± 0.74 days.

Keywords Fever vine, insecticidal, repellent, growth inhibitory, rice weevil

บทคัดย่อ: ปัญหาในการเก็บรักษาข้าวคือการติดต่อนและการเข้าทำลายของแมลงศัตรูข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้วงงวงข้าวเป็นหนึ่งในแมลงศัตรูหลักของข้าวสารในประเทศไทย วัตถุประสงค์คือเพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากเครื่องเทศหมุดหมาในการเป็นสารไล่ สารฆ่าและสารยับยั้งการออกลูกหลานของด้วงงวงข้าว ทดลองที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0% (w/v) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80% ผลการทดลองพบว่าผลสารสกัดจากเครื่องเทศหมุดหมามีผลต่อการไล่ การฆ่า และการยับยั้งการออกลูกหลานของด้วงงวงข้าวได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ที่ความเข้มข้น 8% มีประสิทธิภาพในการเป็นสารไล่ สารฆ่า และสารยับยั้งการออกลูกหลานของด้วงงวงข้าวสูงสุด โดยมีผลต่อการไล่ด้วงงวงข้าวเฉลี่ย 9.60 ± 0.48 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การไล่ 92% ที่เวลา 12 ชั่วโมง และมีผลต่อการไล่ด้วงงวงข้าวสูงสุดเฉลี่ย 10.00 ± 0.00 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การไล่ 100% เวลา 24 ชั่วโมง มีอัตราการตายของด้วงงวงข้าวสูงสุด 100% ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 1.62 และ 0.89% ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโต มีจำนวนตัวเต็มวัยที่ฟักออกมาเท่ากับ 0.40 ± 0.48 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการออกลูกหลาน 98.84% ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเท่ากับ 52.20 ± 1.72 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมมีจำนวนตัวเต็มวัยที่ฟักออกมาเท่ากับ 34.60 ± 3.55 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการออกลูกหลาน 0.0% ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเท่ากับ 29.60 ± 0.74 วัน

คำสำคัญ: เครื่องเทศหมุดหมา การฆ่า การไล่ การยับยั้งการเจริญเติบโต ด้วงงวงข้าว

คำนำ

ประชากรไทยส่วนใหญ่ ประกอบอาชีพเกษตรกรรม เช่น ทำไร่ ทำนา ทำสวน ปลูกพืชผักและเลี้ยงสัตว์ โดยเฉพาะการปลูกข้าวถือว่าเป็นอาชีพหลักของคนไทย เนื่องจากประเทศไทยมีภูมิประเทศและภูมิอากาศที่เหมาะสมกับการเพาะปลูกข้าว หลังจากที่มีการเก็บเกี่ยวข้าวในแปลงนาเกษตรกรจะนำผลผลิตมาเก็บไว้ดูกระสอบ ยุ้งฉาง โรงสี ซังโล ฯลฯ ก่อนที่จะนำไปบริโภคหรือส่งออกขาย ผลผลิตข้าวส่วนใหญ่มักได้รับความเสียหายในระหว่างการเก็บรักษา ความเสียหายที่เกิดขึ้นมีสาเหตุมาจากปัจจัยที่สำคัญ 2 ประการ คือปัจจัยทางกายภาพ (physical factor) ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้น และปัจจัยทางชีวภาพ (biological factor) ได้แก่ แมลง ไร เชื้อรา นกและหนู ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันว่าแมลงเป็นศัตรูสำคัญและสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตข้าวมากที่สุด แมลงศัตรูข้าวหลังโรงเก็บ ได้แก่ ด้วงงวงข้าว มอดข้าวเปลือก ผีเสื้อข้าวสาร มอดแป้ง มอดพื้นเลื้อย และมอดสยาม (Visarathanonth *et al.*, 2005)

ด้วงงวงข้าว (rice weevil) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sitophilus oryzae* L. จัดอยู่ในวงศ์ Curculionidae อันดับ Coleoptera เป็นแมลงศัตรูข้าวสารและข้าวเปลือกที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยที่ตัวเต็มวัยเพศเมียจะแทะเล็มเมล็ดให้เป็นรอยหรือเป็นรู และวางไข่ในเมล็ดข้าว 3-5 ฟอง ไข่ฟักเป็นหนอนใช้เวลา 3-5 วัน หนอนจะกัดกินและลอกคราบอยู่ภายในเมล็ดข้าว ทำให้เมล็ดข้าวมีลักษณะกลวง หนอนใช้เวลา 25-28 วัน เข้าสู่ดักแด้ใช้เวลา 5-7 วัน จากนั้นฟักเป็นตัวเต็มวัยออกมาจากเมล็ดข้าว หลังจากนั้นจะทำลายทำให้เมล็ดพันธุ์ข้าวเกิดความเสียหายทั้งคุณภาพและปริมาณ การสูญเสียน้ำหนักของผลผลิต ไม่สามารถนำเมล็ดพันธุ์ไปใช้ประโยชน์ได้อีก (Nualvatna *et al.*, 2005) จากรายงานการวิจัยของ Togola *et al.* (2013) ด้วงงวงข้าวเป็นสาเหตุในการทำลายข้าวให้สูญเสียน้ำหนัก 5.47% หลังจากระยะเวลา 6 เดือน นอกจากนั้นยังส่งผลต่อคุณภาพของสารอาหารในเมล็ดข้าว และจากรายงานการวิจัยของ Kamara *et al.* (2014) ด้วงงวงข้าวเป็นสาเหตุสำคัญในการทำลายการส่งออกข้าวในประเทศเซียร์ราลีโอน (Sierra Leone) โดยมีการปนเปื้อนแมลงในเมล็ดข้าวสร้างความเสียหายและเสียชื่อเสียงเป็นอย่างมาก

การป้องกันกำจัดส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมใช้วิธีการรมสาร (fumigation) สารเคมีที่นิยมใช้ในการรมมีหลายชนิด เช่น เมทิลโบรไมด์ (methyl bromide) และฟอสฟีน (phosphine) (สารเมทิลโบรไมด์ถูกยกเลิกใช้ในแถบประเทศยุโรปและในประเทศที่กำลังพัฒนา) (Rajendran, 2001; Colin *et al.*, 2005; Singh and Sharma, 2015) เนื่องจากเป็นวิธีการที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยอาศัยคุณสมบัติของก๊าซที่แทรกซึมทะลุผ่านเข้าไปข้างในกองผลผลิตข้าว สามารถป้องกันกำจัดแมลงได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต เหมาะกับข้าวที่มีปริมาณมาก ๆ (Aulicky and Stejskal, 2015) แต่มีข้อเสียคือเมื่อสิ้นสุดการรม แมลงสามารถกลับเข้ามาทำลายผลผลิตได้อีก จึงต้องมีการรมซ้ำเป็นระยะเวลา 2-3 เดือน ซึ่งอาจจะไปมีผลทำให้แมลงสร้างความต้านทานได้ (Pimentel *et al.*, 2008) จากรายงานการวิจัยของ Nguyen *et al.* (2015) รายงานว่าด้วงวงข้าวสร้างความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนโดยค่า LC_{50} มีค่า 52 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนั้นยังสามารถถ่ายทอดยีนไปสู่ยุงรุ่นลูกหลาน และการใช้ฟอสฟีนในระดับความเข้มข้นที่สูงอาจจะส่งผลกระทบต่อการออกของเมล็ดพันธุ์ (Salama *et al.*, 2016)

สารสกัดจากพืช (plant extract) เป็นวิธีการหนึ่งในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เนื่องจากสารสกัดจากพืชเนื่องจากพืชผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ขึ้นมาป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช (Adeyemi, 2011) สารทุติยภูมิที่พืชผลิตขึ้นมาได้แก่ phenolics, terpenes, steroids, alkaloids, flavanoids, coumarins และ stilbenes (Tiware and Rana, 2015) นอกจากนี้ Azad *et al.* (2012) พบว่าสารสกัดจากพืชมีคุณสมบัติในการเป็นสารฆ่า (insecticidal) สารไล่ (repellent) สารยับยั้งการกิน (anti-feedant) สารยับยั้งการวางไข่ (anti-oviposition) และสารยับยั้งการเจริญเติบโต (growth inhibitory) เครื่องเทศสมุนไพร (fever vine) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Paederia linearis* Hook.f. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae เป็นพืชเถาเลื้อยมีขนสีขาวปกคลุมใบเรียงตรงข้าม ใบผอมยาวปลายใบแหลม ดอกมีลักษณะเป็นช่อแบบกลุ่มย่อยออกตามง่ามใบและมีเอกลักษณ์คือมีกลิ่นเหม็น (Chaiyarat, 2017) การวิจัย

ครั้งนี้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากเครื่องเทศสมุนไพรในการเป็นสารไล่ สารฆ่า และสารยับยั้งการออกลูกหลานของด้วงวงข้าว เพื่อเป็นแนวทางในการบริหารจัดการด้วงวงข้าวและนำมาประยุกต์ใช้ทดแทนสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชและที่สำคัญเป็นการนำเอาพืชที่ขึ้นอยู่ข้างทางมาใช้ให้เกิดคุณค่าและประโยชน์สูงสุดต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างแมลง

เก็บตัวอย่างด้วงวงข้าวจากโรงสีใน จ.ปทุมธานี มาเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนแมลงในห้องปฏิบัติการชีววิทยาที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ข้าวกล้องหอมมะลิเลี้ยงเป็นอาหารสำหรับแมลง โดยใส่ตัวเต็มวัยของด้วงวงข้าวจำนวน 300 ตัว ลงในขวดแก้วที่บรรจุข้าวกล้องปริมาณ 250 กรัม ทั้งไว้ประมาณ 7-10 วัน นำตัวเต็มวัยของด้วงวงข้าวออก ข้าวกล้องถูกตัวเต็มวัยของด้วงวงข้าววางไข่และพัฒนาเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยรุ่นที่ 1 (F1) ใช้ตัวเต็มวัยอายุประมาณ 7 วัน เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมสารสกัดจากเครื่องเทศสมุนไพร

นำเครื่องเทศสมุนไพร (Figure 1) ที่เก็บจากข้างทาง ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี มาล้างน้ำกลั่นให้สะอาด ผึ่งให้แห้งแล้วนำมาหั่นให้ละเอียด นำไปสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extractor) โดยใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย นำเครื่องเทศสมุนไพรบรรจุในท่อแก้วสำหรับบรรจุของแข็งที่ต้องการสกัด (thimble) โดยใช้เครื่องเทศสมุนไพร 100 กรัมต่อเอทานอล 800 มิลลิลิตร (1:8 w/v) นำไปสกัดด้วยเครื่องสกัดสารแบบ Soxhlet (Soxhlet apparatus) สกัดวันละ 8 ชั่วโมงเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำมารองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) นำไปเก็บในขวดสีชาแล้วนำไปแช่แข็งในตู้เย็นเพื่อใช้ทดสอบขั้นต่อไป

Figure 1. Fever vine, *Paederia linearis* Hook.f.

การทดสอบผลของสารสกัดจากเครื่องเทศหอมตะมาในการเป็นสารไล่

นำสารสกัดจากเครื่องเทศหอมตะมาที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 8% ทดสอบแบบมีทางเลือกในจานแก้ว (Petri-dish choice bioassay) ใช้วิธี impregnated filter paper test โดยตัดกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman® เบอร์ 1) เส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ออกเป็น 2 ส่วนเท่า ๆ กัน ซีกหนึ่งหยดสกัดจากเครื่องเทศหอมตะมาในแต่ละความเข้มข้นจำนวน 1 มิลลิลิตร ส่วนอีกซีกหนึ่งหยดตัวทำละลายคือเอทานอลจำนวน 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง นำ 2 ส่วนมาประกบเข้าด้วยกัน วางในจานแก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร และนำตัวเต็มวัยของด้วงวงข้าวอายุ 7 วัน ใส่ลงตรงกลางจานแก้ว แต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 5 ซ้ำ ทำซ้ำละ 10 ตัว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) นำจานแก้ววางในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ นับจำนวนด้วงวงข้าวที่พบบนแต่ละซีกของกระดาษกรองและเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การไล่ (Percentage repellency) $PR (\%) = [(Nc - Nt)/(Nc + Nt)] \times 100$ โดย Nc = จำนวนของแมลงที่อยู่บนกระดาษกรองส่วนที่หยดเอทานอลซึ่งเป็นชุดควบคุม (control) Nt = จำนวนของแมลงที่อยู่บนกระดาษกรองส่วนที่หยดน้ำมันหอมระเหย

การทดสอบผลของสารสกัดจากเครื่องเทศหอมตะมาในการเป็นสารฆ่า

หยดสารสกัดจากเครื่องเทศหอมตะมาที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 8% ลงบนกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 ฝั่งกระดาษกรองที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 5 นาที จนกระดาษกรองแห้ง นำไปวางลงใน

จานแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ใส่ข้าวกล้องหอมมะลิลงไปในจานแก้วจำนวน 10 เมล็ดต่อข้าวปล่อยตัวเต็มวัยของด้วงวงข้าวจำนวน 10 ตัว ปิดฝา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์และใช้เอทานอลเป็นชุดควบคุม นำจานแก้ววางในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ บันทึกอัตราการตายของแมลง เมื่อเวลาผ่านไป 24 และ 48 ชั่วโมง (ทำการทดลองความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ)

การทดสอบผลของสารสกัดจากเครื่องเทศหอมตะมาในการเป็นสารยับยั้งการออกลูกหลาน

นำข้าวกล้องหอมมะลิ 50 กรัม แช่ในสารสกัดจากเครื่องเทศหอมตะมาที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 8% ประมาณ 3 นาที แล้วนำมาผึ่งลมให้แห้ง ใส่ลงในขวดแก้ว ปล่อยด้วงวงข้าวเพศผู้และเพศเมียอายุ 7 วัน จำนวน 5 คู่ การแยกเพศผู้และเพศเมียของด้วงวงข้าวอ้างอิงจาก Flay (2010) ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ โดยที่เพศผู้บริเวณงวง (rostrum) สั้นและขรุขระ เพศเมียบริเวณงวงยาวเรียบและเรียบไม่ขรุขระ ปิดด้วยผ้าขาวบางและรัดด้วยยางรัดทิ้งไว้ประมาณ 7-10 วัน ด้วงวงข้าวจะผสมพันธุ์และวางไข่ แต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 5 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ หลังจากนั้นนำด้วงวงข้าวออกจากขวดเลี้ยงแมลง นำไปวางไว้ชั้นเลี้ยงแมลงที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ บันทึกจำนวนและระยะเวลาในการเจริญเติบโตของด้วงวงข้าว เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

$$\begin{array}{l} \text{\%การยับยั้ง} \\ \text{การออก} \\ \text{ลูกหลาน} \\ \text{(PD)} \end{array} = \frac{\begin{array}{l} \text{จำนวนตัวเต็มวัยในชุดควบคุม} - \\ \text{จำนวนตัวเต็มวัยในชุดทดลอง} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{จำนวนตัวเต็มวัยในชุดควบคุม} \end{array}} \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่า นำข้อมูลที่ได้มาหาเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) ดังสูตร อัตราการตายที่แท้จริง = $(A-B) \times 100 / (100-B) \times A$ = อัตราการตายของกลุ่มทดลอง B = อัตราการตายของกลุ่มควบคุม การวิเคราะห์ข้อมูลใช้ ANOVA และ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์ค่า median lethal concentration (LC₅₀) โดยวิธี Probit analysis (Finney, 1971)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบผลของสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมาในการเป็นสารไล่

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมาที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 8% ในการเป็นสารไล่ด้วงวงข้าว พบว่าสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมามีผลต่อการไล่ด้วงวงข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมาสูงขึ้นมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การไล่ด้วงวงข้าวเพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5% ผลเปอร์เซ็นต์การไล่ด้วงวงข้าวเป็นลบ เนื่องจากความเข้มข้นต่ำเกินไปไม่มีผลต่อด้วงวงข้าว ที่ความเข้มข้น 8% ของสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมามีเปอร์เซ็นต์การไล่

ด้วงวงข้าวสูงสุด ในช่วงเวลาที่ 12 มีผลต่อการไล่ด้วงวงข้าวเฉลี่ย 9.60 ± 0.48 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การไล่ 92% ในช่วงเวลาที่ 24 ผลต่อการไล่ด้วงวงข้าวเฉลี่ย 10.00 ± 0.00 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การไล่ 100% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมไม่มีผลต่อการไล่ด้วงวงข้าว (Table 1) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yankanchi *et al.* (2014) ศึกษาผลของสารสกัดจากใบอัครีทวาร (*Clerodendrum serratum* L.) ในการเป็นสารไล่ด้วงวงข้าว พบว่าที่ความเข้มข้น 0.503 mg/cm^2 มีเปอร์เซ็นต์การไล่สูงสุดเท่ากับ 97% ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่เวลา 1, 2, 4, 8 และ 16 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การไล่อยู่ในช่วง 70-90% จากการวิจัยของ Ribeiro and Vendramim (2017) อธิบายว่าบริเวณปลายหนวดของด้วงวงข้าวโพดมีเซลล์ประสาทรับสัมผัสทางเคมี (chemosensilla) ในการรับกลิ่น ซึ่งตอบสนองต่อกลิ่นเหม็นฉุนของพืชทำให้ด้วงวงข้าวโพดเกิดความสับสนและถอยหนีออกไป Ali *et al.* (2015) อธิบายว่าบริเวณปลายหนวดและขา มีขนเล็ก ๆ (sensilla) ทำหน้าที่รับความรู้สึกทางเคมี (กลิ่น) ซึ่งมีรูปแบบไม่เหมือนกันในแต่ละชนิดของแมลง

ผลการทดสอบผลของสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมาในการเป็นสารฆ่า

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมาที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 8% ในการเป็นสารฆ่าด้วงวงข้าว พบว่าสารสกัดจากเครือตดหนูตดหมามีผลต่อการฆ่าด้วงวงข้าว

Table 1. Effect of extract from fever vine as the repellent on rice weevil at 12 and 24 hours

Concentration (%) (w/v)	Duration of exposure			
	Number and percent repellent of <i>Sitophilus oryzae</i> (adult)			
	12 h	Repellent (%)	24 h	Repellent (%)
0.0	0.00 ± 0.00 ^c	0.0	0.00 ± 0.00 ^c	0.0
0.25	4.40 ± 0.48 ^b	-12.0	5.40 ± 0.48 ^{ab}	8.0
0.5	4.60 ± 0.48 ^b	-8.0	6.40 ± 0.80 ^{ab}	28.0
1.0	6.20 ± 0.40 ^{ab}	24.0	7.80 ± 0.40 ^{ab}	56.0
2.0	7.40 ± 0.48 ^{ab}	38.0	8.80 ± 0.40 ^a	76.0
4.0	8.20 ± 0.74 ^a	64.0	9.80 ± 0.40 ^a	96.0
8.0	9.60 ± 0.48 ^a	92.0	10.00 ± 0.00 ^a	100.0

* Mean values in the same column with the same letter do not differ significantly ($P < 0.05$ according to DMRT)

มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเครื่องเทศหอมสูงขึ้นไปจะมีผลทำให้อัตราการตายของด้วงงวงข้าวสูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 8% มีอัตราการตายของด้วงงวงข้าวสูงสุด 100% ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 1.62 และ 0.89% ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 ในชั่วโมงที่ 24 มีเปอร์เซ็นต์การตายของด้วงงวงข้าว 4.0, 28.0, 36.0, 72.0 และ 80.0% ตามลำดับ และในชั่วโมงที่ 48 มีเปอร์เซ็นต์การตายของด้วงงวงข้าว 28.0, 38.0, 56.0, 88.0 และ 94.0% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ไม่มีอัตราการตายของด้วงงวงข้าว (Table 2) สอดคล้องกับการวิจัยของ Wuttiwong *et al.* (2016) น้ำมันกานพลูสามารถฆ่าด้วงงวงข้าวโพดได้ดีที่สุดมีค่า LC_{50} ต่ำสุดเท่ากับ 10.10 μ L/L และจากการวิจัยของ Hamza *et al.* (2016) อธิบายว่าด้วงงวงได้รับสารพิษจากพืชโดยสัมผัสผ่านเข้าข้อต่อทางเยื่อเมมเบรน และทางรูหายใจ ซึ่งสารพิษจากพืชจะมีผลในการยับยั้งการทำงานของไทโอน เอส ทรานเฟอเรส (glutathione S-transferases) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการกำจัดสารพิษของแมลง ส่งผลให้แมลงตายในที่สุด Hussein *et al.* (2017) อธิบายว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชสูงขึ้น ส่งผลทำให้การตายของแมลงสูงขึ้น ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำ ยังไม่ส่งผลต่อการตายของแมลงเนื่องจากพืชยังไม่สามารถเข้าทำลายในระบบประสาทของแมลง

ผลการทดสอบผลของสารสกัดจากเครื่องเทศหอมในการเป็นสารยับยั้งการออกลูกหลาน

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเครื่องเทศหอมที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 8% ในการเป็นสารยับยั้งการออกลูกหลานของด้วงงวงข้าว พบว่าสารสกัดจากเครื่องเทศหอมมีผลต่อการยับยั้งการออกลูกหลานและระยะเวลาในการเจริญเติบโตของด้วงงวงข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเครื่องเทศหอมสูงขึ้นไปจะมีผลต่อการยับยั้งการออกลูกหลานและระยะเวลาในการเจริญเติบโตยาวนานขึ้น ที่ความเข้มข้น 8% มีจำนวนตัวเต็มวัยเท่ากับ 0.40 ± 0.48 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการออกลูกหลาน 98.84% ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเท่ากับ 52.20 ± 1.72 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมมีจำนวนตัวเต็มวัยเท่ากับ 34.60 ± 3.55 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการออกลูกหลาน 0.0% ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเท่ากับ 29.60 ± 0.74 วัน (Table 3) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Soujanya *et al.* (2018) ทำการศึกษาสารสกัดจากพืช *Strychnos nuxvomica* และ *Lepidium sativum* ในการยับยั้งการฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของด้วงงวงข้าว พบว่าสารสกัดจากพืช *S. nuxvomica* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของด้วงงวงข้าวเท่ากับ 96.3% ในขณะที่สารสกัดจากพืช *L. sativum* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย Hexane

Table 2. Insecticidal effect of fever vine extract on rice weevil at 24 and 48 hours

Concentration (%) (w/v)	Duration of exposure			
	Number and percent mortality of <i>Sitophilus oryzae</i> (adult)			
	24 h	Mortality (%)	48 h	Mortality (%)
0	0.00 ± 0.00 ^d	0.0	0.00 ± 0.00 ^d	0.0
0.25	0.40 ± 0.48 ^d	4.0	2.80 ± 0.40 ^{bc}	28.0
0.5	2.80 ± 0.48 ^c	28.0	3.80 ± 0.48 ^b	38.0
1.0	3.60 ± 0.48 ^c	36.0	5.60 ± 0.48 ^b	56.0
2.0	7.20 ± 0.40 ^{ab}	72.0	8.80 ± 0.80 ^a	88.0
4.0	8.00 ± 0.63 ^{ab}	80.0	9.40 ± 0.48 ^a	94.0
8.0	10.00 ± 0.00 ^a	100.0	10.00 ± 0.00 ^a	100.0

* Mean values in the same column with the same letter do not differ significantly ($P < 0.05$ according to DMRT)

Table 3. Effect of extract form fever vine as the progeny deterrent on rice weevil using residual efficacy examination

Concentration (%) (w/v)	Duration of exposure		
	Number and percent progeny deterrent of rice weevil (adults)		
	Number of rice weevil (adults)	Time of development (days)	Progeny deterrent (%)
0	34.60 ± 3.55 ^g	29.60 ± 0.74 ^d	0.0
0.25	22.60 ± 1.01 ^f	34.80 ± 1.01 ^c	34.68
0.5	16.20 ± 1.46 ^{de}	36.20 ± 0.74 ^c	53.17
1.0	13.00 ± 1.09 ^d	38.80 ± 0.74 ^c	62.42
2.0	7.80 ± 1.46 ^c	42.20 ± 1.16 ^b	77.45
4.0	2.80 ± 0.74 ^{ab}	44.40 ± 1.62 ^b	91.90
8.0	0.40 ± 0.48 ^a	52.20 ± 1.72 ^a	98.84

* Mean values in the same column with the same letter do not differ significantly ($P < 0.05$ according to DMRT)

มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของด้วงงวงข้าวเท่ากับ 95.3% และจากการวิจัยของ Rotimi and Evbuomwan (2012) ทำการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้ม (citrus peel) สายพันธุ์ *Citrus tangerina*, *C. limonium*, *C. paradisi*, *C. aurantifolia* และ *C. sinensis* ในการยับยั้งการฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของด้วงงวงข้าว พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มสายพันธุ์ *C. paradisi* และ *C. sinensis* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการฟักเป็นตัวเต็มวัยเท่ากับ 89 และ 98% ทั้งนี้ประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชขึ้นกับหลายปัจจัยเช่นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในพืชที่นำมาสกัด ความอ่อนแอของแมลง ระยะเวลาก่อนนำไปใช้ ดังนั้นการนำสารสกัดจากพืชมาพัฒนาใช้เพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บจึงจำเป็นต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพหลังจากการใช้สารด้วยเช่นกัน

สรุป

สารสกัดจากเครื่องตดหมามีประสิทธิภาพในการเป็นสารไล่ สารฆ่า และสารยับยั้งการออกลูกหลานของด้วงงวงข้าว โดยที่ความเข้มข้น 8% มีประสิทธิภาพใน

การเป็นสารไล่ สารฆ่า และสารยับยั้งการออกลูกหลานของด้วงงวงข้าวสูงสุด คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การไล่ 92 และ 100% ที่เวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และมีอัตราการตายของด้วงงวงข้าวสูงสุด 100% ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 1.62 และ 0.89% ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ ในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโต คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการออกลูกหลาน 98.84% ซึ่งในงานวิจัยครั้งต่อไปจะทำการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากเครื่องตดหมา และทำการทดสอบในพื้นที่จริงในโรงสีของเกษตรกร และนำสารสกัดจากเครื่องตดหมามาพัฒนาในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมให้กับสภาพพื้นที่จริงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ขอขอบคุณคณาจารย์และบุคลากรห้องปฏิบัติการชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้อุปกรณ์และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Abbott, W.S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18(2): 265-267.
- Adeyemi, M.M.H. 2011. The potential of secondary metabolites in plant material as deterrents against insect pests: A review. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* 4(11): 243-246.
- Ali, S.A.I., M.M. Diakite, S. Ali and M.Q. Wang. 2015. Understanding insect behaviors and olfactory signal transduction. *Enliven: Journal of Genetic, Molecular and Cellular Biology* 2(2): 004, doi: 10.18650/2379-5700.22004.
- Aulicky, R. and V. Stejskal. 2015. Efficacy and limitations of phosphine "spot-fumigation" against five Coleoptera species of stored product pests in wheat in a grain store – short note. *Plant Protection Science* 51(1): 33-38.
- Azad, M.A.K., M.N. Yesmin and M.S. Islam. 2012. Effect of botanical extract on pest control in brinjal field. *Journal of Environmental Science and Natural Resources* 5(2): 173-176.
- Chaiyarat, A. 2017. Fever vine, grass and medicine. (Online). Available: https://www.technologychaoban.com/folkways/article_10025 (December 1, 2018). (in Thai)
- Colin, A.C., J.A. Chalfant, R.E. Goodhue, F.M. Han and M. DeSantis. 2005. The methyl bromide ban: economic impacts on the California strawberry industry. *Review of Agricultural Economics* 27(2): 181-197.
- Finney, D.J. 1971. *Probit Analysis*. 3rd ed. Cambridge University Press, London.
- Flay, C.D. 2010. Multiple mating and mate choice in *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). M.S. Thesis. Massey University, Palmerston North, New Zealand. 83 p.
- Hamza, A.F., M.N. El-Orabi, O.H. Gharieb, A.H.A. El-Saeedy and A.R.E. Hussein. 2016. Response of *Sitophilus granarius* L. to fumigant toxicity of some plant volatile oils. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 9(1): 8-14.
- Hussein, A.E., H. Abd Elhaseeb, R.A. Mohamed, M. Abdel-Mogib and Z. Abou Elnaga. 2017. Toxicity of three chemical extracts of black pepper fruits against two stored grain insect pests. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* 6(10): 20-29.
- Kamara, J.S., S.M. Kanteh, S.M. Bockari-Gevao and S. Jalloh. 2014. Infestation, population density and sterilization effects on rice weevils (*Sitophilus oryzae* L.) in stored milled rice grains in Sierra Leone. *International Journal of Agriculture and Forestry* 4(1): 19-23.
- Nguyen, T.T., P.J. Collins and P.R. Ebert. 2015. Inheritance and characterization of strong resistance to phosphine in *Sitophilus oryzae* (L.). *PLoS ONE* 10(4): e0124335. doi: 10.1371/journal.pone.0124335.
- Nualvatna, K., P. Visarathanonth, B. Chankaewmanee, J. Uraichuen, R. Kengkanpanich, K. Pengkum and J. Tongpan. 2005. Insect pests of paddy rice and control. *Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok*. 81 p. (in Thai)

- Pimentel, M.A.G., L.R.A. Faroni, M.D. Batista and F.H. da Silva. 2008. Resistance of stored-product insects to phosphine. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43(12): 1671-1676.
- Rajendran, S. 2001. Alternatives to methyl bromide as fumigants for stored food commodities. *Pesticide Outlook* 12(6): 249-253.
- Ribeiro, L.P. and J.D. Vendramim. 2017. Effect of organic plant extracts on behavior of *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) adults. *Brazilian Journal of Agriculture* 92(2): 186-197.
- Rotimi, J and C.O. Evbuomwan. 2012. Deterrent effects of citrus peel oils on oviposition and adult emergence of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Advances in Applied Science Research* 3(6): 3545-3550.
- Salama, A.M.A., A.T. El-Kassaby, S.A. EL-Moursy, M.H. Ghonema and N.M.E. Ramadan. 2016. Effect of storage methods and fumigation with phosphine on storage efficacy, germination and seedlings parameters of wheat during storage periods. *Journal of Plant Production, Mansoura University* 7(7): 727-732.
- Singh, G. and R.K. Sharma. 2015. Alternatives to phosphine fumigation of stored grains: The Indian perspective. *Himachal Journal of Agricultural Research* 41(2): 104-113.
- Soujanya, P.L., J.C. Sekhar, V. Vidhyadhari, S.B. Suby and V. Mahajan. 2018. Repellent and reproductive inhibitory effects of *Strychnos nuxvomica* L. and *Lepidium sativum* L. against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Indian Journal of Entomology* 80(3): 586-591.
- Tiwari, R. and C.S. Rana. 2015. Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science* 3(5): 661-670.
- Togola, A., P.A. Seck, I.A. Glitho, A. Diagne, C. Adda, T. Toure and F.E. Nwilene. 2013. Economic losses from insect pest infestation on rice stored on-farm in Benin. *Journal of Applied Sciences* 13(2): 278-285.
- Visarathanonth, P., K. Nualvatna, B. Chankaewmanee, J. Uraichuen, R. Kengkanpanich, K. Pengkum, J. Tongpan, D. Suthisut, L. Romyen and P. Noochanapai. 2005. Stored pest insect and control. *Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok*. 150 p. (in Thai)
- Wuttiwong, K., A. Ngampongsai and Y. Chanbang. 2016. Toxicity of some plant oils against maize weevil (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). *Songklanakarin Journal of Plant Science* 3(Suppl). (III): 84-90. (in Thai)
- Yankanchi, S.R., A.D. Jadhav and P.M. Patil. 2014. Insecticidal and repellent activities of *Clerodendrum serratum* L. leaf extract against rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *Asian Journal of Biological and Life Sciences* 3(1): 34-39.

ความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบยีน *cGH* และ *IGF-1* กับน้ำหนักตัวและการเจริญเติบโตของไก่ไข่มุกอีสาน 2

Association Between *cGH* and *IGF-1* Genotypes Patterns and Body Weight and Growth of Khai Mook Esarn 2 Chicken

อนุวัฒน์ จันตามุก บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ และ สจี กันหาเรียง*
Anuwat Jandamook, Banyat Laopaiboon and Sajee Kunhareang*

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

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

(Received: 23 August 2019; Accepted: 13 February 2020)

Abstract: Chicken growth hormone (*cGH*) and insulin-like growth factor (*IGF-I*) have a crucial role for regulating of growth in chickens, which improvements of genetic variation of growth might result in an increase of productive performance in chickens. The objective of this study was to investigate genetic variation in *cGH* and *IGF-1* gene and evaluate associations between genotypes of these genes, and body weight and growth traits of Khai Mook Esarn 2 (KME2) chickens. A total of 318 chickens were collected from the 5th generation of KME2. Genetic variation of *cGH* and *IGF-1* genes was genotyped by PCR-RFLP method, and an association analysis was performed by Proc GLM. In the study population, the genotypic frequency of *cGH/EcoRV* by SNP region in Chr.27 (G>A +1705 Intron3) was 0.101 for AA, 0.550 for AG and 0.349 for GG. While the genotype frequency of the *IGF-1/HinfI* by SNP region in Chr.1 (A>C 5'UTR) was 0.160 for AA, 0.591 for AC and 0.248 for CC. The association analysis revealed association between variations of *IGF-1/HinfI* and body weight in KME2. The AC genotypic group had the highest birth weight (41.39 ± 0.44 g) compared to those in the AA (39.70 ± 0.51 g) and CC (40.49 ± 0.29 g) ($P < 0.05$). In addition, the AC genotype tended to have the highest body weight at 10 weeks ($P < 0.1$), but there was no association between *IGF-1/HinfI* genotypes and the average daily gain at 4 weeks, breast width and breast circumference. Meanwhile, there was no association among genotypes of *cGH/EcoRV* and body weight, average daily gain, breast width and breast circumference ($P > 0.05$) of KME2. These findings suggested that variation in *IGF-1/HinfI* could potentially be useful as genetic marker for improving body weight of KME2 chickens.

Keywords: Genetic marker, birth weight, growth performance

บทคัดย่อ: ฮอร์โมนการเจริญเติบโตในไก่ (chicken growth hormone, cGH) และฮอร์โมน insulin-like growth factor (IGF-I) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ร่างกายที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตในไก่ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ตรวจสอบรูปแบบของยีน cGH และ IGF-1 และความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนต่อน้ำหนักตัวและลักษณะการเจริญเติบโตในไก่ไข่มุกอีสาน 2 ช่วงวันที่ 5 จำนวน 318 ตัวอย่าง หาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน cGH และ IGF-1 โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP วิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ Proc GLM ผลการศึกษาพบประชากรที่ศึกษาที่มีความถี่จีโนไทป์ของยีน cGH/EcoRV ตำแหน่ง SNP ใน Chr.27 (G>A +1705 Intron3) คือ 0.101 สำหรับ AA, 0.550 สำหรับ AG และ 0.349 สำหรับ GG ขณะที่ความถี่จีโนไทป์ของยีน IGF-1/HinfI ตำแหน่ง SNP ใน Chr.1 (A>C 5'UTR) คือ 0.160 สำหรับ AA, 0.591 สำหรับ AC และ 0.248 สำหรับ CC การวิเคราะห์ความสัมพันธ์พบว่าความสัมพันธ์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน IGF-1/HinfI กับน้ำหนักตัวในไก่ไข่มุกอีสาน 2 กลุ่มไก่ที่มีจีโนไทป์ AC มีน้ำหนักแรกเกิดเฉลี่ยสูงสุด (41.39 ± 0.44 กรัม) เมื่อเทียบในกลุ่มจีโนไทป์ AA (39.70 ± 0.51 กรัม) และ CC (40.49 ± 0.29 กรัม) ($P < 0.05$) นอกจากนี้จีโนไทป์ AC มีแนวโน้มที่จะมีน้ำหนักตัวสูงสุดที่ 10 สัปดาห์ ($P < 0.1$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของยีน IGF-1/HinfI กับอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันที่ 4 สัปดาห์, ความกว้างอก และรอบอก ในขณะที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของยีน cGH/EcoRV กับน้ำหนักตัว, อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันที่ 4 สัปดาห์, ความกว้างอก และรอบอก ($P > 0.05$) ของไก่ไข่มุกอีสาน 2 การค้นพบเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่ารูปแบบจีโนไทป์ของยีน IGF-1/HinfI น่าจะมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมสำหรับการปรับปรุงน้ำหนักตัวของไก่ไข่มุกอีสาน 2 ต่อไป

คำสำคัญ: เครื่องหมายพันธุกรรม น้ำหนักแรกเกิด ประสิทธิภาพการเติบโต

คำนำ

ไก่พื้นเมืองเป็นไก่ที่นิยมบริโภคอย่างมากในประเทศไทย และเป็นที่ต้องการของตลาด โดยทั่วไปไก่พื้นเมือง มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ ที่อายุ 16 สัปดาห์ มีน้ำหนักประมาณ 1.6 กิโลกรัม (Na Rungsri *et al.*, 2007) ส่งผลให้เกษตรกรต้องเพิ่มต้นทุนด้านอาหารยารักษาโรค และใช้เวลานานในการเลี้ยงเพื่อขาย จึงยังเป็นข้อจำกัดในการพัฒนาการเลี้ยงไก่พันธุ์พื้นเมืองในเชิงธุรกิจ ทั้งนี้เพราะไก่พื้นเมืองมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ ซึ่งเป็นข้อจำกัดในด้านผลผลิตที่สำคัญของไก่พื้นเมือง (Peawong *et al.*, 2010) เพื่อพัฒนาศักยภาพทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทยให้มีอัตราการเจริญเติบโตที่มีระยะเวลาส่งขายตลาดที่สั้นลง ศูนย์เครือข่ายวิจัยและการพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) จึงมีการพัฒนาพันธุ์ไก่ไทยคือ ไก่ไข่มุกอีสานเคเคยู 50 ที่มีระดับสายเลือดไก่พันธุ์พื้นเมือง 50% และไก่กึ่งไข่กึ่งเนื้อเชิงการค้า 50% พบว่า ไก่ไข่มุกอีสานเคเคยู 50 มีลักษณะการเจริญเติบโตที่มีน้ำหนักเมื่อให้ไข่ฟองแรกเฉลี่ย 2,124 กรัม น้ำหนักไข่ฟองแรก 38 กรัม ไข่สะสม 365 วัน จำนวน

ไข่ 200 ฟอง สามารถเลี้ยงในโรงเรือนระบบเปิดและสามารถกินอาหารตามธรรมชาติได้ โดยลักษณะภายนอกของไก่ไข่มุกอีสานเคเคยู 50 มีขนสีขาว และแข้งสีเหลือง (Laopaiboon, 2018) สามารถเลี้ยงในโรงเรือนระบบเปิดและกินอาหารตามธรรมชาติได้ ลักษณะภายนอกของไก่ไข่มุกอีสานเคเคยู 50 มีขนสีขาว และแข้งสีเหลืองจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นแม่พันธุ์เพื่อผลิตไก่ลูกผสมที่มีระดับสายเลือดไก่พื้นเมือง 25% (Nguyen *et al.*, 2015)

การพัฒนาพันธุ์ไก่ไข่มุกอีสาน 2 ศูนย์เครือข่ายวิจัยและการพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) ได้เห็นความสำคัญในการใช้ประโยชน์แม่พันธุ์ไก่ไข่มุกอีสานเคเคยู 50 มีการพัฒนาพันธุ์ไก่พื้นเมืองลูกผสมขึ้น จากการนำแม่พันธุ์ไก่ไข่มุกอีสานเคเคยู 50 ผสมพันธุ์กับพ่อพันธุ์ไก่เนื้อเชิงการค้า จากนั้นคัดเลือกและผสมภายในรุ่น (Inter se) ปัจจุบันเรียกไก่พื้นเมืองลูกผสมนี้ว่า “ไก่ไข่มุกอีสาน 2” ไก่ไข่มุกอีสาน 2 มีระดับสายเลือดไก่พื้นเมือง 25% และไก่เชิงการค้า 75% มีลักษณะเด่นคือ มีกรดยูริคต่ำเพียง 1.91 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าไก่เนื้อทางการค้า เหมาะสำหรับการทำไก่ย่างหรือไก่ทอด (Laopaiboon, 2018) และมีอัตราการ

เจริญเติบโตที่ดีหากเลี้ยงด้วยอาหารไก่เนื้อทางการค้าจะมีน้ำหนักเมื่ออายุ 10 สัปดาห์ 2677.69 ± 288.48 กรัม (Nguyen *et al.*, 2015) อีกทั้งอุตสาหกรรมการผลิตไก่พื้นเมืองลูกผสมในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ (Jaturasitha *et al.*, 2008) ดังนั้น ไก่ไข่มุกอีสาน 2 จึงมีโอกาสนในการพัฒนาพันธุ์สู่การเลี้ยงไก่พื้นเมืองลูกผสมในเชิงธุรกิจ การปรับปรุงพันธุ์มีเป้าหมายเพื่อพัฒนาเป็นไก่พ่อแม่พันธุ์เพื่อผลิตไก่พื้นเมืองลูกผสมในอนาคต มุ่งเน้นการพัฒนาลักษณะการเจริญเติบโตให้สูงขึ้น

ด้วยเหตุนี้การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ไก่ไข่มุกอีสาน 2 ให้มีการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นจำเป็นต้องมีความแม่นยำการใช้ความรู้ด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลเพื่อช่วยในการคัดเลือกและเพิ่มความแม่นยำมากขึ้น (Dekkers, 2004) จากการตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้องพบว่า ยีนที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโต ประกอบด้วย ยีน growth hormone (GH) ทำหน้าที่กระตุ้นให้สัตว์มีการเจริญเติบโตและมีความสำคัญต่อการสร้างกระดูก รวมทั้งการสะสมของไขมันในช่องท้องของไก่ (Yan *et al.*, 2003) และยังพบว่ารูปแบบจีโนไทป์ของยีน cGH มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Nie *et al.*, 2005; Nguyen *et al.*, 2005) ยีน insulin-like growth factors (IGF-I) มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อรวมไปถึงเซลล์กล้ามเนื้อ กระดูก และกระดูกอ่อน อีกทั้งยังพบว่าน้ำหนักไขมันในช่องท้องของไก่ยังได้รับอิทธิพลมาจากความแตกต่างของรูปแบบยีน IGF-I (Zhou *et al.*, 2005) ในไก่สายพันธุ์สังเคราะห์มีรายงานพบรูปแบบของยีน IGF-1 มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักแรกเกิดและน้ำหนักตัว (Promwatee *et al.*, 2013) ดังนั้นการใช้ยีนเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) เข้ามาช่วยในการคัดเลือก เป็นการให้ความสำคัญกับอิทธิพลของยีนและการเข้าคู่กันของอัลลีลของยีนในแต่ละตำแหน่งที่คาดว่าจะมีอิทธิพลต่อลักษณะที่สนใจและจะทำให้การคัดเลือกมีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น (Li and Li, 2006)

ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษารูปแบบของยีน cGH และ IGF-1 ในไก่ไข่มุกอีสาน 2 ช่วงวันที่ 5 และศึกษาความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน cGH

และ IGF-1 กับลักษณะการเจริญเติบโตในไก่ไข่มุกอีสาน 2 เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมในการคัดเลือกไก่พ่อแม่พันธุ์ที่มีลักษณะการเจริญเติบโตที่ดีในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

ไก่ไข่มุกอีสาน 2 ช่วงวันที่ 5 (G5) ทั้งหมด 318 ตัว เพศผู้ 168 ตัว เพศเมีย 150 ตัว โดยแยกเลี้ยงเป็นชุดพักแบ่งออกเป็น 12 ชุดพัก แต่ละชุดพักมีระยะห่างกัน 1 สัปดาห์ เลี้ยงไก่ในโรงเรือนระบบเปิดขนาดคอกย่อย 1.5×3.0 เมตร เลี้ยง 6 ตัวต่อ 1 ตารางเมตร ให้อาหารไก่ไข่ทางการค้าตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ตั้งแต่อายุ 0-10 สัปดาห์ โดยไก่ไข่มุกอีสาน 2 อายุ 0-4 สัปดาห์ ใช้อาหารไก่ไข่ระยะกกไก่มีระดับโปรตีนไม่ต่ำกว่า 19% มีปริมาณพลังงาน 2,970 kcal ME/kg และเมื่ออายุ 5-10 สัปดาห์ ใช้อาหารไก่ไข่ระยะไก่อุ่น มีระดับโปรตีนไม่ต่ำกว่า 15% มีปริมาณพลังงาน 2,900 kcal ME/kg เลี้ยงในพื้นที่โรงเรือนของศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ ข้อมูลน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักตัวที่ 4 และ 10 สัปดาห์, วัดความกว้างของหน้าอกจากโคมี่ชีวิต โดยใช้เวอร์เนีย มาตรฐาน 150 มิลลิเมตร และวัดรอบอกที่ 10 สัปดาห์ โดยใช้สายวัดตัวความยาว 150 เซนติเมตร วัดบริเวณรอบอกไก่เหนือกระดูกอก (keel bone) 3 เซนติเมตรในท่านอนหงาย, อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน 0-4, 0-10 และ 4-10 สัปดาห์

การเก็บตัวอย่างและสกัดดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างเลือดที่เส้นเลือดดำบริเวณใต้ปีกของไก่ไข่มุกอีสาน 2 จำนวน 318 ตัวอย่าง ทั้งประชากรของสัตว์ที่เลี้ยง เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดทดลองขนาด 1.5 ml ที่มีสาร 0.5M EDTA ปริมาณ 100 μ l เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นล้างเซลล์ทั้งหมด ด้วย 0.9% NaCl เซลล์เม็ดเลือดที่ได้จะถูกนำไปสกัดดีเอ็นเอต่อไปตามวิธีของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางสัตว์ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย

ขอนแก่น มีขั้นตอนโดยสรุป คือ แบ่งตัวอย่างเลือด ปริมาณ 30 ml ใส่หลอดทดลอง ขนาด 1.5 ml ล้างด้วย น้ำเกลือ 0.9% NaCl ปริมาตร 1,000 ml จากนั้นนำมาปั่น เหวี่ยง 3,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทส่วนที่เป็น ของเหลวทิ้ง แล้วเติม 5M Guanidine HCl ปริมาตร 625 ml, 20% SDS ปริมาตร 70 ml, 7.5M Na-acetate ปริมาตร 50 ml และ 1% Proteinase K (1mg/ml) ปริมาตร 25 ml ผสมให้สารเข้ากันดี นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 3-6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่น เหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูด สารละลาย ส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม absolute isopropanol ปริมาตร 600 ml กลับหลอดไปมา เพื่อให้ สารเข้ากันดี นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 75% Ethanol ปริมาตร 500 ml นำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เท ส่วนใสทิ้ง (ล้างตะกอนดีเอ็นเอ ซ้ำอีกครั้ง) ผึ่งตะกอนดี เอ็นเอในหลอดทดลองทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จากนั้นเติม TE buffer ปริมาตร 20 ml นำไปอุ่น ใน water bath หรือ heat block ที่อุณหภูมิ 37 องศา เซลเซียส นาน 3-6 ชั่วโมง เพื่อละลายตะกอนดีเอ็นเอ จากนั้นตรวจสอบความเข้มข้นและคุณภาพดีเอ็นเอด้วย เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

การตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ด้วยเทคนิค PCR-RFLP

ดีเอ็นเอที่สกัดได้ถูกนำไปเพิ่มชิ้นส่วนยีนโดยใช้ เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ในแต่ละ ปฏิกริยา PCR ประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ที่มีความเข้มข้น 50 ng/ μ l ปริมาตร 1 μ l, 10X PCR-buffer ปริมาตร 1 μ l, $MgCl_2$ ปริมาตร 0.8 μ l, dNTPs (1.0 mM/each) ปริมาตร 1 μ l, primer forward

และ primer reverse (Table 1) อย่างละปริมาตร 1 μ l, Taq DNA Polymerase ปริมาตร 0.1 μ l และปรับปริมาตร ด้วย sterile water ให้มีปริมาตรรวมทั้งสิ้น 10 μ l โดยมี วงรอบการทำ PCR ดังนี้ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำปฏิกริยา 30 รอบ ดังนี้ denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที annealing (AT) ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน (Table 1) เป็นเวลา 30 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที และ extension ที่ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หลังจาก สิ้นสุดปฏิกริยาการเพิ่มชิ้นส่วนยีนตรวจสอบชิ้นส่วนยีน ด้วย 2% agarose gel จากนั้นนำผลของ PCR ไปตัดด้วย ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Table 1) ตรวจรูปแบบจีโนไทป์ ด้วย 2% agarose gel บันทึกภาพแถบ DNA ที่เกิดขึ้น ภายใตแสงอัลตราไวโอเลต

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SAS V.6.02 (SAS, 1998) เนื่องจากข้อมูลที่ใช้เป็นข้อมูลจริงจากฟาร์ม (field data) จึงต้องตรวจสอบความผิดปกติของข้อมูล น้ำหนักแรกเกิด, 4 และ 10 สัปดาห์ ความกว้างอก และ รอบอกที่ 10 สัปดาห์ หากมีข้อมูลกระจายตัวที่ผิดปกติ พิจารณาตัดข้อมูลออกก่อนนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอน ต่อไปด้วยคำสั่ง PROC UNIVARIATE จากนั้นจึงจะนำ ข้อมูลไปวิเคราะห์โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล โดยใช้ คำสั่ง proc frequency หากความถี่ของรูปแบบจีโนไทป์ ไม่ถึง 4 เปอร์เซนต์ของฝูงถูกตัดออกจากการศึกษา
2. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโน ไทป์ต่อลักษณะการเจริญเติบโต โดยใช้ Proc GLM เพื่อ วิเคราะห์อิทธิพลของรูปแบบของยีน ต่อลักษณะ

Table 1. PCR primers and PCR-RFLP conditions to detect genetic variation of *cGH* and *IGF-1* gene

Gene/ enzyme	Sequence (5' to 3')	Ta (°C)	PCR-RFLP size (bp)	PCR size (bp)	References
<i>cGH/EcoRV</i>	F: 5'TCCCAGGCTGCGTTTTGTTACTC3'	66	296/133	429	Nie <i>et al.</i> , (2005)
Chr.27 G>A +1705 Intron3	R: 5'ACGGGGGTGAGCCAGGACTG3'				
<i>IGF-1/Hinfl</i>	F: 5'CATTGCGCAGGCTCTATCTG3'	60	378/244/191	813	Zhou <i>et al.</i> , (2005)
Chr.1 A>C 5'UTR	R: 5'TCAAGAGAAGCCCTTCAAGC3'				

การเจริญเติบโตได้แก่ น้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักที่อายุ 4 และ 10 สัปดาห์ ความกว้างหน้าอก และขนาดรอบอก ที่อายุ 10 สัปดาห์ และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ในไก่ไข่มุกอีสาน 2 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละลักษณะด้วยวิธี least significant difference โดยใช้โปรแกรม SAS V.6.02 (SAS, 1998) มีหุ่นจำลองทางสถิติคือ $y_{ijk} = \mu + G_i + S_j + H_k + e_{ijk}$ เมื่อ y_{ijk} = ค่าสังเกต (น้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักที่อายุ 4 และ 10 สัปดาห์, ความกว้างหน้าอก และขนาดรอบอก ที่อายุ 10 สัปดาห์, อัตราการเจริญเติบโตต่อวันที่ 0-4, 0-10 และ 4-10 สัปดาห์), μ = overall mean, G_i = อิทธิพลของจีโนไทป์ของยีน cGH และ IGF-1, S_j = (เพศผู้ 168 ตัว เพศเมีย 150 ตัว), H_k = อิทธิพลเนื่องจากชุดฟัก (12 ชุดฟัก ชุดที่ 1-12 มีเพศผู้ = 18, 8, 16, 16, 6, 17, 17, 19, 20, 8, 8, และ 15 ตัวตามลำดับ และเพศเมีย = 19, 16, 14, 16, 5, 10, 13, 20, 11, 1, 10, 15 ตัว ตามลำดับ), e_{ijk} = ความคลาดเคลื่อน

ผลการทดลองและวิจารณ์

ค่าเฉลี่ยของลักษณะการเจริญเติบโต

จากการศึกษาพบว่าไก่ไข่มุกอีสาน 2 ช่วงวันที่ 5 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (body weight, BW), อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG)

ความกว้างหน้าอก (breast width, BrW) และ ขนาดรอบอก (breast circumference, BrC) ในไก่เพศผู้ 168 ตัว และไก่เพศเมีย 150 ตัว ดังแสดงใน (Table 2)

ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล

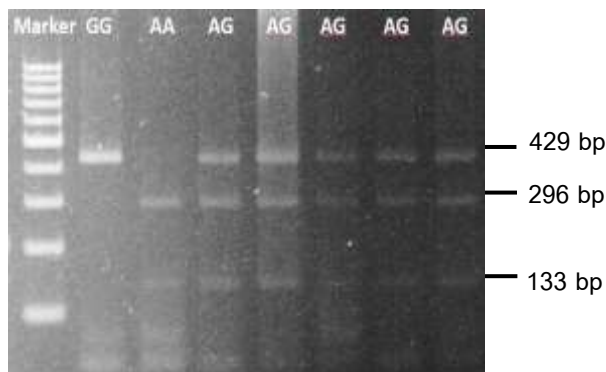
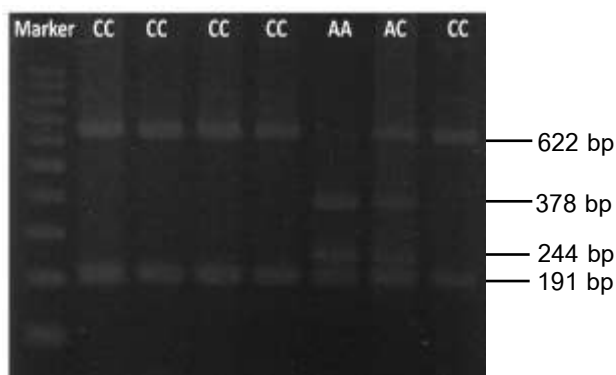
ผลการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน cGH ที่มีตำแหน่ง SNP ใน Chr.27 (G>A +1705 Intron3) และ IGF-1 ที่มีตำแหน่ง SNP ใน Chr.1 (A>C 5'UTR) พบความหลากหลายของรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ ในไก่ไข่มุกอีสาน 2 โดยรูปแบบจีโนไทป์และขนาดของชิ้นส่วนยีนแสดงใน (Figure 1 and 2) ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลของยีน cGH และ IGF-1 แสดงใน (Table 3) เมื่อพิจารณาความถี่อัลลีลของยีน cGH พบอัลลีล G มากกว่าอัลลีล A ในไก่ไข่มุกอีสาน 2 คิดเป็นร้อยละ 62.4 มีความสอดคล้องกับการรายงานพบอัลลีล G มีความถี่สูงถึง 86 เปอร์เซ็นต์ ในไก่ลูกผสมรุ่น F2 (White Recessive Rock และ Xinghua) ที่เน้นให้ผลผลิตเนื้อ (Nie et al., 2005) และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาในไก่พื้นเมืองลูกผสม (PS boiler และ ไก่ไข่มุกอีสาน) พบอัลลีล G มีความถี่สูงกว่า 54 เปอร์เซ็นต์ (Buasook et al., 2014; Nguyen et al., 2015) ผลการศึกษาดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าอัลลีล G มีโอกาสจะพบในไก่กลุ่มเน้นให้ผลผลิตเนื้อ

Table 2. Descriptive statistics of data used in gene association study in Khai Mook Esarn 2 chickens

Traits	Male (n=168)				Female (n=150)			
	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
BW 0 (g/d)	40.69	3.12	34	50	40.19	3.58	28	50
BW 4 (g/d)	440.71	70.52	220	690	400.76	73.87	200	610
BW 10 (g/d)	1,961.89	235.06	1,300	2,650	1,638.49	197.66	1,060	2,200
ADG 0-4 (g/d)	14.39	2.42	6.54	22.86	12.47	2.83	5.61	20.07
ADG 4-10 (g/d)	35.99	5.11	21.90	51.19	29.50	4.46	16.43	42.62
ADG 0-10 (g/d)	27.35	3.44	18.04	37.24	22.69	2.85	14.57	30.79
BrW (cm)	7.12	0.57	5.4	9.1	6.73	0.50	5.2	8.3
BrC (cm)	29.07	1.90	22.8	33.7	27.86	1.73	21.1	33.4

BW, body weight (at hatching 0, 4, and 10 weeks of age); ADG, average daily gain (during 0 to 4, 0 to 10, and 4 to 10 weeks of age); BrW, Breast width at 10 weeks of age; BrC, Breast circumference at 10 weeks of age

The number in () = number of sample

Figure 1. RFLP patterns of *cGH/EcoRV*Figure 2. RFLP patterns of *IGF-1/HinfI*

ยีน *IGF-1* จากการศึกษาในครั้งนี้พบอัลลีล C มีความถี่สูงกว่าอัลลีล A ทำนองเดียวกับการศึกษาของ Preecha *et al.* (2017) ที่ศึกษาในไก่ไข่เล็กรุ่นขาว และไก่ไข่โรดไอแลนด์เรด ในยีน *IGF-1* พบอัลลีล C มากกว่าอัลลีล A แต่อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Nguyen *et al.* (2015) มีการศึกษายีน *IGF-1* ในไก่ Thai broiler ที่มีระดับสายเลือดไก่พื้นเมือง 25 เปอร์เซ็นต์ พบอัลลีล A มากกว่าอัลลีล C ข้อมูลในเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าอัลลีล A มีการตรวจพบได้ในกลุ่มไก่เน้นให้ผลผลิตเนื้อ และอัลลีล C มีโอกาสตรวจพบในกลุ่มไก่ที่เน้นให้ผลผลิตไข่

ผลการตรวจสอบสมมติฐานความถี่ของยีนในประชากรด้วยวิธี chi-square test แสดงใน (Table 3) พบว่ายีน *cGH* และ *IGF-1* ในไก่ไข่มุกอีสาน 2 ความถี่ยีนไม่อยู่ในสมดุลตามกฎของ Hardy-Weinberg เนื่องจากไก่ไข่มุกอีสาน 2 ถูกคัดเลือกลักษณะการเจริญเติบโต โดยคัดจากลักษณะปรากฏ (phenotype) มาทั้งหมด 4 ช่วง เป็นประชากรกลุ่มพ่อแม่พันธุ์ภายในฝูงมีการผสมแบบ

inter se เพื่อรักษาความดั้งเดิมของสายพันธุ์ และขนาดของประชากรมีขนาดเล็ก (Preecha *et al.*, 2017) จึงอาจส่งผลกระทบต่อความถี่ยีนอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ความถี่ยีน *cGH* และ *IGF-1* ในไก่ไข่มุกอีสาน 2 ไม่อยู่ในสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg

ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน *cGH* และ *IGF-1* ต่อน้ำหนักตัว และลักษณะการเจริญเติบโต

ผลการวิเคราะห์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน *cGH* ที่มีตำแหน่ง SNP ใน Chr.27 (G>A +1705 Intron3) ในกลุ่มไก่ไข่มุกอีสาน 2 ครั้งนี้ ไม่พบความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *cGH* กับน้ำหนักตัวและลักษณะการเจริญเติบโต (Table 4) แต่ยังคงพบมีรายงานความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน *cGH* ต่อน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในไก่เนื้อไทย (ไก่พื้นเมืองลูกผสมที่ระดับเลือด 25% พื้นเมือง) (Nguyen *et al.* 2015) รวมถึงพบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *cGH*

Table 3. Allele and genotype frequency of *cGH/EcoRV* and *IGF-1/HinfI* in Khai Mook Esarn 2 chickens

Gene	N	Genotype frequency			Allele frequency		χ^2
<i>cGH</i>		AA	AG	GG	A	G	
	318	0.101(32)	0.550(175)	0.349(111)	0.376	0.624	9.52
<i>IGF-1</i>		AA	AC	CC	A	C	
	318	0.160(51)	0.591(188)	0.248(79)	0.456	0.544	11.68

cGH, chicken growth hormone gene; *IGF-I*, insulin-like growth factor-I gene

χ^2 (1,0.05) = 3.841

Table 4. Association between variation of *cGH/EcoRV* and growth trait in Khai Mook Esarn 2 Chickens

Growth traits	<i>cGH</i>			<i>P</i> -value
	AA (n=32)	AG (n=174)	GG (n=112)	
BW0 (g)	40.63 ± 0.57	40.58 ± 0.27	40.02 ± 0.33	0.622
BW4 (g)	431.61 ± 13.32	416.75 ± 6.29	404.66 ± 7.82	0.121
BW10 (g)	1,780.38 ± 39.05	1,789.62 ± 18.44	1,781.25 ± 22.93	0.593
ADG 0-4 (g/d)	13.96 ± 0.47	13.43 ± 0.22	13.02 ± 0.28	0.094
ADG 0-10 (g/d)	24.85 ± 0.56	24.98 ± 0.26	24.87 ± 0.33	0.783
ADG 4-10 (g/d)	32.11 ± 0.84	32.69 ± 0.40	32.78 ± 0.50	0.770
BrW (cm)	6.85 ± 0.10	6.91 ± 0.05	6.94 ± 0.06	0.840
BrC (cm)	28.41 ± 0.32	28.50 ± 0.15	28.16 ± 0.20	0.212

cGH, chicken growth hormone gene; BW, body weight (at hatching 0, 4, and 10 weeks of age); ADG, average daily gain (during 0 to 4, 0 to 10, and 4 to 10 weeks of age); BrW, Breast width at 10 weeks of age; BrC, Breast circumference at 10 weeks of age,

The number in () = number of sample

ต่อน้ำหนักตัวไก่ และอัตราการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมืองจีนพันธุ์ Taihe Silkies (Nie *et al.*, 2005) และความกว้างอกในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ซี (Promwatee *et al.*, 2011) แสดงให้เห็นในกลุ่มประชากรไก่ที่ผ่านการคัดเลือกและพัฒนาพันธุ์จากแหล่งที่แตกต่างกัน ยังคงมีความหลากหลายของยีน *cGH* และอิทธิพลของยีนมีผลต่อลักษณะการเจริญเติบโตในไก่ ทั้งนี้ *cGH* ถือว่าเป็นยีนที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต รวมไปถึงเมตาบอลิซึมของร่างกาย เนื่องจากยีน *cGH* มีผลโดยตรงต่อเซลล์เป้าหมายในกระบวนการผลิตฮอร์โมน GH ซึ่งฮอร์โมน GH จะส่งสัญญาณทำงานไปยังเซลล์เป้าหมายตัวรับสัญญาณหลายชนิด ที่เรียกว่า Growth hormone receptor (GHR) เช่น ตับ เนื้อเยื่อในระบบน้ำเหลือง เซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ไขมันบลาสท์ และกระดูกอ่อน ทำให้

เซลล์เหล่านี้เกิดการเจริญเติบโต (Kansaku *et al.*, 2008) รวมทั้งจากบทบาทของยีน *cGH* ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตในสัตว์ปีก (Nie *et al.*, 2005) แม้การศึกษาครั้งนี้จะไม่พบความสัมพันธ์ของยีน *cGH* กับลักษณะที่ศึกษา แต่การศึกษอิทธิพลของยีน *cGH* เพื่อการพัฒนาพันธุ์กรรมของลักษณะการเจริญเติบโตมีความเป็นไปได้และยังน่าสนใจในกลุ่มประชากรไก่พื้นเมือง และไก่พื้นเมืองลูกผสมอื่น

สำหรับผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *IGF-1* ที่มีตำแหน่ง SNP ใน Chr.1 (A>C 5'UTR) พบความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *IGF-1* ต่อลักษณะน้ำหนักตัว (body weight) ของลูกไก่แรกเกิดในไก่ไข่มุกอีสาน 2 ดังแสดงใน (Table 5) โดยกลุ่มไก่ศึกษาที่มีรูปแบบจีโนไทป์ AC มี

Table 5. Association between variation of *IGF-1/HinfI* and growth trait in Khai Mook Esarn 2 Chickens

Growth traits	IGF-1			P-value
	AA (n=50)	AC (n=187)	CC (n=81)	
BW0 (g)	39.70 ± 0.51 ^a	41.39 ± 0.44 ^b	40.49 ± 0.29 ^{ab}	0.046
BW4 (g)	422.26 ± 10.91	419.93 ± 6.65	410.82 ± 9.26	0.540
BW10 (g)	1,793.64 ± 32.01	1,807.59 ± 19.49	1,750.02 ± 27.14	0.083
ADG 0-4 (g/d)	13.66 ± 0.39	13.55 ± 0.23	13.21 ± 0.33	0.576
ADG 0-10 (g/d)	25.05 ± 0.45	25.24 ± 0.28	24.41 ± 0.39	0.793
ADG 4-10 (g/d)	32.65 ± 0.69	33.04 ± 0.42	31.89 ± 0.59	0.151
BrW (cm)	6.94 ± 0.08	6.93 ± 0.05	6.84 ± 0.07	0.411
BrC (cm)	28.25 ± 0.27	28.61 ± 0.16	28.20 ± 0.23	0.168

IGF-I, insulin-like growth factor-I gene; BW, body weight (at hatching 0, 4, and 10 weeks of age); ADG, average daily gain (during 0 to 4, 0 to 10, and 4 to 10 weeks of age); BrW, Breast width at 10 weeks of age; BrC, Breast circumference at 10 weeks of age.

^{a,b} means within a row with no common superscript are different significant ($P < 0.05$), The number in () = number of sample

ความสัมพันธ์กับน้ำหนักแรกเกิด สูงกว่ารูปแบบจีโนไทป์ AA แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ความกว้างอก และขนาดรอบอก จากความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ AC กับลักษณะน้ำหนักตัวที่พบสูงนี้ อาจเป็นไปได้ว่ามีผลมาจากอิทธิพลของ Heterotic effect ที่ ยีน มีสภาพของจีโนไทป์ เป็นแบบ heterozygous (Baranwal *et al.*, 2012) จะส่งเสริมให้ลูกมีลักษณะดีเด่นกว่าพ่อแม่ อย่างไรก็ตามมีรายงานอิทธิพลของน้ำหนักแรกเกิดมีผลต่อน้ำหนักตัวในไก่เนื้อทางการค้า โดยลูกไก่ที่มีน้ำหนักตัวสูงกว่าจะส่งผลให้ไก่เนื้อมีน้ำหนักตัวที่สูงขึ้นเมื่อถึงอายุ 43 วัน (Patbandha *et al.*, 2017) รวมกับมีรายงานว่าลูกไก่ที่มีน้ำหนักตัวสูงจะส่งผลให้มีอัตราการเลี้ยงรอดที่สูงขึ้น (Tarachai, 2017) ซึ่งจะเป็นการลดการสูญเสียของลูกไก่ในระยะแรกของการเลี้ยงได้นอกจากนี้ผลการศึกษายังพบรูปแบบจีโนไทป์ AC ของยีน *IGF-1* มีความน่าจะเป็นที่จะมีอิทธิพลต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเมื่อไก่อายุ 10 สัปดาห์ ในไก่ไข่มุกอีสาน 2 ($P < 0.1$) ร่วมกับการรายงานของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *IGF-1* มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโต (Amills *et al.*, 2003) และการเพิ่มน้ำหนักที่อายุ 2 สัปดาห์ (Nguyen *et al.*, 2015) ผลการศึกษานี้ยังมีความน่าสนใจในการพัฒนารูปแบบยีน *IGF-1* เพื่อการปรับปรุงน้ำหนักตัวในกลุ่มประชากรไก่ไข่มุกอีสาน 2 ต่อไป

อิทธิพลเนื่องจากเพศ (Gender) ที่มีผลต่อน้ำหนักตัว และลักษณะการเจริญเติบโต

ผลวิเคราะห์อิทธิพลร่วมของเพศ พบว่าเพศมีอิทธิพลต่อน้ำหนักตัวและการเจริญเติบโตในไก่ไข่มุกอีสาน 2 แสดงใน (Table 6) โดยเพศผู้จะมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวที่อายุ 4 และ 10 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในช่วงอายุ 0-4, 4-10 และ 0-10 สัปดาห์ ความกว้างอก และรอบอกที่ 10 สัปดาห์ สูงกว่าเพศเมีย ($P < 0.01$) สอดคล้องกับรายงานในไก่ลูกผสมที่มีระดับเลือดไก่พื้นเมือง 25, 50 และ 75 เปอร์เซนต์ พบว่าเพศมีอิทธิพลต่อน้ำหนักตัวไก่ โดยเพศผู้จะมีน้ำหนักตัวที่สูงกว่าเพศเมียเมื่ออายุเท่ากัน (Buasook *et al.*, 2014) และในไก่ลูกผสมระหว่างไก่ Fayoumi x Naked neck และ Rhode Island Red x Local Netch พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวไก่เพศผู้สูงกว่าในไก่เพศเมีย เมื่ออายุ 4 สัปดาห์ขึ้นไป (Bekele *et al.*, 2010) เช่นเดียวกับการรายงานไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้าที่ลูกผสมเพศผู้มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าเพศเมีย (Lopez *et al.*, 2011) ผลจากการศึกษานี้เป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยไก่ไข่มุกอีสาน 2 เพศผู้จะมีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าเพศเมียเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ขึ้นไป และการวิจัยครั้งนี้ใช้ลูกไก่ไข่มุกอีสาน 2 เลี้ยงแบบคละเพศลูกไก่อายุ 1 วัน เนื่องจากอายุ 1 วัน การแยกเพศลูกไก่ด้วยลักษณะสีขนภายนอกไม่

Table 6. Effect of gender on body weight, average daily gain, breast width and breast circumference in Khai Mook Esarn 2 Chickens

Traits	Male (n=168)	Female (n=150)	P-value
BW0 (g)	40.80 ± 0.39	40.44 ± 0.42	0.337
BW4 (g)	433.37 ± 8.30 ^a	385.09 ± 9.20 ^b	<.0001
BW10 (g)	1,894.16 ± 22.49 ^a	1,576.38 ± 24.82 ^b	<.0001
BrW (cm)	7.04 ± 0.05 ^a	6.70 ± 0.06 ^b	<.0001
BrC (cm)	28.52 ± 0.27 ^a	27.63 ± 0.30 ^b	0.0015
ADG0-4 (g/day)	14.04 ± 0.31 ^a	12.32 ± 0.33 ^b	<.0001
ADG4-10 (g/day)	34.76 ± 0.48 ^a	28.43 ± 0.54 ^b	<.0001
ADG0-10 (g/day)	26.51 ± 0.33 ^a	22.02 ± 0.36 ^b	<.0001

BW, body weight (at hatching 0, 4, and 10 weeks of age); ADG, average daily gain (during 0 to 4, 0 to 10, and 4 to 10 weeks of age); BrW, Breast width at 10 weeks of age; BrC, Breast circumference at 10 weeks of age. ^{a,b} means within a row with no common superscript are different significant ($P < 0.05$)

สามารถทำได้ หากต้องการควบคุมอิทธิพลของเพศควรพิจารณาวิธีการแยกเพศลูกไก่ที่อายุ 1 วัน และเลี้ยงแบบแยกเพศ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาด้านการจัดการเลี้ยง ผลการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเมื่อลูกไก่อายุ 4 สัปดาห์ หากสามารถแยกเพศได้ ควรพิจารณาแบบแยกเพศ เพื่อจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพให้ลูกไก่แต่ละเพศมีการน้ำหนักตัวและการเจริญเติบโตที่สม่ำเสมอขึ้น

อิทธิพลเนื่องจากชุดฟัก (Hatchability) ที่มีผลต่อลักษณะการเจริญเติบโต

ผลวิเคราะห์อิทธิพลร่วมเนื่องจากชุดฟักต่อการเจริญเติบโตในไก่ไข่มุกอีสาน 2 พบว่า ชุดฟักมีผลต่อน้ำหนักตัว และลักษณะการเจริญเติบโตของไก่ไข่มุกอีสาน 2 จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตในไก่ไข่มุกอีสาน 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) พบว่าปัจจัยร่วมระหว่างปีที่เกิดและชุดฟักมีอิทธิพล ต่อลักษณะน้ำหนักตัว ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากจำนวนไก่เพศผู้และเพศเมียในแต่ละชุดฟักไม่เท่ากันจึงส่งผลให้ในแต่ละชุดฟักมีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน สอดคล้องกับผลการศึกษาในไก่เบตง (KU line) (Wangtaweekamol et al., 2013) นอกจากนี้ อาจจะมีอิทธิพลของบางชุดฟัก ที่เป็นช่วงคาบเกี่ยวของฤดูร้อนและฤดูฝน (กุมภาพันธ์-มิถุนายน) ทำให้สภาพแวดล้อมของอุณหภูมิและความชื้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของไก่ไข่มุกอีสาน 2 ที่เกิดในช่วงเดือน

ดังกล่าว เช่นเดียวกับรายงานอิทธิพลของฤดูโดยเฉพาะฤดูร้อนและฤดูฝน มีผลต่อน้ำหนักไก่และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันที่มีความแตกต่างกัน (Leotaragul et al., 1996) ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยพบข้อจำกัดด้านอุณหภูมิที่สูงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง มิถุนายน ที่ส่งผลต่ออัตราการผสมติดที่ลดลง และอัตราการฟักออกของไข่มีเชื้อที่ลดลง รวมถึงการสูญเสียไก่พ่อแม่พันธุ์เนื่องจากอุณหภูมิที่สูง ส่งผลให้มีความจำเป็นต้องนำเข้าฟักจำนวนทั้งสิ้น 12 ชุดฟัก อย่างไรก็ตามหากต้องการเลี้ยงผลกระทบดังกล่าว การวางแผนการผสมก่อนจะเข้าสู่ช่วงฤดูร้อนก็น่าจะเป็นทางเลือกเพื่อผลผลิตลูกไก่ไข่มุกอีสาน 2 ได้

สรุป

การศึกษานี้พบความหลากหลายรูปแบบของยีน *cGH* และ ยีน *IGF-1* ในไก่ไข่มุกอีสาน 2 และผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ พบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *IGF-I* กับลักษณะน้ำหนักแรกเกิดในไก่ไข่มุกอีสาน 2 โดยพบกลุ่มไก่ไข่มุกอีสาน 2 ที่มีรูปแบบจีโนไทป์ *IGF-I* มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักแรกเกิดที่สูง มีโอกาสจะมีน้ำหนักตัวที่ 10 สัปดาห์สูงด้วยเช่นกัน แต่ผลการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *cGH* กับลักษณะน้ำหนักตัวและการ

เจริญเติบโตในกลุ่มไก่ไข่มุกอีสาน 2 ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าหากพิจารณาโอกาสในการพัฒนาเครื่องหมายพันธุกรรมช่วยในการคัดเลือก จะเห็นว่ามีรูปแบบของยีน *IGF-I* น่าจะมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมช่วยในการคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะน้ำหนักตัวในไก่ไข่มุกอีสาน 2 ได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ผู้วิจัยได้รับทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น การสนับสนุนตัวอย่างการวิจัยจากศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) การสนับสนุนสถานที่ในด้านการวิเคราะห์ข้อมูลจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอขอบคุณคุณทองสา บัวสุข ที่ให้คำชี้แนะในการวิเคราะห์ข้อมูลด้านอนุพันธุศาสตร์ และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเป็นอย่างดี และขอขอบคุณเพื่อน ๆ นักศึกษาที่ให้ความสนใจและช่วยเหลืองานครั้งนี้ด้วยดีเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

- Amills, M., N. Jimenez, D. Villalba, M. Tor, E. Molina, D. Cubilo, C. Marcos, A. Francesch, A. Sanchez and J. Estany. 2003. Identification of three single nucleotide polymorphisms in the chicken insulin-like growth factor 1 and 2 genes and their association with growth and feeding traits. *Journal of Poultry Science* 82(10): 1485-1493.
- Baranwal, V. K., V. Mikkilineni, U. B. Zehr, A. K. Tyagi and S. Kapoor. 2012. Heterosis: emerging ideas about hybrid vigour. *Journal of Experimental Botany* 63(18): 6309-6314.
- Bekele, F., T. Adnogy, H. M. Gjoen, J. Kathle and G. Abebe. 2010. Production performance of dual purpose crosses of two indigenous with two exotic chicken breeds in sub-tropical environment. *International Journal of Poultry Science* 9(7): 702-710.
- Buasook, T., M. Duangjinda, Y. Phasuk and S. Kunhareang. 2014. Patterns of *cGH*, *IGF-1*, *ApoB2*, *ApoVLDL-II* and *FASN*; and body weight and cholesterol level in plasma of Thai native chicken crossbreds. *Khon Kaen Agriculture Journal* 42(3): 357-368. (in Thai)
- Charoensook, R., T. Incharoen, N. Wichasit and N. Preecha. 2016. Influence of breed and sex on the growth traits of White Leghorn and Rhode Island Red chickens under topical condition. *Khon Kaen Agriculture Journal* 44(Suppl.1): 401-404. (in Thai)
- Dekkers, J.C.M. 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science* 82: E313-328.
- Jaturasitha, S., T. Srikanchai, M. Kreuzer and M. Wicke. 2008. Differences in carcass and meat characteristics between chicken indigenous to northern Thailand (Black-boned and Thai native) and imported extensive breeds (Bresse and Rhode Island Red). *Poultry Science* 87(1): 160-169.
- Kansaku, N., G. Hiyama, T. Sasanami and D. Zadworny. 2008. Prolactin and growth hormone in birds: Protein structure, gene structure and genetic variation. *Journal of Poultry Science*. 45:(1), doi:10.2141/jpsa.45.1.
- Laopaiboon, B. 2018. Chicken without gout. (Online). Available <https://www.77kaoded.com/content/70412> (December 16, 2018). (in Thai)
- Leotaragul, A., P. Sondhipiroj and S. Morathop. 1996. Breeding and selection of native chickens

- of Mahasarakham Livestock Breeding Station II. Productive performance of native chickens raised in livestock breeding station. *Journal of Agriculture* 12(1): 55-64. (in Thai)
- Li, C.Y. and H. Li. 2006. Association of MC4R gene polymorphisms with growth and body composition traits in chicken. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 19(6): 763-768.
- Lopez, K.P., M.W. Schilling, and A. Corzo. 2011. Broiler genetic strain and sex effects on meat characteristics. *Journal of Poultry Science* 90: 1105-1111.
- Na Rungsri, D., K. Akkahart and A. Leotaragul. 2007. Formation of foundation stock of Thai indigenous chicken (Pradu Hangdum); 6. Heritability and genetic correlation between body weight and body conformation of Pradu Hangdum. *Animal Husbandry Division, Department of Livestock Development, Bangkok*. 12 p. (in Thai)
- Nguyen, A.T.L., S. Kunhareang and M. Duangjinda. 2015. Association of chicken growth hormones and insulin-like growth factor gene polymorphisms with growth performance and carcass traits in Thai broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 28(12): 1686-1695.
- Nie, Q., B. Sun, D. Zhang, C. Luo, N.A. Ishag, M. Lei, G. Yang and X. Zhang. 2005. High diversity of the chicken growth hormone gene and effects on growth and carcass traits. *Journal of Heredity* 96(6): 698-703.
- Pandey, N.K., R.P. Singh, V.K. Saxena, N. Shit, R. Singh, R.K. Sharma and K.V.H. Sastry. 2013. Effect of IGF1 gene polymorphism and expression levels on growth factors in Indian colored broilers. *Livestock Science* 155(2): 157-164.
- Patbandha, T.K., D.D. Garg, S. Marandi, D.G. Vaghmashi, S.S. Patil and H.H. Savsani. 2017. Effect of chick weight and morphometric traits on growth performance of coloured broiler chicken. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 5(6): 1278-1281.
- Peawong, W., P. Ratanapradit and S. Jaturasitha. 2010. Genetic polymorphism of *MC5R* gene on growth rate of indigenous chicken (Praduhangdum). *Journal of Agriculture* 26(2): 163-172. (in Thai)
- Preecha, N., R. Charoensok, T. Incharoen, S. Numthuam, N. Wichasit and T. Pechrkong. 2017. Polymorphisms of *cGH*, *MC5R*, *IGFBP2* and *IGF-1* genes and their association with growth traits in White Leghorn and Rhode Island Red. *Khon Kaen Agriculture Journal* 45(Suppl. 1): 783-789. (in Thai)
- Promwatee, N., M. Duangjinda, W. Boonkum and B. Loapaiboon. 2011. Association of single nucleotide polymorphisms in *GHSR*, *IGF1*, *cGH* and *IGFBP2* genes on growth traits in Thai Native Chickens (Chee and Pradu Hang Dam). *Khon Kaen Agriculture Journal* 39(3): 261-270. (in Thai)
- Promwatee, N., B. Laopaiboon, T. Vongpralub, Y. Phasuk, S. Kunhareang, W. Boonkum and M. Duangjinda. 2013. Insulin-like growth factor I gene polymorphism associated with growth and carcass traits in Thai synthetic chickens. *Genetics and Molecular Research* 12(4): 4332-4341.
- Salmon, W.D. and W.H. Daughaday. 1957. A hormonally controlled serum factor which

- stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 49(6): 825-836.
- SAS. 1998. User's Guide: V.6.12. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Tarachai, P. 2017. Poultry production: Broiler raising. (Online). Available <http://www.as.mju.ac.th/E-Book/t.pdf> (December 16, 2018). (in Thai)
- Yan, B., X. Deng, J. Fai, X. Hu, C. Wu and N. Li. 2003. Single nucleotide polymorphism analysis in chicken growth hormone gene and its associations with growth and carcass traits. Chinese Science Bulletin 48(15): 1561-1564.
- Wangtaweessukamol, N., W. Loongyai, B. Chomtee and P. Sopannarath. Genetic parameters for body weights in Betong chicken (KU Line). Agricultural Science Journal 44(Suppl. 1): 167-170. (in Thai)
- Zhou, H., A.D. Mitchell, J.P. McMurtry, C.M. Ashwell and S.J. Lamont. 2005. Insulin-like growth factor-I gene polymorphism associations with growth, body composition, skeleton integrity, and metabolic traits in chickens. Journal of Poultry Science 84(2): 212-219.
-

ผลการเสริมไขสบู่ถั่วเหลืองในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนา สมรรถภาพการผลิต องค์ประกอบซาก คุณภาพเนื้อ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

Effects of Soybean Soapstock Supplementation in Broiler Diets on Nutrient Digestibility, Productive Performance, Carcass Composition, Meat Quality and Economic Benefit Return

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี^{1*} วัชรรา ปิ่นทอง¹ จินดา กลิ่นอุบล² ธนภัทร สิทธิสุพร¹
ณัฐพล เอี่ยมมงคล¹ กนกกร ภาระเวช¹ พิษญา ฉ่ำชื่น¹ พรพิมล คงทัพ¹
ภูธฤทธิ์ วิทยาพัฒนานุรักษ์ รักษาศิริ¹ และ วรางคณา กิจพิพิธ¹

Manatsanun Nopparatmaitree^{1*}, Watchara Pinthong¹, Jinda Klin-Ubol², Thanapat Sittisuporn¹,
Nutthapol Aiem-Mongkol¹, Kanokkorn Pharawech¹, Pitchaya Chumcaun¹, Pornpimol Kongtap¹,
Bhutharit Vittayaphathananurak Raksasiri¹ and Warangkana Kitpipit¹

¹คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี อ. ชะอำ จ. เพชรบุรี 76120

¹Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi IT Campus,
Cha-am, Phetchaburi 76120, Thailand

²ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

²Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchatani University,
Warin Chamrap, Ubon Ratchathani 34190, Thailand

*Corresponding author: Email: Nopparatmaitree_m@su.ac.th

(Received: 8 January 2020; Accepted: 15 April 2020)

Abstract: Soybean soapstock is a by-product of the soybean oil refining process and it is rich in fatty acid polyunsaturated fatty acids and also rich in yellow pigments. Two hundred broiler chickens (Ross 308[®]) were randomly divided into completely randomized design with 2 treatments and 5 replication per treatment (n=20). Dietary treatment included the corn-soybean meal base diet (control diet: without soybean soapstock supplementation) and corn-soybean meal base diet substitution soybean soapstock for crude palm oil (SBS for CPO (5:95)). The results showed that substitution SBS for CPO (5:95) in diet improved digestibility of ether extract and gross energy with higher different to control group ($P<0.05$). Furthermore, substitution SBS for CPO (5:95) in diet also increase feed efficiency ratio, productive index, salable bird return, net profit return per bird and return of investment (ROI) with higher different to control group ($P<0.05$) but there were not affect the average daily gain, feed intake, carcass percentage, cutting percentage and meat quality ($P>0.05$).

Keywords: Broilers, digestibility, soybean soapstock, meat quality, carcass trait and productive performance

บทคัดย่อ: ไช้สบู่ถั่วเหลืองเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการทำน้ำมันถั่วเหลืองให้บริสุทธิ์ที่สุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน และสารสีเหลือง โดยการทดลองครั้งนี้ใช้ไก่เนื้อพันธุ์ Ross 308® จำนวน 200 ตัว สุ่มเข้าสุแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วย 2 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 5 ซ้ำ ($n=20$) อาหารทดลองประกอบด้วยอาหารที่มีข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นพื้นฐาน (กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการใช้ไช้สบู่ถั่วเหลือง) และ อาหารพื้นฐานที่ใช้ไช้สบู่ถั่วเหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (5:95) ผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า การใช้ไช้สบู่ถั่วเหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (5:95) ในอาหารสามารถเพิ่มการย่อยได้ปรากฏของไขมันรวมและพลังงานรวมสูงกว่าจากกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) อีกทั้งการใช้ไช้สบู่ถั่วเหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (5:95) ในอาหารสามารถเพิ่มอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ดัชนีประสิทธิภาพการผลิต มูลค่าการขายต่อตัวกำไรสุทธิต่อตัว และ อัตราส่วนผลตอบแทนจากการลงทุนสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) แต่ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินได้ เปอร์เซ็นต์ซาก เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วน และ คุณภาพเนื้อ ($P>0.05$)

คำสำคัญ: ไก่เนื้อ การย่อยได้ ไช้สบู่ถั่วเหลือง คุณภาพเนื้อ ลักษณะซาก และ สมรรถนะการผลิต

คำนำ

ปัจจุบันการเลี้ยงและการผลิตไก่เนื้อในเชิงพาณิชย์มุ่งเน้นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต กอปรกับการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและภาวะเศรษฐกิจโลกล้วนส่งผลต่อปริมาณการผลิตและราคาวัตถุดิบอาหารสัตว์ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาและแสวงหาวัตถุดิบอาหารทางเลือกที่มีศักยภาพและต้นทุนต่ำ (Hatachote, and Muapanya, 2017) ปัจจุบันมีโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตน้ำมันมีเศษเหลือทิ้ง คือ ไช้สบู่ (soapstock) ที่ได้มาจากการบวนการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ (refining) โดยน้ำมันถั่วเหลืองที่ผ่านการแยกกัม (gum) แล้วเข้าสู่กระบวนการทำให้เป็นกลาง (neutralization) เพื่อกำจัดกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ด้วยการเติมโซดาไฟทำปฏิกิริยากับกรดไขมันอิสระเพื่อแยกน้ำมันถั่วเหลือง ส่งผลทำให้มีไช้สบู่เศษเหลือทิ้งในขั้นตอนนี้ 17 ถึง 31 เปอร์เซ็นต์ ของกระบวนการผลิตหรือคิดเป็นต้นทุน 1 ใน 3 ของการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองเพื่อบริโภค (Borsatti *et al.*, 2018) ซึ่งไช้สบู่เป็นเศษเหลือทิ้งถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตสบู่และสารซักล้าง ทั้งนี้มีหลายงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่า ไช้สบู่อุดมไปด้วยกรดไขมันจำเป็นมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เช่น กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก แกรมมาลิโนเลอิก แอลฟาไลโนเลอิก เป็นต้น (Pardio *et al.* 2005) นอกจากนี้ Peña *et al.* (2014) รายงานว่า ไช้สบู่ถั่วเหลืองมีค่าพลังงานที่ใช้

ประโยชน์ได้ปรากฏ (apparent metabolizable energy: AMEn) 7,951 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม สูงกว่าเลซีตินและกลีเซอริน (6,579 และ 3,979 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) ซึ่งทั้ง 3 ชนิดเป็นเศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองเพื่อการบริโภคและการผลิตไบโอดีเซล อีกทั้งไช้สบู่ยังพบกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 และ โอเมก้า 6 รวมทั้งสารสีแซนโทฟิลล์ที่จัดเป็นรงควัตถุสีเหลืองในกลุ่มแคโรทีนอยด์และอุดมไปด้วยแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายสัตว์ เช่น โซเดียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก ทองแดง และแคลเซียม เป็นต้น (dos Santos *et al.*, 2014) นอกจากนี้ไช้สบู่ถั่วเหลืองยังมีองค์ประกอบของสารกลุ่มฟอสโฟลิปิด (King *et al.*, 1998) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ที่ทำหน้าที่ร่วมกันกับน้ำดีจากตับ ในการกระจายตัวของไขมันและเพิ่มพื้นที่สัมผัสกับเอนไซม์ไลเปสส่งผลให้ไขมันถูกย่อยและดูดซึมได้ดีขึ้น (Zhou *et al.*, 2015) ทั้งนี้จากรายงานก่อนหน้านี้ พบว่า การเสริมไช้สบู่ถั่วเหลืองที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ในอาหารไก่เนื้อ (Pekel *et al.*, 2013) และ 2 เปอร์เซ็นต์ สำหรับอาหารไก่ไข่ (Senkoylu *et al.*, 2004) สามารถพัฒนาสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อและไก่ไข่ แม้ว่าไช้สบู่จะมีคุณสมบัติเด่นในการเป็นแหล่งไขมันทางเลือกในอาหารไก่เนื้อ หากแต่การใช้ไช้สบู่ไขมันยังมีข้อจำกัด คือ มีความหนืดสูงทำให้ไม่สะดวกในการใช้สำหรับผสมอาหารและอาจส่งผลต่อความสม่ำเสมอ (uniformity) ของการผสมอาหารสัตว์ของเกษตรกร อีกทั้งข้อมูลงานวิจัยเกี่ยวกับการนำไช้สบู่

ตัวเหลืองในระดับการเป็นสารเสริมอาหารสัตว์ (Feed additive) ในอาหารไก่เนื้อยังมีน้อย ซึ่งในการศึกษาเบื้องต้นในครั้งนี้จะช่วยให้คำอธิบายที่ชัดเจนมากขึ้นในสมมติฐานเกี่ยวกับการใช้โซลูบิวต์เหลืองเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ร่วมกับน้ำมันปาล์มในสูตรอาหารไก่เนื้อเพื่อพัฒนาการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร โดยการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการเสริมโซลูบิวต์เหลืองในอาหารของไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิต องค์ประกอบซาก คุณภาพเนื้อไก่ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจสำหรับการนำผลไปใช้เลี้ยงไก่เนื้อเพื่อเป็นทางเลือกและเสริมสร้างความยั่งยืนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์และอาหารทดลอง

การทดลองนี้ใช้ไก่เนื้อสายพันธุ์ Ross 308® อายุ 1 วัน จำนวน 200 ตัว (เพศผู้ 100 ตัว และ เพศเมีย 100 ตัว) โดยสุ่มไก่เนื้อเข้าสู่แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) แบ่งออกเป็น

2 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 5 ซ้ำ รวมทั้งหมด 10 หน่วยทดลอง (n=20 เพศผู้ 10 ตัว และ เพศเมีย 10 ตัว) ประกอบด้วย ทรีทเมนต์ที่ 1 คือ อาหารไก่เนื้อที่ใช้โซลูบิวต์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS 0:CPO 100) และ ทรีทเมนต์ที่ 2 คือ อาหารไก่เนื้อที่ใช้โซลูบิวต์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS 5:CPO 95) ทั้งนี้ไก่เนื้อทดลองได้รับน้ำสะอาดและอาหารกินแบบเต็มที่ตลอดเวลา (*ad libitum*) โดยใช้ระยะเวลาเลี้ยง 35 วัน แบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะเริ่มต้น อายุ 1-21 วัน (starter diets) มีโปรตีนหยาบ 23 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 3,200 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม และ ระยะเจริญเติบโต อายุ 22-35 วัน (grower diets) มีโปรตีนหยาบ 20 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 3,200 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม (NRC, 1994) ดังแสดงใน Table 1

ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะ

การวัดประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะโดยใช้สารบ่งชี้ (indicator method) ทั้งนี้ทำการผสมไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO₂) 0.3 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารของไก่เนื้อ

Table 1. Experimental diets

Ingredient composition (%)	Starter diets (0-21 day)		Grower diets (22-35 day)	
	Control	Soapstock	Control	Soapstock
Corn	48.45	48.45	56.60	56.60
Soybean meal, 44%CP	36.60	36.60	30.01	30.01
Corn gluten meal, 60%CP	5.70	5.70	5.00	5.00
Crude palm oil	5.00	4.75	4.80	4.56
Soybean soapstock	0.00	0.25	0.00	0.24
DCP, 18CP	1.80	1.80	1.20	1.20
Limestone	1.40	1.40	1.50	1.50
Salt	0.4	0.4	0.30	0.30
DL-Methionine	0.15	0.15	0.04	0.04
L-Lysine HCL	0.10	0.10	0.15	0.15
Vitamin premix*	0.20	0.20	0.20	0.20
Trace mineral premix**	0.20	0.20	0.20	0.20

* Provided per kilogram of diet: 15,000 IU vitamin A; 3,750 IU vitamin D₃; 37.5 IU vitamin E; 2.55 mg vitamin K₃; 3 mg vitamin B₁; 7.5 mg riboflavin; 4.5 mg vitamin B₆; 24mg vitamin B₁₂; 51 mg niacin; 1.5 mg folic acid; 126 mg biotin and 13.5 mg vitamin B₅

** Provided per kilogram of diet: 37.5 mg Zn (as ZnSO₄); 37.5 mg Mn (as MnO₂); 37.5 mg Fe (as FeSO₄·7H₂O); 3.75 mg Cu (as CuSO₄·5H₂O); 0.83 mg I (as KI); and 0.23 mg SE (as Na₂SeO₃·5H₂O)

ในช่วง 10 วันสุดท้ายของระยะเริ่มต้น โดยแบ่งให้ช่วง 7 วันแรก คือ ระยะปรับสัตว์ (preliminary period) และช่วง 3 วันสุดท้าย คือ ระยะเก็บตัวอย่าง (sampling period) จะทำการสุ่มเก็บอาหารไก่เนื้อทดลองจำนวน 1,000 กรัมของแต่ละหน่วยทดลองลงในถุงกันความชื้น และสุ่มเก็บมูลของไก่เนื้อที่ได้รับอาหารทดลองผสมสารบ่งชี้ของแต่ละหน่วยทดลองทุกวันในช่วงเช้าและเย็น แล้วบรรจุตัวอย่างมูลลงในถุงที่มีกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีของ Fenton and Fenton (1979) แล้วจัดเก็บตัวอย่างอาหารและตัวอย่างมูลเก็บที่ 4 และ -20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากนั้นทำการอบตัวอย่างอาหารและมูลด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสให้แห้ง แล้วบดละเอียด (Zampiga *et al.*, 2016) เพื่อทำการวิเคราะห์หาค่าวัตถุแห้ง โปรตีน หยิบ เยื่อใยรวม ไขมันรวม เถ้า และพลังงานรวม ตามวิธีของ AOAC (2000) และวิเคราะห์หาปริมาณ TiO_2 ด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริก ตามวิธีของ Myers *et al.* (2004) จากนั้นนำคุณค่าทางโภชนาและปริมาณของ TiO_2 ของมูลและอาหารทดลองเพื่อคำนวณหาการย่อยได้ปรากฏของโภชนา (apparent nutrient digestibility) ตามวิธีของ Kluth and Rodehutsord (2006)

สมรรถภาพการผลิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

การวัดสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อ โดยทำการจัดการเลี้ยงไก่เนื้อในคอกขนาด 2.0×3.0 เมตร ภายในโรงเรือนแบบเปิดที่มีการจัดการแสงและอุณหภูมิตามสภาพแวดล้อมในระหว่างช่วงเดือนมิถุนายน ถึง กรกฎาคม 2559 ทั้งนี้ทำการเลี้ยงไก่เนื้อทั้งหมด 35 วัน แบ่งเป็น 2 ช่วง คือ 0 ถึง 21 วัน และ 22 ถึง 35 วัน โดยบันทึกปริมาณอาหารที่กินได้ น้ำหนักตัวของไก่เนื้อเริ่มต้นและสุดท้ายของแต่ละช่วง จำนวนไก่ตาย และคัดทิ้งตลอดการทดลอง นำข้อมูลคำนวณหาปริมาณการกินได้ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (feed/gain) ตามวิธีของ Mwale *et al.* (2008) และคำนวณหาอัตราการเลี้ยงรอดรวมถึงดัชนีประสิทธิภาพการผลิต ตามวิธีของ Khaksefidi and Rahimi (2005) และคำนวณหาผลตอบแทนทาง

เศรษฐกิจ (economic benefit return) ตามวิธีของ Nopparatmaitree *et al.* (2015)

องค์ประกอบซากและคุณภาพเนื้อ

เมื่อไก่เนื้ออายุครบ 35 วัน ทำการสุ่มไก่เนื้อจากแต่ละหน่วยทดลอง จำนวน 4 ตัว (เพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว) ทำการชำแหละเพื่อหาองค์ประกอบซาก ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ซาก (carcass percentage) เปอร์เซ็นต์ซากเย็น (chilled carcass percentage) และเปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วนตัดแต่ง (cutting percentage) ตามวิธีของ Hossain *et al.* (2012) ส่วนคุณภาพเนื้อประเมินจากค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้ออก (ที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมง) โดยใช้ pH meter ที่ 45 นาที (pH 45 min) และที่ 24 ชั่วโมง (pH 24 h) โดยใช้ pH meter รุ่น pH 211, Hanna, Padua, Italy ตามวิธีของ Zhou *et al.* (2010) ทำการวัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) คือ drip loss, boiling loss, trawling loss และ roasting loss ตามวิธีของ Liu *et al.* (2012) รวมถึงวัดค่าสีของเนื้อไก่ (ที่ 24 ชั่วโมง) คือ ความสว่าง (Lightness: L^*), ความเป็นสีแดง (Redness: a^*) และ ความเป็นสีเหลือง (Yellowness: b^*) ด้วย Minota 410 chromameter ตามวิธีของ Ao *et al.* (2011) แล้วคำนวณหา Hue angle จากสูตร Hue angle = $\tan^{-1} (b^*/a^*)$ และ คำนวณหา Chroma จากสูตร Chroma $\{(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}\}$ (Suriyaphan and Bondang, 2014)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance :ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Tukey-Kramer Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1992) โดยใช้โปรแกรม R version 3.3.1 ตามวิธีของ R Core Team (2016) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาผลการเสริมไขมันสัตว์เลื้องในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนา พบว่า ไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันสัตว์เลื้องทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS

5:CPO 95) มีประสิทธิภาพการย่อยได้ปรากฏของไขมันรวมและพลังงานรวมสูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุม ในขณะที่ประสิทธิภาพการย่อยได้ปรากฏของวัตถุดิบอื่นที่รวมน้ำมันพืชและโปรตีนหยาบให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 2

ส่วนสมรรถภาพการผลิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของไก่เนื้อที่ได้รับการเสริมไขมันสัตว์เหลืองในอาหาร พบว่า ตลอดช่วงการเลี้ยงไก่เนื้อ 0-35 วัน ไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันสัตว์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS 5:CPO 95) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว อัตราการเลี้ยงรอด และดัชนีประสิทธิภาพการผลิตสูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารที่น้ำมันปาล์ม (CPO 100) ($P<0.05$) ทั้งนี้แม้ว่าไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันสัตว์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS 5:CPO 95) มีต้นทุนค่าอาหารต่อตัวสูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารที่น้ำมันปาล์ม (CPO 100) ($P<0.01$) ทั้งนี้เมื่อคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของการเลี้ยง พบว่า ไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันสัตว์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS 5:CPO 95) มีมูลค่าจากการขายต่อตัว ($P<0.01$) กำไรสุทธิต่อตัว ($P<0.01$) และอัตราส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน ($P<0.05$) สูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารที่น้ำมันปาล์ม (CPO 100) ดังแสดงใน Table 3 โดยไก่เนื้อช่วงอายุ 0-21 วัน ที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันสัตว์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS 5:CPO 95) ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

($P>0.05$) หากแต่ไก่เนื้อช่วงอายุ 22-35 วัน ที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันสัตว์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS 5:CPO 95) มีปริมาณการกินได้ต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว และดัชนีประสิทธิภาพการผลิตสูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารที่น้ำมันปาล์ม (CPO 100) ($P<0.05$) และมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน สูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารที่น้ำมันปาล์ม (CPO 100) ($P<0.01$) ดังแสดงใน Table 3

นอกจากนี้การเสริมไขมันสัตว์เหลืองในอาหารไก่เนื้อต่อองค์ประกอบซากและคุณภาพเนื้อ พบว่า การใช้ไขมันสัตว์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (SBS 5:CPO 95) ในสูตรอาหารไม่ส่งผลเสียต่อน้ำหนักซาก เปอรเซ็นตซาก เปอรเซ็นตชิ้นส่วน รวมถึงคุณภาพเนื้อ เช่น ความเป็นกรดต่างของเนื้อหลังฆ่า ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้ออกและค่าสีของเนื้อ ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 4

การทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของการย่อยได้ปรากฏของพลังงานรวมของไก่เนื้อเมื่อได้รับอาหารเสริมไขมันสัตว์เหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม 5 เปอรเซ็นตในสูตรอาหาร Irandoust *et al.* (2012) อธิบายถึงการใช้ไขมันสัตว์เหลืองในสูตรอาหารไก่เนื้อส่งผลให้ AME สูงกว่าอาหารพื้นฐาน เนื่องจากไขมันในอาหารจะช่วยลดอัตราการไหลผ่านของอาหารทำให้มีการดูดกลืนอาหารกับเอนไซม์ในท่อทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ เช่น ไขมัน แป้ง และน้ำตาล นอกจากนี้ไขมันสัตว์เหลืองยังมีองค์ประกอบของสารกลุ่มฟอสโฟลิปิด (King *et al.*, 1998) โดยฟอสโฟลิปิดมี

Table 2. Effect of dietary substitution SBS for CPO in broiler diets on nutrient digestibility

Nutrient digestibility (%)	Level of dietary substitution SBS for CPO ^a		CV ^b	P-value
	0:100	5:95		
Dry matter	78.88±1.00	79.33±2.091	2.07	0.71
Organic matter	80.45±1.37	81.26±1.97	2.10	0.52
Crude protein	81.10±1.71	81.29±1.81	2.17	0.88
Ether extract	91.61±0.87	93.65±0.54	0.79	<0.01
Crude fiber	55.89±2.20	54.60±2.51	4.27	0.47
Gross energy	80.44±1.22	83.42±1.06	1.39	0.01

SBS= Soybean soapstock, CPO= Crude palm oil

^a Mean±Standard deviation

^b Coefficient of variation {CV=(SD/mean)*100}

Table 3. Effect of dietary substitution SBS for CPO in broiler diets on productive performance and economic benefit return

Productive performance and economic benefit return	Level of dietary substitution SBS for CPO ^a		CV ^b	P-value
	0:100	5:95		
Productive performance				
0-21 day				
ADFI (g/bird/day)	61.68±3.22	58.29±1.48	4.18	0.10
ADG (g/bird/day)	41.30±2.59	39.44±0.29	4.57	0.20
FCR	1.49±0.02	1.47±0.03	1.85	0.47
Viability (%)	98.33±2.36	100.00±0.00	1.68	0.21
Productive Index	271.47±13.73	260.92±6.02	3.94	0.57
22-35 day				
ADFI (g/bird/day)	168.91±7.34	181.83±4.96	3.57	0.03
ADG (g/bird/day)	89.15±3.05	98.78±2.17	2.82	0.03
FCR	1.89±0.02	1.84±0.02	1.19	0.02
Viability (%)	96.49±2.18	98.25±2.48	2.55	0.36
Productive Index	302.95±16.01	351.66±15.24	4.78	0.04
0-35 day				
ADFI (g/bird/day)	104.57±4.73	107.71±1.26	3.26	0.25
ADG (g/bird/day)	60.44±2.77	63.18±0.79	3.29	0.11
FCR	1.73±0.01	1.71±0.01	0.74	0.02
Viability (%)	94.94±0.00	98.25±2.48	1.82	0.03
Productive Index	330.94±15.41	364.17±15.58	4.46	0.02
Economic benefit return (THB/bird) ^c				
Feed cost per gain (FCG)	59.55±1.87	63.90±1.242	2.59	<0.01
Salable bird return (SBR)	70.91±2.07	76.50±0.882	2.16	<0.01
Net profits return per bird (NPR)	11.36±0.12	13.19±0.587	3.55	<0.01
Return of investment (FCG) (%)	19.09±0.32	20.47±1.359	4.95	<0.01

SBS= Soybean soapstock, CPO= Crude palm oil

^a Mean±Standard deviation^b Coefficient of variation {CV=(SD/mean)*100}^c FCG = (FCR x feed cost x BWG), SBR= (price of live chicken (40 THB) x BW) NPR = (SBR – FCG), ROI= (NPR /FCG) x 100

ความสำคัญอย่างมากเนื่องจากเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเป็น อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ที่ประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ที่มีคุณสมบัติสามารถเกิดการอิมัลชัน (emulsion) การลดแรงตึงผิวของของเหลว (surface tension) และการป้องกันไม่ให้อิมัลชันแยกชั้น

(Zhang *et al.*, 2011) ทั้งนี้อิมัลซิไฟเออร์ทำหน้าที่ช่วยในการกระจายตัว การช่วยให้ไขมันให้แตกตัว การเพิ่มพื้นที่ผิวของไขมันในการสัมผัสกับเอนไซม์ไลเปสโดยทำงานร่วมกับน้ำดีจากตับเพื่อช่วยให้ไขมันถูกย่อยและดูดซึมได้ดีขึ้น (Zhou *et al.*, 2015) และเมื่อไขมันเข้าสู่ปฏิกิริยาการสลายไขมัน (lipolysis) และเข้าสู่กระบวนการย่อยสลาย

Table 4. Effect of dietary substitution SBS for CPO in broiler diets on carcass percentage and meat quality

Carcass and cutting percentage and meat quality	Level of dietary substitution SBS for CPO ^a		CV ^b	P-value
	0:100	5:95		
Carcass and cutting percentage (%)				
Live chicken weight (g)	2,126.67±18.86	2,140.00±32.66	1.25	0.56
Carcass weight (g)	1,806.67±57.35	1,806.67±61.28	3.28	1.00
Carcass percentage	84.94±2.12	84.41±1.58	2.21	0.69
Dressing percentage	76.64±1.53	77.27±0.68	1.51	0.47
Chilled dressing percentage	75.10±1.50	75.72±0.61	1.52	0.47
Boneless breast	29.76±0.97	29.07±0.12	2.36	0.21
<i>Pectoralis major</i>	24.93±1.09	24.04±0.37	3.32	0.17
<i>Pectoralis minor</i>	4.83±0.20	5.03±0.37	6.10	0.38
Wing stick	6.61±0.29	6.72±0.35	4.80	0.65
Tulip	4.14±0.14	4.32±0.36	6.48	0.39
Thigh	16.88±0.80	17.98±0.91	4.93	0.12
Drumstick	11.14±0.24	11.15±0.44	3.18	0.96
Skeletal bone	17.72±1.74	17.36±2.29	11.68	0.81
Internal organ	12.13±0.54	11.45±0.49	4.37	0.11
Meat quality				
pH 45 min	5.93±0.04	5.93±0.17	0.50	0.55
pH 24 h	5.76±0.37	5.74±0.02	0.52	0.55
Water holding capacity (%)				
Drip loss	3.85±0.19	3.61±0.16	4.79	0.13
Cooking loss	25.03±1.71	23.10±0.96	5.78	0.10
Trawling loss	9.23±0.45	9.21±0.83	7.21	0.97
Roasting loss	21.46±2.32	21.28±1.44	9.06	0.60
Color				
L* (Lightness)	55.83±0.84	54.21±2.16	2.98	0.21
a* (Redness)	7.88±0.08	7.77±0.23	2.16	0.28
b* (Yellowness)	20.23±1.72	18.73±0.92	7.09	0.18
Hue angle	68.63±1.87	67.74±1.01	2.32	0.50
Chroma	21.71±1.57	20.27±0.91	6.14	0.16

SBS= Soybean soapstock, CPO= Crude palm oil

^a Mean±Standard deviation

^b Coefficient of variation {CV=(SD/mean)*100}

กรดไขมัน (fatty acid catabolism) ภายในไมโทคอนเดรีย จะส่งผลต่อการเพิ่มพลังงาน ATP ในร่างกายของไก่ไข่ ดังนั้นเมื่อมีพลังงานเพิ่มขึ้นในร่างกายของไก่ไข่ พลังงาน เหล่านี้ จะถูกนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการดำรงชีพ การเจริญเติบโต และการสร้างผลผลิต (Zhai *et al.*, 2008) จากเหตุผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไก่เนื้อเมื่อได้รับอาหาร เสริมไขมันตัวเหลืองสามารถพัฒนาอัตราการเปลี่ยน อาหารเป็นน้ำหนักตัว อัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น ดัชนี ประสิทธิภาพการผลิต (สูงกว่า 330 ซึ่งเป็นค่าดัชนี ประสิทธิภาพการผลิตของการเลี้ยงไก่ในปัจจุบัน) รวมถึง การลดต้นทุนค่าอาหารและการเพิ่มรายได้จากการเลี้ยงไก่ เนื้อด้วย โดยสมรรถภาพการผลิตที่สูงขึ้นดังแสดงในผล การทดลองครั้งนี้ มีสอดคล้องกับงานวิจัยที่มีการศึกษา ก่อนหน้าของ Machado *et al.* (2003) ซึ่งได้ทำการ ทดลองด้วยการคำนวณสูตรอาหารไก่เนื้อโดยใช้ค่า พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy) ของไขมัน ตัวเหลืองและน้ำมันตัวเหลืองส่งผลทำให้ปริมาณการ กินได้ใกล้เคียงกัน หากแต่น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการ เปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวที่ดีขึ้นในไก่เนื้อที่ได้รับไขมัน ตัวเหลืองเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันตัวเหลือง ส่วน Vieira *et al.* (2006) พบว่า การใช้ไขมันในอาหารของไก่เนื้อไม่มี ผลต่อสมรรถนะการผลิตของ ไก่เนื้อเมื่อเปรียบเทียบกับ กลุ่มทดลองอื่นๆ ทั้งนี้แม้ว่า Sklan (1979) รายงานว่าไขมัน นั้นมีพลังงานต่อน้ำหนักไขมันที่ชนิดต่าง ๆ สำหรับ อาหารของสัตว์ปีก แต่ไขมันที่เป็นผลพลอยได้จาก กระบวนการกลั่นน้ำมันตัวเหลืองมีโภชนสารและ สารสำคัญเพื่อสุขภาพของไก่เนื้อและมีปริมาณสูงกว่าใน น้ำมันตัวเหลือง เช่น มีวิตามินอีสูงกว่าถึงสี่เท่า (340.3 mg alpha-tocopherol ต่อกิโลกรัม) และ ยังพบเลซิทินซึ่ง อุดมไปด้วยโคลีน (choline) (Rostagno *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2001) ทั้งนี้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของโคลีน ซึ่งเป็นตัวกลางให้หมู่เมทิลในกระบวนการเมแทบอลิซึม เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นผู้ให้หมู่เมทิล (methyl donor) จึงมีความจำเป็นในปฏิกิริยาชีวเคมีของเมไทโอนีน (methionine) และ โฮโมซิสทีน (homocysteine) ทำให้ช่วยลดระดับโฮโมซิสทีนในพลาสมาและช่วยการทำงานของตับที่เกี่ยวข้องกับไขมันให้ดีขึ้น

สรุป

การใช้ไขมันตัวเหลืองทดแทนน้ำมันปาล์ม (CSL 5:CPO 95) ในอาหารไก่เนื้อช่วยเพิ่มการย่อยได้ปรากฏของไขมันรวมและพลังงานรวม รวมถึงช่วยเพิ่มอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ดัชนีประสิทธิภาพการผลิตมูลค่าการขายต่อตัว กำไรสุทธิต่อตัว และ อัตราส่วนผลตอบแทนจากการลงทุน โดยไม่มีผลเสียต่อเปอร์เซ็นต์ซาก เปอร์เซ็นต์ชิ้นส่วน และ คุณภาพเนื้อ

เอกสารอ้างอิง

- Ao, X., J.S. Yoo, T.X. Zhou, J.P. Wang, Q.W. Meng, L. Yan, J.H. Cho and I.H. Kim. 2011. Effects of fermented garlic powder supplementation on growth performance, blood profiles, and breast meat quality in broilers. *Livestock Science* 141(1): 85-89.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- Borsatti, L., S. L. Vieira, C. Stefanello, L. Kindlein, E. O. Oviedo-Rondon and C. R. Angel. 2018. Apparent metabolizable energy of by-products from the soybean oil industry for broilers: acidulated soapstock, glycerin, lecithin, and their mixture. *Poultry Science* 97(1): 124-130.
- dos Santos, R.R., L.N.M. Muruci, L.O. Santos, R. Antoniassi, J.P.L. da Silva and M.C.T. Damaso. 2014. Characterization of different oil soapstock and their application. *Journal of Food and Nutrition Research* 2(9): 561-566.
- Fenton T.W. and M. Fenton. 1979. An improved method for chromic oxide determination in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science* 59: 631-634.

- Hatachote, S. and P. Muapanya. 2017. The survey of agro-industrial by-product and agricultural waste for its prospective use as raw material in aquatic animal feed in Sakon-Nakhon, Nakhonphanom and Mukdahan province. *Khon Kaen Agriculture Journal* 45(Suppl.1): 943-948. (in Thai)
- Hossain, M.E., G.W. Kim, S.K. Lee and C.J. Yang. 2012. Growth performance, meat yield, oxidative stability, and fatty acid composition of meat from broilers fed diets supplemented with a medicinal plant and probiotics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25(8): 1159-1168.
- Irandoust, H., A.H. Samie, H.R. Rahmani, M.A. Edriss and G.G. Mateos. 2012. Influence of source of fat and supplementation of the diet with vitamin E and C on performance and egg quality of laying hens from forty four to fifty six weeks of age. *Animal Feed Science and Technology* 177(1): 75-85.
- Khaksefidi, A. and Sh. Rahimi. 2005. Effect of probiotic inclusion in the diet of broiler chickens on performance, feed efficiency and carcass quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18(8): 1153-1156.
- King, J.W., S.L. Taylor, J.M. Snyder and R.L. Holliday. 1998. Total fatty acid analysis of vegetable oil soapstocks by supercritical fluid extraction/reaction. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75(10): 1291-1295.
- Kluth, H. and M. Rodehutsord. 2006. Comparison of amino acid digestibility in broiler chicken, turkey, and Pekin ducks. *Poultry Science* 85(1): 1953-1960.
- Liu, X., H. Yan, L. Lv, Q. Xu, C. Yin, K. Zhang, P. Wang and J. Hu. 2012. Growth performance and meat quality of broiler chickens supplemented with *Bacillus licheniformis* in drinking water. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25(5): 682-689.
- Machado, L.P., S.L. Vieira and V.R. Quadros. 2003. Source, level and age differences in fat utilization by broilers. *Poultry Science* 82: 39.
- Myers, W.D., P.A. Ludden, V. Nayigihugu and B.W. Hess. 2004. Technical note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science* 82(1): 179-183.
- Mwale, M., J.F. Mupangwa and C. Mapiye. 2008. Growth performance of guinea fowl keets fed graded levels of baobab seed cake diets. *International Journal of Poultry Science* 7(5): 429-432.
- Nopparatmaitree, M., W. Kitpipit, C. Phuengpathomphorn, S. Mongphuank, E. Kamonlapworaku, N. Banglarp and S. Khianngam. 2015. Effects of synbiotics supplementation on broiler productive performance and economic return. *Journal of Agriculture* 31(3): 349-366. (in Thai)
- NRC. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Pardio, V.T., L.A. Landin, K.N. Waliszewski, F. Perez-Gil, L. Diaz and B. Hernandez. 2005. The effect of soybean soapstock on the quality parameters and fatty acid composition of the hen egg yolk. *Poultry Science* 84(1): 148-157.
- Pekel, A.Y., G. Demirel, M. Midilli, T. Öğretmen, N. Kocabağlı and M. Alp. 2013. Comparison of broiler live performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of thigh meat when fed diets supplemented

- p>with neutralized sunflower soapstock or soybean oil.
- Journal of Applied Poultry Research*
- 22(1): 118-131.
- Peña J.E.M., S.L. Vieira, L. Borsatti, C. Pontin and H.V. Rios. 2014. Energy utilization of by-products from the soybean oil industry by broiler chickens: acidulated soapstock, lecithin, glycerol and their mixture.
- R Core Team. 2016. R. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Austria.
- Rostagno, H.S., L.F.T. Albino, I.J.L. Donzele, P.C. Gomes, A.S. Ferreira, R.F. Oliveira and D.C. Lopes. 2000. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. UFV, Viçosa.
- Senkoylu, N., H. Akyurek, H.E. Samli and N. Yurdakurban. 2004. Performance and egg weight of laying hens fed on the diets with various by-product oils from the oilseed extraction refinery. *Pakistan Journal of Nutrition* 3(1): 38-42.
- Sklan, D. 1979. Digestion and absorption of lipids in chicks fed triglycerides or free fatty acids: synthesis of monoglycerides in the intestine. *Poultry Science* 58(4): 885-889.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1992. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 2nd ed. McGraw-Hill Book Co., Inc., Singapore.
- Suriyaphan, O. and T. Bondang. 2014. Color and texture changes of dried bananas packed in metallized film pouches during normal storage. *Agricultural Science Journal* 45(Suppl. 2): 29-32. (in Thai)
- Vieira, S.L., E.S. Viola, J. Berres, J.L.B. Coneglian, D.M. Freitas and T.C.K. Bortolini. 2006. Water intake and digestive metabolism of broilers fed all-vegetable diets containing acidulated soybean soapstock. *Brazilian Journal of Poultry Science* 8(3): 159-165.
- Yang, C.S., J.M. Landau, M.T. Huang and H.L. Newmark. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition* 21: 381-406.
- Zampiga, M., A. Meluzzi and F. Sirri. 2016. Effect of dietary supplementation of lysophospholipids on productive performance, nutrient digestibility and carcass quality traits of broiler chickens, *Italian Journal of Animal Science* 15(3): 521-528.
- Zhai, W., S.L. Neuman, M.A. Latour and P.Y. Hester. 2008. The effect of male and female supplementation of L-carnitine on reproductive traits of White Leghorns. *Poultry Science* 87(6):1171-1181.
- Zhang, B., L. Haitao, D. Zhao, Y. Guo and A. Barri. 2011. Effect of fat type and lysophosphatidylcholine addition to broiler diets on performance, apparent digestibility of fatty acids, and apparent metabolizable energy content. *Animal Feed Science and Technology* 163(2-4): 177-184.
- Zhou, P.Y., H.L. Li, M.M. Hossain and I.H. Kim. 2015. Effect of emulsifier (lysophospholipid) on growth performance, nutrient digestibility and blood profile in weaning pigs. *Animal Feed Science and Technology* 207: 190-195.
- Zhou, X., Y. Wang, Q. Gu and W. Li. 2010. Effect of dietary probiotic, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of Guangxi Yellow chicken. *Poultry Science* 89(3): 588-593.

วิธีการทางอณูพันธุศาสตร์สำหรับการวินิจฉัยโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม

Molecular Genetic Methods for Diagnosis of White Spot Syndrome in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

รัชชานนท์ กุศลสงเคราะห์กุล วาสนา ศิริแสน ปองพล พงไธสงค์ และ วุฒิชัย เคนไชยวงศ์*

Ratchanon Kusolsongkhrokul, Vassana Sirisan, Pongphol Pongthaisong
and Wootichai Kenchaiwong*

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จ. มหาสารคาม 44000

Faculty of Veterinary Sciences, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

*Corresponding author: Email: wootken@gmail.com

(Received: 5 February 2020; Accepted: 22 April 2020)

Abstract: White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is the most shrimp cultured in the world when disease outbreaks that will affect the shrimp farming industry. White spot syndrome is an important disease due to high morbidity rate and high mortality rates. Currently, there are methods for detecting and diagnosing white spots syndrome. Recommended method is polymerase chain reaction (PCR) for screening and confirmation diagnosis according to high sensitivity and high specificity and can be detected in shrimp almost every stage. The method by using parameter including clinical sign, gross pathology, histopathology should be diagnosed with an immunological method or molecular techniques such as Polymerase Chain Reaction (PCR), Antigen-antibody detection methods, DNA sequencing, Fluorescence in-situ hybridisation (FISH) and Loop-mediated isothermal amplification techniques (LAMP). Other the transmission electron microscope, biological analysis method and cell culture can detecting and diagnosing for confirmation, but not recommended due to their low susceptibility.

Keywords: White shrimp, white spot syndrome, diagnostic, molecular methods

บทคัดย่อ: กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งสายพันธุ์ที่มีการเพาะเลี้ยงมากที่สุดในโลก เมื่อเกิดโรคระบาดจะส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้ง โดยมีโรคจุดขาวเป็นโรคที่สำคัญ เนื่องจากอัตราการป่วย และอัตราการตายสูง ในปัจจุบันมีวิธีการตรวจหาและวินิจฉัยโรคจุดขาวที่แนะนำ คือ ปฏิบัติการลูกโซ่โพลิเมอไรสเพื่อวินิจฉัยเบื้องต้นและยืนยัน เนื่องจากมีความไวและจำเพาะต่อเชื้อและสามารถตรวจได้ในกุ้งเกือบทุกระยะ วิธีการสังเกตอาการทางคลินิก วิธีการทางมหาพยาธิวิทยา จุลพยาธิวิทยา ควรได้รับการวินิจฉัยยืนยันด้วยวิธีทางภูมิคุ้มกัน หรือวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์ เช่น ปฏิบัติการลูกโซ่โพลิเมอไรส (PCR) การตรวจหาแอนติเจนแอนติบอดี การหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ การตรวจด้วยสารเรืองแสง (FISH) และเทคนิค LAMP ส่วนวิธีการกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน วิธีชีววิเคราะห์ และการเพาะเลี้ยงเซลล์ สามารถตรวจเพื่อยืนยันได้แต่ไม่แนะนำเนื่องจากมีความไวต่อเชื้อต่ำ

คำสำคัญ: กุ้งขาว โรคจุดขาว การวินิจฉัยโรค วิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

คำนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์กลุ่มครัสเตเซียนมีความสำคัญในหลายภูมิภาค ประกอบไปด้วยทวีปเอเชียคิดเป็น 89% ทวีปอเมริกา 10% โดยอีก 1% มีการเพาะเลี้ยงในทวีปแอฟริกาและในมหาสมุทร ความสำคัญในแง่ของการผลิตเชิงพาณิชย์ขนาดใหญ่ กุ้งมีความสำคัญมากที่สุดซึ่งการผลิตกุ้งทั่วโลกคิดเป็น 90% และส่วนที่เหลือคือกลุ่มครัสเตเซียนอื่นๆ อีก 10% และกุ้งที่มีการเพาะเลี้ยงมากที่สุดคิดเป็น 53% ของการเพาะเลี้ยงกุ้งทั้งหมดคือ กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) (FAO, 2018) ทั้งนี้เนื่องจากกุ้งขาวแวนนาไมเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงตามชายฝั่งทั่วโลกมีความทนทานต่อการเพาะเลี้ยงที่มีความหนาแน่นสูงและมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว สำหรับประเทศไทยพบว่ามีทิศทางเพิ่มขึ้นจากข้อมูลการผลิตกุ้งขาวแวนนาไม ปี พ.ศ. 2561 ประเทศไทยผลิตได้ 0.259 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2560 คิดเป็น 5.4% การขยายตัวของการผลิตเนื่องจากการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่มาใช้ในการผลิตและคุณภาพของอาหารมีการพัฒนา ส่งผลให้ผลผลิตต่อพื้นที่เพาะเลี้ยงเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงทั่วไปมักพบปัญหา ได้แก่ พื้นที่เพาะเลี้ยงที่มีจำกัด พันธุ์กุ้งมีความอ่อนแอส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตต่ำ ภูมิอากาศที่มีความแปรปรวนมากขึ้น และที่สำคัญอย่างยิ่ง คือ ปัญหาของโรคกุ้งที่ระบาดทั่วโลก และมีความรุนแรงมากขึ้น (FAO, 2018; Li et al., 2019; Tokrisna et al., 2015)

โรคระบาดของกุ้งจัดอยู่ในบัญชีโรคสัตว์น้ำขององค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ หากเกิดการตรวจพบในสินค้าการเกษตร ส่งผลให้เกิดการกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศ และหากติดจากพ่อแม่พันธุ์สู่ลูกกุ้ง ส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายเชื้อ สร้างความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งเพิ่มสูงขึ้น (Nunan and Lightner, 2011) โดยหนึ่งในโรคระบาดที่ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม และกุ้งชนิดอื่น คือ โรคจุดขาวเกิดจากการติดเชื้อไวรัส white spot syndrome virus (WSSV) กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับผลกระทบจากโรคจุดขาวในช่วงแรกของการติดเชื้อมักไม่แสดงอาการผิดปกติหรือรอยโรคที่บ่งชี้ เกิดความล่าช้า และคลาดเคลื่อน ส่งผลกระทบต่ออาการเพาะเลี้ยง หากกุ้งขาวมีการติดเชื้อระยะหนึ่งจะพบอาการป่วยแบบเฉียบพลันซึ่งมีอัตราการตายสูงถึง 80-100% ภายใน 5 วันหลังติดเชื้อ (National Bureau of Agriculture Commodity and Food Standards, 2007) ส่วนอาการแบบเรื้อรังพบว่ากุ้งที่ติดเชื้อจะไม่มีรอยโรคและไม่ตาย ซึ่งในกรณีนี้ถือว่าเป็นสิ่งที่ต้องระวัง เนื่องจากจะส่งผลกระทบในอุตสาหกรรมส่งออกกุ้ง และการคัดเลือกกุ้งเป็นพ่อแม่พันธุ์เนื่องจากเชื้อสามารถติดผ่านทางไข่ได้ (National Bureau of Agriculture Commodity and Food Standards, 2007; OIE, 2006) มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติได้กำหนดให้มีการชันสูตรโรคจุดขาวในกุ้งขาว 2 วิธีหลัก ได้แก่ การตรวจด้วยวิธีทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology method) และการตรวจด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์ เช่น ปฏิบัติการห่วงโซ่โพลิเมอไรส

(polymerase chain reaction (PCR) method) อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยที่ดีควรสามารถยืนยันการติดเชื้อได้อย่างรวดเร็ว และต้องมีความไวและจำเพาะต่อโรคเป็นสำคัญ โดยส่วนใหญ่มักเป็นวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์ (Durand and Lightner, 2002; Piepenburg *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2014) ดังนั้นในบทความนี้จึงอธิบายวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม ทั้งวิธีแบบดั้งเดิมและวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์ เพื่อให้เห็นถึงความเหมาะสมในการการวินิจฉัยโรคจุดขาวที่มีความไวและจำเพาะต่อเชื้อ เพื่อลดความเสียหายจากการติดเชื้อสำหรับการวางแผนการรักษา และการป้องกันโรคที่จะแพร่กระจายต่อไป

โรค และสถานการณ์การระบาดของโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม

โรคในกุ้งขาวแวนนาไมที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ โรคจุดขาว (white spot syndrome) โรคไอ เอ ช เอ ช เอ็น (infectious hypodermal and hematopoietic necrosis; IHNN) โรค แคร ระ แกร ริน (hematopoietic necrosis; RDS) โรค ท อ ร่า (taura syndrome) โรค กล้าม เนื้อ ตาย ติด ต่อ (infectious myonecrosis; IMN) โรค หัว เหลือง (yellow head disease) โรค กุ้ง ตาย ด่วน หรือ กลุ่มอาการตายด่วน (shrimp early mortality syndrome; EMS) หรือ กลุ่มอาการตับ และ ตับอ่อน ตาย เฉียบพลัน (acute hepatopancreatic necrosis syndrome; AHPNS) (Srisuvan, 2008)

โรคจุดขาวเกิดจากการติดเชื้อไวรัส white spot syndrome virus (WSSV) อยู่ในสกุล *Whispovirus* วงศ์ *Nimaviridae* โดยกุ้งติดเชื้อจะแสดงอาการที่เนื้อเยื่อชั้นเอ็กโทเดิร์ม (ectoderm) และเมโซเดิร์ม (mesoderm) ประกอบไปด้วย ชั้นหนังกำพร้า เหงือก ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย ต่อมน้ำเหลือง อวัยวะสืบพันธุ์ อวัยวะขับถ่าย (antennal gland) เซลล์ต้นกำเนิดของเลือด (hematopoietic stem cells) และเซลล์ที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนเซลล์เยื่อของอวัยวะที่กำเนิดจากชั้นเอนโดเดิร์ม เช่น ตับร่วมตับอ่อน (hepatopancreas) (Reddy *et al.*, 2013) อัตราการตายที่สูงจากการติดโรค

จุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม (Wang *et al.*, 2019) มีสาเหตุจากความไวต่อการติดเชื้อร่วมกับปัจจัยความเครียดจากสารก่อโรคอื่น ๆ หรือ สภาพแวดล้อมที่ไม่เอื้ออำนวย กุ้งกลุ่มที่เนี่ยดมีความไวสูงต่อการติดเชื้อส่งผลให้ความชุกของการเกิดโรคมีความแปรปรวนสูงตั้งแต่ 1% ในประชากรตามธรรมชาติที่ติดเชื้อไปจนถึง 100% ของประชากรในบ่อเลี้ยง (Lo and Kou, 1998) โรคจุดขาวถูกตรวจพบจากกลุ่มครัสเตเชียนในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี เอเซียตะวันออกเฉียงใต้ เอเชียใต้ อินเดีย เมดิเตอร์เรเนียน ตะวันออกกลางและอเมริกา (Rodriguez-Anaya *et al.*, 2016) อาการแสดงทางคลินิกโดยการสังเกตลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปประกอบด้วย มีพฤติกรรมเชื่องซึม หลังจากนั้นจะกินอาหารน้อยลง ขนาดแตกต่างกัน กุ้งจะว่ายรวมบริเวณขอบสถานที่เลี้ยง และภายใน 2-4 วันจากการปรากฏตัวจะพบการตายบริเวณขอบสถานที่เลี้ยง อัตราการป่วย และอัตราการตายสูง ลักษณะภายนอกพบว่ากุ้งมีจุดสีขาวบนเปลือกซึ่งเป็นอาการทางคลินิกทั่วไปของการติดเชื้อไวรัสจุดขาว (OIE, 2006)

หลักการการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมเป็นสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลัง และระบบไหลเวียนเลือดเป็นแบบระบบเปิด (open circulatory system) มีระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific immunoglobulin) ไม่มีระบบการตอบสนองที่เป็นแบบอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) แต่พึ่งพาภูมิคุ้มกันที่มีตั้งแต่กำเนิด รวมถึงระบบภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำในน้ำเลือด (humoral immunity) เพื่อจดจำและกำจัดผู้บุกรุกต่าง ๆ (Li *et al.*, 2019) โดยสรุปแล้วกุ้งขาวแวนนาไมมีการตอบสนองภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคจุดขาว 3 ระบบ ได้แก่ 1) ระบบภูมิคุ้มกันแบบเซลล์ (cellular immunity) ประกอบด้วยเซลล์ไฮยาลิน (hyaline cells) เซลล์เซมิแกรนูล (semi-granular cells) และเซลล์แกรนูล (granular cells) อาศัยการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดในการทำลายสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรคที่สามารถเข้าสู่ร่างกาย (Smith and Soderhall, 1993; Hannon, 2002) 2) ระบบภูมิคุ้มกันในน้ำเลือด (humoral immunity) มีการทำงาน

โดยอาศัยเซลล์เม็ดเลือดของกุ้งจะมีการผลิตสารโปรตีน ทำหน้าที่ช่วยในการจดจำ และเข้าจับกับโมเลกุลของสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรค ซึ่งมีชื่อเรียกว่า pattern recognition protein (PRPs) (Wang and Wang, 2013) 3) ระบบการยับยั้งอาร์เอ็นเอ (RNA interference) ซึ่งมีบทบาทในการต้านเชื้อไวรัสตามธรรมชาติ (Labreuche and Warr, 2013) เป็นการตอบสนองทางชีวภาพผ่านการรับรู้ของอาร์เอ็นเอสายคู่เป็นการยับยั้งกระบวนการแสดงออกของยีน และการสร้างโปรตีนเป้าหมายภายในเซลล์ (post-transcriptional gene silencing) ซึ่งเป็นตัวกลางที่ต้านทานต่อปรสิตภายในและกรดนิวคลีอิกของเชื้อจากภายนอก และควบคุมการแสดงออกของยีนที่เข้ารหัสโปรตีน (Hanon, 2002; Geley and Muller, 2004) ในส่วนของระบบภูมิคุ้มกัน RNAi ได้ถูกนำไปใช้สำหรับการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immunity) ผ่านรูปแบบของการพัฒนาวัคซีน (Syed Mustahq and Kwang, 2014)

จากความรู้ด้านระบบภูมิคุ้มกันส่วนใหญ่นำมาประยุกต์ใช้สำหรับการป้องกันมากกว่าการรักษา เนื่องจากอัตราการตายจากการเป็นโรคจุดขาวของกุ้งขาวแวนนาไม สูงมากกว่า 80% (National Bureau of Agriculture Commodity and Food Standards, 2007) โดย Nilsen *et al.* (2017) ศึกษาการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยนำเอา VP28 ซึ่งเป็นโปรตีนบนพื้นผิวของไวรัสโรคจุดขาวมาทำหน้าที่เสมือนเป็น RNAs สายคู่ (dsRNA) เพื่อกระตุ้นการสังเคราะห์ siRNA เพื่อใช้ในกระบวนการยับยั้งอาร์เอ็นเอ (RNAi) นำไปสู่กระบวนการยับยั้งการสร้างโปรตีนของเชื้อไวรัสตั้งแต่กระบวนการถอดรหัสของ mRNA ซึ่งรูปแบบของการใช้ VP28 เช่น การให้กินสาหร่ายสีเขียว *Chlamydomonas reinhardtii* ที่ดัดแปลงพันธุกรรมให้มีโปรตีนห่อหุ้มไวรัส VP28 ซึ่งส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 87% (Kiatarangul *et al.*, 2020)

วิธีการตรวจหาและวินิจฉัยโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับผลกระทบจากโรคจุดขาวในช่วงแรกของการติดเชื้อมักไม่แสดงอาการผิดปกติหรือรอยโรคที่บ่งชี้ เกิดความล่าช้า และคลาดเคลื่อน

ส่งผลกระทบต่อการใช้ (National Bureau of Agriculture Commodity and Food Standards, 2007) จากการกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ได้กำหนดเรื่องของการขนส่งโรคจุดขาวในกุ้ง คือ การตรวจด้วยวิธีทางจุลพยาธิวิทยา และการตรวจด้วยวิธีปฏิกิริยาห่วงโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยที่ดีควรสามารถยืนยันการติดเชื้อได้อย่างรวดเร็ว มีความไวและจำเพาะต่อโรค ราคาถูก และเหมาะสมต่อการใช้งาน

1. การตรวจด้วยวิธีดั้งเดิม (Conventional method)

การตรวจมหัพยาธิวิทยา (gross pathology) เป็นวิธีหนึ่งในการตรวจด้วยวิธีดั้งเดิม โดยสังเกตลักษณะภายนอก ร่วมกับอาการทางคลินิกมีอัตราการป่วย และอัตราการตายสูง หรือใช้การตรวจเนื้อเยื่อหลังจากย้อมด้วยสีย้อม แล้วตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ทั้งแบบใช้แสง (light microscope) หรือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscopy: TEM) เพื่อศึกษาพยาธิสภาพของโรคด้วยโดยใช้เนื้อเยื่อสดของส่วนที่เป็นรอยโรค ซึ่งเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสจะพบลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดใหญ่ (hypertrophied) และเห็นการติดสีแดงก่อน (Cowdry A-type inclusions) (National Bureau of Agriculture Commodity and Food Standards, 2007) สำหรับเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการเก็บรักษาด้วยวิธีการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ตรวจพบการติดสีน้ำเงิน โดยพบ intranuclear inclusion bodies ในอวัยวะเป้าหมายหลายอวัยวะ เช่น เนื้อเยื่อกระดูกอาหาร เนื้อเยื่อฮีมาโตปอยอิติก (hematopoietic tissue) เหนือก อวัยวะลิมโฟอิด (lymphoid organ) (Badhul Haq *et al.*, 2015) และหากใช้กล้องใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านนำมาใช้ในสังเกตรอยโรคและการสร้างภาพของไวรัส โดย Hipolito *et al.* (2012) รายงานว่า หากด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าร้อยละ 90 ของตัวอย่างที่เป็นโรคจำขาว จะตรวจพบรูปร่างของไวรัสรูปร่างเป็นวงรี (avoid shape) มีความยาว 230-290 นาโนเมตร และมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 80-160 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังประยุกต์ใช้ TEM ร่วมกับการตรวจด้วยแอนติเจน-แอนติบอดีที่เรียกว่า

immunoelectron microscopy (IEM) โดยอาศัยแอนติบอดีของโปรตีน VP664 โดยพบว่าร้อยละ 90 ของตัวอย่างที่เป็นโรคจุดขาวมีอนุภาครวมที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีและไวรัส (antibody-virus aggregate) (Hipolito *et al.*, 2012) เทคนิคนี้นำมาใช้ในการตรวจหาไวรัสได้หลายชนิดทั้ง paramyxovirus retrovirus และ coronavirus (Catroxo *et al.*, 2010) ส่วนวิธีการตรวจทางระบบภูมิคุ้มกัน (Immunocytochemistry) โดยอาศัยหลักการการเกิดแอนติเจนแอนติบอดีคอมเพล็กซ์ซึ่งมีหลายวิธี เช่น western blot analysis, immunodot assay, indirect fluorescent antibody test (IFAT), immunohistochemistry (IHC) และ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Sithigorngul *et al.*, 2006; Yoganandhan *et al.*, 2004) นอกจากนี้มีวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยใช้เซลล์จากอวัยวะน้ำเหลือง รังไข่และมดเลือด แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สามารถวัดปริมาณของเชื้อโดยวิเคราะห์จากการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (cytopathic effect) และการตายของเซลล์ เพื่อกำหนดจุดสิ้นสุดการติดเชื้อของเซลล์ที่เพาะเลี้ยง (tissue culture infectivity dose; TCID₅₀) อย่างไรก็ตามวิธีนี้พบว่าความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนและองค์ประกอบของสารเลี้ยงเชื้อแตกต่างกันทำให้ยากต่อการนำมาปฏิบัติ (Assavalapsakul *et al.*, 2003; Jiang *et al.*, 2006)

2. การตรวจด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์ (Molecular diagnostics)

การตรวจด้วยสารเรืองแสง (Fluorescence in-situ hybridization; FISH)

เป็นวิธีการตรวจหาดีเอ็นเอที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่จำเพาะในเซลล์ที่แสดงอาการหรือสงสัยการติดเชื้อ โดยอาศัยดีเอ็นเอโพรบ (DNA-probe) ที่มีขนาดประมาณ 50-100 นิวคลีโอไทด์ และติดสารเรืองแสงที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุเอาไว้ที่โพรบ ซึ่งโพรบจะเข้าไปจับกับกรดนิวคลีอิกเป้าหมายที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์คู่สมกับดีเอ็นเอโพรบภายในเซลล์ ในการแปลผลนั้นให้พิจารณาจากการปรากฏของสีที่ติดฉลากไว้บนโพรบซึ่งต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์แบบ fluorescent microscope (Nunan

and Lightner, 1997) โดยกุ้งขาวที่มีการติดเชื้อไวรัส WSSV จะปรากฏตะกอนเป็นสีน้ำเงินเข้มถึงดำ หากผลเป็นลบตะกอนมีสีเหลืองถึงน้ำตาล นอกจากการวินิจฉัยเชื้อไวรัสแล้ว FISH ยังใช้ในการศึกษาชนิดของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อตับ ลำไส้ และน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง (Jirattiwatukul, 2007) ซึ่ง FISH เป็นวิธีที่มีความไวและจำเพาะสูง อย่างไรก็ตามไม่เหมาะสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคหรือความผิดปกติของลำดับนิวคลีโอไทด์สั้นกว่า 20 กิโลเบส ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธี PCR ที่สามารถวิเคราะห์ความผิดปกติในระดับพันธุกรรมได้อย่างจำเพาะเจาะจงและมีความไวสูงมาก (Siriboonpiputtana *et al.* 2017)

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบเนสต์ (Nested PCR)

เป็นวิธีการตรวจทดสอบที่เป็นมาตรฐานที่เป็นที่ยอมรับ (gold standard) ที่ OIE (2006) แนะนำให้ใช้ในการตรวจ WSSV ในกุ้ง โดยการตรวจขั้นแรกทำการสกัดดีเอ็นเอ หลังจากนั้นทำตามขั้นตอน first-step PCR และ second step of the (nested) PCR ตามลำดับ ซึ่งอาศัยไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ ดังแสดงใน Table 1 การอ่านผลโดยวิธีการเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส แล้วนำไปอ่านผลภายใต้แสงยูวี โดยเทียบกับแถบตัวบ่งชี้ แถบควบคุม และแถบตัวอย่าง ผลลัพธ์ที่เป็นบวกในขั้นตอนแรกของเกณฑ์วิธีมาตรฐานหมายถึง การติดเชื้อไวรัสโรคจุดขาวรุนแรง ในขณะที่เมื่อได้รับผลลัพธ์เป็นบวกในขั้นตอนที่สองเท่านั้น แสดงว่าเป็นการติดเชื้อแฝงหรือพาหะ (Nunan and Lightner, 2011) นอกจากการอ่านผลภายใต้แสงยูวีหรืออ่านผลด้วยแถบดีเอ็นเอแล้ว ผลผลิต PCR ยังสามารถประเมินด้วยเทคนิค loop-mediated isothermal amplification (LAMP) ทำให้การอ่านผลง่ายและสะดวกขึ้นโดยเฉพาะในกรณีการวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการ โดยใช้เวลาในกระบวนการประมาณ 60 นาที (Kono *et al.*, 2004) โดยหลังจากได้ผลผลิต PCR จากขั้นตอนปกติแล้วให้นำเข้าสู่เทคนิค LAMP ซึ่งการแปลผลสามารถพิจารณาจากความขุ่นจากตะกอนสีขาวของ magnesium pyrophosphate โดยนำหลอดทดสอบไปปั่นให้ตกตะกอน ถ้าเกิดการเพิ่มขยายยีน จะพบตะกอนสีขาว นอกจากนั้นยังพิจารณาจากสีเรืองแสง โดยใช้สารฟลูออเรสเซนต์ เช่น SYBR Green I เดิมหลังจากผ่านเทคนิค LAMP แล้ว ถ้ามีผลิตภัณฑ์

Table 1. The primers for molecular methods of white spot syndrome virus detection

Methods	Sequence 5'-3'	Product size (bp)	References
RPA	F: CATGGATGAAAACCTCCGCATTCTGTGAC R: CATCAGACTTTCCATTGCGGATCTTGATTTTG Prob: TGCTGAGGTTGGATCAGGCTACTTCAAGA(BHQ1-dT) G(THF)C(FAM-dT)GATGTGTCCTTTGAC (phosphate)	124	Yang <i>et al.</i> (2014)
Nested-PCR	F1: ACTACTAACTTCAGCCTATCTAG R1: TAATGCGGGTGTAAATGTTCTTACGA F2: GTAAGTCCCCCTTCCATCTCCA R2: TACGGCAGCTGCTGGACCTTGT	1447 941	Durand and Lightner (2002)
Duplex qPCR	WSSV-F: 'GCTGCCTTGCCGGAATTA WSSV-R: AGCCATGAAGAATGCCGTCTATCACACA Prob-r: 6-carboxyfluorescein (FAM) at the 5' Prob-q: BHQ1 at the 3' IHNV-F: TAC TCC GGA CAC CCA ACC A IHNV-R: GGC TCT GGC AGC AAA GGT AA ^{1/} Prob-q: N,N,N',N'-tetramethyl-6-carboxyrhodamine (TAMRA) ^{1/} Prob-r: 6-carboxyfluorescein (FAM) at the 5'	-	Leal <i>et al.</i> (2014), Durand and Lightner (2002)
PCR	F: AATGGTCCCGTCCTCATCTCA R: GCTGCCTTGCCGGAATTT	71	Tsai <i>et al.</i> (2012)
qPCR	F: 'GCTGCCTTGCCGGAATTA R: AGCCATGAAGAATGCCGTCTATCACACA Prob-r: 6-carboxyfluorescein (FAM) at the 5' Prob-q: BHQ1 at the 3'	-	Durand and Lightner (2002)

^{1/} BHQ1-dT: thymidine nucleotide carrying Blackhole quencher, THF: tetrahydrofuran spacer, FAM-dT: thymidine nucleotide carrying Fluorescein, phosphate: block elongation

เกิดขึ้นจะเปลี่ยนสีตั้งต้น (สีส้ม) ให้กลายเป็นสีเขียวเมื่อฉายภายใต้แสง UV (302 nm) (Mori *et al.*, 2001)

Quantitative-PCR (qPCR)

เป็นเทคนิคในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม พร้อมทั้งสามารถวัดปริมาณของสารพันธุกรรมโดยอาศัยการเรืองแสงของสีฟลูออเรสเซนต์ โดยมีหลักการคือ เริ่มต้นด้วย mRNA แล้วเปลี่ยนให้เป็น cDNA โดยอาศัยเอนไซม์ reverse transcriptase จากนั้นนำเข้าสู่ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ การศึกษาในกุ้งมักใช้พลาสมิดที่มีชิ้นส่วนจีโนมของ WSSV (U50923) สำหรับการเป็น positive control และทดสอบความไวโดยเจือจางลง 10

เท่า ให้มีจำนวน copies ในช่วง $2 - 2 \times 10^5$ copies ในการสร้าง standard curves และมักใช้โพรบ TaqMan และ FAM-BHQ1 (Durand and Lightner, 2002) ซึ่งเครื่อง real time PCR มีตัววัดการเรืองแสงของสีฟลูออเรสเซนต์อิสระ ระหว่างปฏิกิริยา DNA polymerase เป็นตัวที่ย่อยฉลากเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ให้หลุดออกจากโพรเมอร์ กลายเป็นฟลูออเรสเซนต์อิสระ ซึ่งจำนวนสีฟลูออเรสเซนต์อิสระที่ตรวจวัดนั้นแปรผันกับปริมาณสารพันธุกรรม (Chou *et al.*, 2011; Jang *et al.*, 2009; Leal, 2013) ในการวินิจฉัยโรค WSSV ได้นำเทคนิค qPCR มาประยุกต์ใช้โดยอาศัยเอนไซม์ reverse transcriptase เรียกเทคนิคนี้

ว่า recombinase polymerase amplification (RPA) ซึ่งปฏิกิริยานี้สามารถทำในขั้นตอนเดียวโดยลดขั้นตอนของการเตรียม cDNA นอกจากนี้วิธี RPA ยังใช้อุณหภูมิ (32-42 °C) ซึ่งต่ำกว่าปฏิกิริยา PCR ทั่วไป ในการเพิ่มจำนวนหรือสังเคราะห์ DNA นั้นแสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาสามารถเกิดขึ้นได้แม้อยู่ที่อุณหภูมิปกติ ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นวิธีที่รวดเร็วในการวินิจฉัยโรค (Piepenburg, 2006; Yang *et al.*, 2014) การใช้เทคนิค qPCR ยังถูกพัฒนามาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคที่มีสาเหตุจากไวรัสในกุ้งได้พร้อมกันสองเชื้อ ด้วยเทคนิค duplex qPCR ซึ่งสามารถจำแนกการติดเชื้อ WSSV และ infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) ในกุ้งขาวได้โดยใช้ความเข้มข้นของดีเอ็นเอในพลาสมิด เพียง 2-20 copies/ปฏิกิริยา และ 2×10^5 copies/ปฏิกิริยา สำหรับการวินิจฉัย WSSV และ IHHNV ตามลำดับ ซึ่งถือว่าความไวและจำเพาะในการตรวจวินิจฉัยในระดับสูง (Lael *et al.*, 2014)

การหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ

เป็นการตรวจวินิจฉัยในระดับพันธุกรรมของเชื้อไวรัส โดยนำชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (amplicon) จากขั้นตอนของ nested PCR มาจัดลำดับ โดยเริ่มจากทำให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เลือกจากออกาโรสเจลบริสุทธิ์ หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สามารถจำลองเข้าไปในพลาสมิดของเวกเตอร์ ก่อนการจัดลำดับ หลังจากนั้นขยายพลาสมิดลูกผสม และทำให้บริสุทธิ์เพื่อจัดลำดับดีเอ็นเอ โดยใช้โปรแกรมที่เหมาะสมเพื่อจัดลำดับชิ้นส่วนดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล basic local alignment search tool (BLAST) โดย OIE แนะนำการหาลำดับและการวิเคราะห์แอมพลิคอน จากวิธีการเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส แล้วนำไปอ่านผลภายใต้แสงยูวี (Claydon *et al.*, 2004)

การเปรียบเทียบการตรวจและวินิจฉัยโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม

วิธีการวินิจฉัยโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม มีข้อดีและข้อเสียที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบที่แตกต่างกัน รวมถึงความเหมาะสมในการตรวจวินิจฉัยที่แตกต่างกันตามสถานการณ์ ประกอบด้วย การตรวจวินิจฉัยเบื้องต้น (Presumptive test) ใช้สำหรับงานภาคสนาม

จัดเป็นวิธีการวินิจฉัยที่ต้องการความสะดวก รวดเร็ว และราคาถูก แต่การวินิจฉัยไม่มีความแม่นยำหากการติดเชื้อมีระดับต่ำ ได้แก่ วิธีการย้อมสีแบบรวดเร็วซึ่งใช้เนื้อเยื่อสดของส่วนที่แสดงรอยโรค ต่างกับการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาที่เนื้อเยื่อจะต้องผ่านกระบวนการเก็บรักษาให้คงสภาพมาก่อน จึงทำให้ความสะดวกและความรวดเร็วน้อยกว่าการใช้เนื้อเยื่อสด (National Bureau of Agriculture Commodity and Food Standards, 2007) ในขณะที่วิธีการตรวจหาแอนติเจน-แอนติบอดี เป็นวิธีที่มีราคาสูงขึ้นหากใช้ชุดทดสอบ (test kit) อีกทั้งมีความแม่นยำน้อยลงหากการติดเชื้อมีในระดับต่ำ จึงเหมาะสมสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคจุดขาวแบบเฉียบพลันเท่านั้น (OIE, 2018) นอกจากนี้ผลการตรวจยังให้บวกลดคล้ายกับเชื้อไวรัสอีกหลายชนิด (Catroxo *et al.*, 2010) ส่วนการตรวจวินิจฉัยยืนยัน (confirmative test) ส่วนใหญ่มักเป็นวิธีทางอณูพันธุศาสตร์ ซึ่งเหมาะสมกับการตรวจวินิจฉัยที่ต้องการความไวและจำเพาะต่อเชื้อสูงขึ้น ตรงกันข้ามทำให้ความสะดวกและความรวดเร็วในการวินิจฉัยลดลง แต่วิธีการดังกล่าวมีขั้นตอนยุ่งยากและใช้ระยะเวลานาน (Figure 1)

สำหรับการเปรียบเทียบระหว่างวิธี nested PCR ถึงแม้จะมีความไวและความจำเพาะในการตรวจเชื้อ WSSV แต่เนื่องจากต้องใช้ PCR สองครั้งเพื่อให้ได้ปริมาณดีเอ็นเอตามที่ต้องการ จึงใช้เวลาในการวินิจฉัยมากขึ้นและมีโอกาสให้ผลบวกที่ผิดพลาด (false positive) ได้ เมื่อเทียบกับวิธี qPCR (Nunan and Lightner, 2011; Leal *et al.*, 2014) หากเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะต่อโรคของวิธี qPCR พบว่า มีมากกว่า โดยพบว่าวิธี nested PCR จะมีความไว 100% เมื่อตัวอย่างมีความเข้มข้นของดีเอ็นเอมากกว่า 150 ng ในขณะที่ qPCR ต้องการความเข้มข้นของดีเอ็นเอน้อยกว่า 50 ng ซึ่งเหมาะสมมากในการตรวจวินิจฉัยโรคจุดขาวในลูกกุ้งขาวตั้งแต่ลวลา ถึงระยะโพสต์ลวลา ซึ่งเป็นระยะที่มีการขนย้ายระหว่างฟาร์ม (Jang *et al.*, 2009; Leal *et al.*, 2014)

จะเห็นว่าความแม่นยำของวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคจะขึ้นอยู่กับระดับของเชื้อที่กุ้งได้รับแล้ว ยังมีปัจจัยเนื่องจากระยะต่าง ๆ ของกุ้งที่ติดเชื้อมด้วย โดย OIE

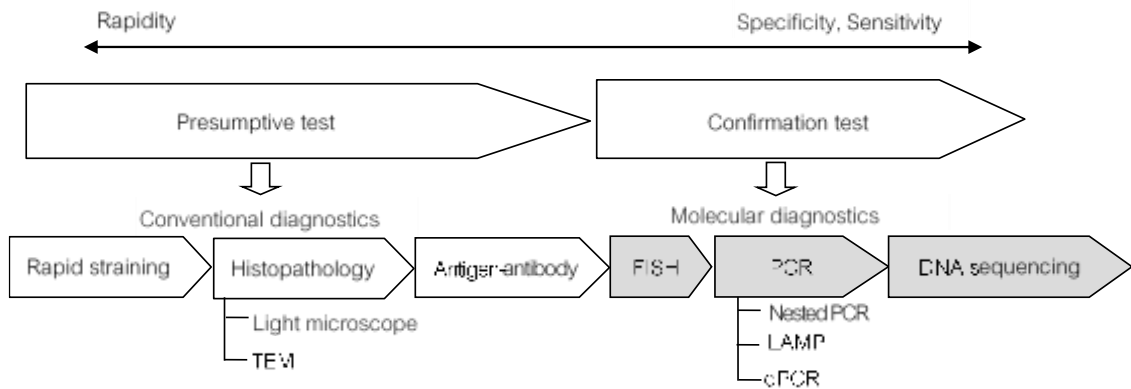


Figure 1. The summary of WSSV diagnostic methods in shrimp. Conventional diagnostic methods are usually for presumptive test, which emphasizes rapid results. Molecular methods are appropriate for confirmation test

(2018) ระบุว่าในกุ้งระยะลาร์วา (larvae) ไม่มีวิธีที่เหมาะสมต่อการวินิจฉัยเนื่องจากไม่มีความจำเพาะและไวต่อการติดเชื้อ ส่วนในระยะโพสต์ลาร์วา (Post larvae) การวินิจฉัยเบื้องต้นแนะนำวิธีทางจุลพยาธิวิทยา ส่วนปฏิกิริยาถูกใช้โพลิเมอเรสสามารถใช้วินิจฉัยเบื้องต้นและยืนยันได้เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยที่ดี สะดวกและรวดเร็ว ในขณะที่กุ้งในระยะรุ่นและระยะตัวเต็มวัยเป็นระยะที่มีการพบอาการมากกว่าระยะอื่น (National Bureau of Agriculture Commodity and Food Standards, 2007) การวินิจฉัยเบื้องต้นแนะนำการสังเกตอาการทางคลินิก โดยหากพบอาการแบบเฉียบพลัน พบอัตราการตาย 80-100% ในช่วง 1-5 วัน หลังแสดงอาการ การตรวจจุลพยาธิวิทยา พบลักษณะของจุดขาวที่เปลือกและการตรวจจุลพยาธิวิทยาพบ inclusion body ภายในนิวเคลียสหากเป็นวิธีการตรวจหาแอนติเจนแอนติบอดี ปฏิกิริยาถูกใช้โพลิเมอเรสเทคนิค LAMP และ FISH สามารถใช้วินิจฉัยเบื้องต้นและยืนยันได้ เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความจำเพาะในการวินิจฉัยที่ดี สะดวกและรวดเร็ว ส่วนการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน วิธีชีววิเคราะห์การเพาะเลี้ยงเซลล์ ไม่เหมาะสมในกุ้งทุกระยะเนื่องจากไม่สะดวกและไม่มีความไวต่อการติดเชื้อต่ำ

สรุป

แนวทางการตรวจวินิจฉัยโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม ควรมีความจำเพาะและไวต่อการติดเชื้อ สะดวก และราคาถูก เหมาะสำหรับการตรวจเพื่อยืนยันได้ เพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อในกลุ่มกุ้งพ่อแม่พันธุ์ และลดความเสียหายจากการกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศ วิธีที่เหมาะสมในการตรวจเมื่อสงสัยและต้องการวินิจฉัยการติดเชื้อโรคจุดขาวควรใช้วิธีมาตรฐานที่ยอมรับและแนะนำจาก OIE คือ วิธี nested PCR ในการวินิจฉัยเบื้องต้นและเป็นการยืนยัน เนื่องจากมีความไวและจำเพาะต่อการติดเชื้อสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคในระยะลูกกุ้ง ตั้งแต่ระยะลาร์วาถึงระยะโพสต์ลาร์วา ซึ่งเป็นระยะที่มีการขนย้ายระหว่างฟาร์ม วิธีที่เหมาะสมคือต้องมีวิธี qPCR เนื่องจากสามารถตรวจจากดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้นเพียง 50 ng ในระดับฟาร์มเกษตรกรตรวจเมื่อสงสัยการเกิดโรคจุดขาว ควรเริ่มที่การสังเกตอาการทางคลินิก และการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นใช้สำหรับงานภาคสนามที่ต้องการความสะดวก รวดเร็ว เช่น ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูปของการตรวจหาแอนติเจนแอนติบอดี จากนั้นจึงส่งตรวจในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีทางจุลพยาธิวิทยา จุลพยาธิวิทยา และควรยืนยันการวินิจฉัยอีกครั้งด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์อื่นๆ ที่ง่าย เช่น เทคนิค LAMP และ FISH ส่วนวิธีชีววิเคราะห์และการเพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นวิธีที่ไม่แนะนำเนื่องจากการป้องกันการปนเปื้อนและการกระจายของโรคค่อนข้างยาก

ในการตรวจวินิจฉัยโรคจุดขาวในกุ้งขาวแวนนาไม ควรมีการตรวจตัวชี้วัดทางชีวภาพที่จำเพาะและไวต่อเชื้อสูง อีกทั้งคงอยู่ได้นานพอที่จะสามารถตรวจได้ เพื่อใช้ในการประเมินความรุนแรง และความเสียหายที่จะเกิดขึ้นร่วมกับวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์อื่น ๆ มีการตรวจความต้านทานของกุ้งเพื่อนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์และในอนาคตอาจมีการพัฒนาวัคซีนสำหรับการป้องกันโรคจุดขาวที่ใช้เชิงพาณิชย์ ทั้งในรูปแบบการฉีดและการกินเพื่อลดความสูญเสียหากเกิดการระบาดของโรค

เอกสารอ้างอิง

- Assavalapsakul, W., D.R. Smith and S. Panyim. 2003. Propagation of infectious yellow head virus particles prior to cytopathic effect in primary lymphoid cell cultures of *Penaeus monodon*. Diseases of Aquatic Organisms 55(3): 253-258.
- Badhul Haq, M.A., K. Durgadevi, M.N. Banu, A.S. Ahamed, C. Tiwary and M. Srinivasan. 2015. Detection of white spot syndrome virus (WSSV) in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in southern India using PCR, SEM and histological techniques. Indian Journal of Biotechnology 14: 369-375.
- Catroxo, M.H.B., D.L. Taniguchi, N.A. Melo, L. Milanelo, S. Petrella, M. Alves, A.M.C.R.P.F. Martins and M.M. Rebouças. 2010. Viral research in Brazilian owls (*Tyto alba* and *Rhinoptynx clamator*) by transmission electron microscopy. International Journal of Morphology 28(2): 627-636.
- Chou, R., A. Qaseem, D.K. Owens and P. Shekelle. 2011. Diagnostic imaging for low back pain: advice for high-value health care from the American College of Physicians. Annals of Internal Medicine 154(3): 181-189.
- Claydon, K., B. Cullen and L. Owens. 2004. OIE white spot syndrome virus PCR gives false-positive results in *Cherax quadricarinatus*. Diseases of Aquatic Organisms 62(3): 265-268.
- Durand, S.V and D.V. Lightner. 2002. Quantitative real time PCR for the measurement of white spot syndrome virus in shrimp. Journal of Fish Diseases 25(7): 381-389.
- FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018; Meeting the Sustainable Development Goals. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Geley, S. and C. Müller. 2004. RNAi: ancient mechanism with a promising future. Experimental Gerontology 39(7): 985-998.
- Hannon, G.J. 2002. RNA interference. Nature 418(6894): 244-251.
- Hipolito, M., M.H.B. Catroxo, A.M.C.R.P.F. Martins, N.A. Melo, E.M. Pituco, N.T.C. Galletti, M.J.T. Ranzani-Paiva, J.L.P. Mourão and C.M. Ferreira. N. 2012. Detection of white spot syndrome virus in brazil using negative staining, immunoelectron microscopy and immunocytochemistry techniques. International Journal of Morphology 30(2): 761-768.
- Jang, A.C.C, Y.-C. Chang, J. Bai and D. Montell. 2009. Border-cell migration requires integration of spatial and temporal signals by the BTB protein Abrupt. Nature Cell Biology 11(5): 569-579.
- Jiang, Y.S., W.B. Zhan, S.B. Wang and J. Xing. 2006. Development of primary shrimp hemocyte cultures of *Penaeus chinensis* to study white spot syndrome virus (WSSV) infection. Aquaculture 253(1): 114-119.
- Jirattiwatukul, W. 2007. Application of cecropin D for controlling of luminescent bacteria in

- Litopenaeus vannamei* Boone. M.S. Thesis. Thaksin University, Songkhla. 97 p. (in Thai)
- Kiataramgul, A., S. Maneenin, S. Purton, N. Areechon, I. Hirono, T.W. Brocklehurst and S. Unajak. 2020. An oral delivery system for controlling white spot syndrome virus infection in shrimp using transgenic microalgae. *Aquaculture* 521: 735022, doi: 10.1016/j.aquaculture. 2020.735022.
- Kono, T., R. Savan, M. Sakai and T. Itami. 2004. Detection of white spot syndrome virus in shrimp by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods* 155(1): 59-65.
- Labreuche, Y. and G.W. Warr. 2013. Insights into the antiviral functions of the RNAi machinery in penaeid shrimp. *Fish & Shellfish Immunology* 34(4): 1002-1010.
- Leal, C.A.G, A.F. Carvalho, R.C. Leite and H.C.P. Figueiredo. 2014. Development of duplex real-time PCR for the detection of WSSV and PstDV1 in cultivated shrimp. *BMC Veterinary Research* 10(1):150, doi: 10.1186/1746-6148-10-150.
- Leal, W.S. 2013. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins and degrading enzymes. *Annual Review of Entomology* 58(1): 373-391.
- Li, C., S. Weng and J. He. 2019. WSSV-host interaction: host response and immune evasion. *Fish & Shellfish Immunology* 84: 558-571.
- Lo, C.F. and G.-H. Kou. 1998. Virus-associated white spot syndrome of shrimp in Taiwan: a review. *Fish Pathology* 33(4): 365-371.
- Mori, Y., K. Nagamine, N. Tomita and T. Notomi. 2001. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 289(1): 150-154.
- National Bureau of Agriculture Commodity and Food Standards. 2007. Diagnostic test of white spot disease in shrimp. (Online). Available: [http://www.acfs.go.th/standard/download/std_diagnostic_spot_shrimp \(old_not_complete\).pdf](http://www.acfs.go.th/standard/download/std_diagnostic_spot_shrimp (old_not_complete).pdf) (April 29, 2019). (in Thai)
- Nilsen, P., M. Karlsen, K. Sritunyalucksana and S. Thitamadee. 2017. White spot syndrome virus VP28 specific double-stranded RNA provides protection through a highly focused siRNA population. *Scientific Reports* 7: 1028, doi: 10.1038/s41598-017-01181-w.
- Nunan, L.M. and D.V. Lightner. 1997. Development of a non-radioactive gene probe by PCR for detection of white spot syndrome virus (WSSV). *Journal of Virological Methods* 63(1): 193-201.
- Nunan, L.M. and D.V. Lightner. 2011. Optimized PCR assay for detection of white spot syndrome virus (WSSV). *Journal of Virological Methods* 171(1): 318-321.
- OIE. 2006. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. Office International Des Epizooties, Paris.
- OIE. 2018. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. Office International Des Epizooties, Paris.
- Piepenburg, O., C.H. Williams, D.L. Stemple and N.A. Armes. 2006. DNA detection using recombination proteins. *PLoS Biology* 4(7): e204, doi: 10.1371/journal.pbio.0040204.
- Raddy, A.D., G. Jeyasekaran and R.J. Shakila. 2013. Morphogenesis, pathogenesis, detection

- and transmission risks of white spot syndrome virus in shrimps. Fisheries and Aquaculture Journal 4, article ID: FAJ, doi: 10.4172/2150-3508.1000066.
- Rodriguez-Anaya, L.Z., J.R. Gonzalez-Galaviz, R. Casillas-Hernandez, F. Lares-Villa, K. Estrada, J.C. Ibarra-Gamez and A. Sanchez-Flores. 2016. Draft genome sequence of white spot syndrome virus isolated from cultured *Litopenaeus vannamei* in Mexico. Genome Announcements 4(2): 01674-1715, doi: 10.1128/genomeA.01674-15.
- Siriboonpiputtana, T., N. Limsuwanachot and B. Rerkamnuaychoke. 2017. Genetic techniques for diagnosis and monitoring of chronic myeloid leukemia. Journal of Science and Technology 25(5): 854-869. (in Thai)
- Sithigomgul, W., S. Rukpratanporn, N. Pecharaburanin, S. Longyant, P. Chaivisuthangkura and P. Sithigomgul. 2006. A simple and rapid immunochromatographic test strip for detection of white spot syndrome virus (WSSV) of shrimp. Diseases of Aquatic Organisms 72(2): 101-106.
- Smith, V.J. and K. Soderhall. 1983. Induction of degranulation and lysis of haemocytes in the freshwater crayfish, *Astacus astacus* by components of the prophenoloxidase activating system in vitro. Cell and Tissue Research 233(2): 295-303.
- Srisuvan, T. 2008. Manual for detection and diagnosis of marine shrimp. National Institute of Animal Health Journal 3(2): 81-126. (in Thai)
- Syed Musthaq, S.K. and J. Kwang. 2014. Evolution of specific immunity in shrimp - A vaccination perspective against white spot syndrome virus. Developmental and Comparative Immunology 46(2): 279-290.
- Tokrisna, R., K. Kuldilok, K. Boonchuwong, B. Khongkhon and T. Mawongwai. 2015. Thai Aquaculture Status in the Context of the ASEAN Economic Community. Zeno Publishing and Packaging Co., Ltd., Bangkok. 128 p. (in Thai)
- Tsai, Y.-L., Y.-C. Lin, P.H. Chou, P.H. Teng and P.Y. Lee. 2012. Detection of white spot syndrome virus by polymerase chain reaction performed under insulated isothermal conditions. Journal of Virological Methods 181(1): 134-137.
- Wang, J., Y. Huang, K. Xu, X. Zhang, H. Sun, L. Fan and M. Yan . 2019. White spot syndrome virus (WSSV) infection impacts intestinal microbiota composition and function in *Litopenaeus vannamei*. Fish & Shellfish Immunology 84:130-137.
- Wang, X.W., and J.X. Wang. 2013. Pattern recognition receptors acting in innate immune system of shrimp against pathogen infections. Fish & Shellfish Immunology 34: 981-989.
- Yang, X., B.-J. Ma, C.L. Chang and C.-J. Shieh. 2014. Effects of workload on burnout and turnover intention of medical staff: a study. Studies on Ethno-Medicine 8(3): 229-237.
- Yoganandhan, K., S. Syed Musthaq, R.B. Narayanan and A.S. Sahul Hameed. 2004. Production of polyclonal antiserum against recombinant VP28 protein and its application for the detection of white spot syndrome virus in crustaceans. Journal of Fish Diseases 27(9): 517-522.

ผลของคาร์ราจีแนนต่อสมบัติของผงไข่ขาวจากวัสดุเศษเหลือของไข่เค็ม

Effects of Carrageenan on Properties of Egg White Powder from By-product Salted Egg

สุภาพร อภิรัตน์อนุสรณ์*, อูราภรณ์ เรืองวัชรินทร์ และ สุกัญญา ไหมเครือแก้ว
Supaporn Apirattananusorn*, Uraporn Rueangwatcharin and Sukanya Maicaurkaew

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี
จ. สุราษฎร์ธานี 84100

Food Science and Technology Program, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University,
Surat Thani 84100, Thailand

*Corresponding author: Email: supapornapi@yahoo.com

(Received: 12 June 2019; Accepted: 20 November 2019)

Abstract: The purpose of this research was to study the effect of carrageenan (0 , 0.4 and 0.8 %, w/w) on desalted egg white powder by dialysis. Egg white powder with carrageenan 0.4 % showed the higher foam capacity, the lower foam density and the longer foam stability than the others. It contained 76.03 % protein, 4.70 % moisture, 1.07 % crude fiber, 0.12% ash, and 4.47% salt, and none of lipid was detected. The colors explained as L*, a* and b* were 91.88, 0.27 and 9.95, respectively. The pH and Aw values were 7.20 and 0.52. The foam capacity, the foam density and the foam stability were likely to decrease where as moisture and Aw were likely to increase for 12 week-storage at room temperature. In addition, the number of total microorganisms in the egg white powder was increased to 3.45×10^5 CFU/g and no *Salmonella* spp. was detected, not over the standard regulation. Meringue from egg white powder (0.4% carrageenan) was not significantly different by sensory evaluation when compared with meringue from commercial meringue powder.

Keywords: Desalted egg white, egg white powder, carrageenan, meringue

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลของคาร์ราจีแนนที่มีผลต่อไข่ขาวเค็มที่ผ่านการลดปริมาณเกลือโดยวิธีการไดอะไลซิสโดยผสมกับคาร์ราจีแนนร้อยละ 0, 0.4 และ 0.8 (w/w) จากนั้นอบให้แห้งแล้วบดให้เป็นผง พบว่าผงไข่ขาวที่เติมคาร์ราจีแนนร้อยละ 0.4 ให้โฟมที่มีค่าความสามารถในการเกิดโฟมสูงกว่า ค่าความหนาแน่นต่ำกว่า และมีความเสถียรมากกว่าผงไข่ขาวอื่น โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 76.03 ความชื้นร้อยละ 4.70 โยอาหารหยาบร้อยละ 1.07 เถ้าร้อยละ 0.12 และเกลือร้อยละ 4.47 โดยไม่พบไขมัน มีค่าสี L^* , a^* และ b^* เท่ากับ 91.88, 0.27 และ 9.95 ตามลำดับ มีค่า pH และ Aw เท่ากับ 7.20 และ 0.52 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าความสามารถในการเกิดโฟม ความหนาแน่นของโฟมและความเสถียรของโฟมของผงไข่ขาวมีแนวโน้มลดลง ส่วนค่าความชื้น และ Aw มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น รวมถึงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผงไข่ขาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีค่า 3.45×10^5 CFU/g และตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด เมอแรงค์ที่ทำจากผงไข่ขาวไม่มีความแตกต่างทางด้านการประเมินค่าทางประสาทสัมผัสเมื่อเปรียบเทียบกับเมอแรงค์ที่ทำจากผงเมอร์แรงค์ทางการค้า

คำสำคัญ: ไข่ขาวลดปริมาณเกลือ ผงไข่ขาว คาร์ราจีแนน เมอแรงค์

คำนำ

ไข่เค็มไชยา ได้มีการรับรองขึ้นทะเบียน GI โดยผลิตจากไข่เป็ดที่ได้จากการเลี้ยงเป็ดในพื้นที่อำเภอยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี สังเกตจากกล่องหรือฉลากบรรจุที่ได้เครื่องหมายรับรอง มีวิธีการผลิตที่มาจากภูมิปัญญาของคนไชยา คือนำไข่เป็ดมาพอกดินจอมปลวกที่คลุกเคล้าด้วยเกลือและน้ำในอัตราส่วนที่พอเหมาะ บรรจุลงในกล่องที่มีการระบุช่วงเวลาที่เหมาะสมในการนำไปประกอบเป็นอาหาร ได้แก่ ช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการทอดเป็นไข่ดาวและการต้มเป็นไข่ต้ม หากเลยระยะเวลาการทำเป็นไข่ต้มจะทำให้ไข่มีรสชาติเค็มจัดเกินไป ถ้าผู้ประกอบการขายไข่เค็มไม่หมดและครบระยะเวลาที่ระบุไว้บนฉลาก ก็จะนำไข่มาต้มเป็นไข่เค็มต้มสุกขาย หรือแยกเอาเฉพาะไข่แดงมาขายต่อให้กับลูกค้าที่ต้องการ และจะทิ้งส่วนของไข่ขาวไป ไข่ขาวเค็มนั้นประกอบด้วยโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย Puechkamut and Changnoi (2004) รายงานว่าไข่ขาวเค็มอบแห้งมีโปรตีนร้อยละ 58 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 6 ไขมันร้อยละ 0.5 และเกลือร้อยละ 28 ไข่ขาวเค็มจึงมีโปรตีนอยู่จำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนในไข่ขาวเค็มไม่มีการเปลี่ยนแปลงจึงมียังคงมีกรดอะมิโนที่สำคัญต่อร่างกายไม่แตกต่างจากไข่สด (Dong et al., 2013; Kaewmanee et al., 2009) หากนำไข่ขาวเค็มที่เป็นวัสดุเศษเหลือมาทำ

เป็นผงไข่ขาวโดยลดปริมาณเกลือให้น้อยลงจะได้โปรตีนไข่ขาวที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ไข่ขาวเป็นโปรตีนที่ย่อยง่าย มีปริมาณไขมันต่ำและไม่มีคอเลสเตอรอล (Siple, 2005) จึงควรนำไข่ขาวเค็มมาใช้โดยไม่ทิ้งไปอย่างไร้ประโยชน์ คาร์ราจีแนนเป็นกัมที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง วงศ์Rhodophyceae เช่น *Chondrus crispus*, *Eucheuma cottonii* และ *Eucheuma spinosum* เป็นต้น สามารถเพิ่มความข้นหนืดให้กับอาหารเหลว หรือทำให้เกิดเจลในอาหาร รวมทั้งให้ความคงตัวกับอาหาร และสามารถนำมาใช้เพื่อช่วยให้ไข่ขาวขึ้นฟูได้ด้วย (Puechkamut and Changnoi, 2004; Rumbaoa et al., 1998)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดนำไข่ขาวเค็มซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือมาใช้ประโยชน์ โดยศึกษาถึงผลของการใช้คาร์ราจีแนนต่อสมบัติทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของไข่ขาวเค็มที่ผ่านการลดปริมาณเกลือ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมไข่ขาวเค็ม

นำไข่ขาวเค็มดิบของไข่เป็ดขนาด 55-65 g ที่พื้นกำหนดระยะเวลาการพอกดินสำหรับการต้มเป็นไข่ต้มมาแล้วประมาณ 2 เดือน นำมาแยกเอาเฉพาะไข่ขาว

การผลิตผงไข่ขาว

ผงไข่ขาวเค็มอบแห้ง

เทเกลี้ยงตัวอย่างไข่ขาวเค็มดิบลงในภาตให้มีความหนาประมาณ 2 mm แล้วนำตัวอย่างไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

ผงไข่ขาวเค็มลดปริมาณเกลือ โดยใช้วิธีการไดอะไลซิส

นำไข่ขาวเค็มดิบใส่ลงในถุงไดอะไลซิส (MW cut-off 12,600) แช่น้ำสะอาดแล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมคาร์ราจีแนนจำนวนร้อยละ 0, 0.4 และ 0.8 (w/w) ลงในไข่ขาว กวนให้เข้ากันนาน 30 นาที ระวังอย่าให้เกิดฟองในระหว่างการกวน เทเกลี้ยงลงในภาตให้มีความหนาประมาณ 2 mm แล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh บรรจุใส่ถุงพลาสติก เก็บรักษาในตู้ดูดความชื้นเพื่อรอการวิเคราะห์

การทดสอบสมบัติทางกายภาพของผงไข่ขาว

ความสามารถในการเกิดโฟม (Foam capacity) และความเสถียรของโฟม (Foam stability) วัดความสามารถในการเกิดโฟม และความเสถียรของโฟม ดัดแปลงจากวิธีของ Mounir and Allaf (2018) โดยชั่งผงไข่ 4 g ละลายในน้ำกลั่น 200 mL นำไปใส่ในโบลปั่นแล้วตีปั่น ด้วยเครื่องผสมอาหาร (ยี่ห้อ KitchenAid รุ่น 5K5SSWH) จนเกิดฟองขึ้น (ใช้ความเร็วรอบระดับ 6 เป็นเวลา 3 นาที) นำมาคำนวณจากสูตรดังนี้

ความสามารถในการเกิดโฟม

$$\text{ความสามารถในการเกิดโฟม (\%)} = \frac{\text{ปริมาณของโฟม}}{\text{ปริมาตรของเหลวเริ่มต้น}} \times 100$$

ความเสถียรของโฟม

นำโฟมมาบรรจุใส่ในกรวยกรองพลาสติกที่ทราบปริมาตร ใช้กระบอกตวงรองรับของเหลวที่หยดลงมาได้ กรวยอ่านปริมาตรของเหลวที่รองรับได้ทุก ๆ 15 นาที เป็นเวลา 60 นาที นำมาคำนวณจากสูตรดังนี้

$$\text{ความสามารถในการเกิดโฟม (\%)} = \frac{\text{ปริมาณของเหลว - ปริมาตรของเหลวที่หยดลงมา}}{\text{ปริมาตรของเหลวเริ่มต้น}} \times 100$$

ความหนาแน่นของโฟม (Foam density)

หาค่าความหนาแน่นของโฟมดัดแปลงจากวิธีของ Sadahira *et al.* (2016) โดยการตักโฟมบรรจุในถ้วยที่ทราบปริมาตรแน่นอน นำไปหาค่าจากสูตร ดังนี้

$$\text{ความหนาแน่นของโฟม (g/mL)} = \frac{\text{น้ำหนักของโฟม (g)}}{\text{ปริมาตรของถ้วย (mL)}} \times 100$$

การทดสอบสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีและค่าสีของผงไข่ขาว

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) โดยใช้เครื่อง pH meter (ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น FE20-LE407) ค่า Aw โดยใช้เครื่องวัด Aw (ยี่ห้อ Rotronic รุ่น HygroLab C1) ปริมาณเกลือ โปรตีน ความชื้น เถ้า ไขมัน และใยอาหารหยาบโดยใช้วิธี AOAC (2005) และวัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี (ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-400)

การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมีของผงไข่ขาวระหว่างการเก็บรักษา 12 สัปดาห์

นำผงไข่ขาวอบแห้งจำนวน 50 g มาบรรจุลงในถุงออลูมิเนียมฟอยล์ปิดสนิท แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) วัดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมีของผงไข่ขาว ทุก ๆ 2 สัปดาห์

การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษา 12 สัปดาห์

ตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001) และ *Salmonella* spp. (BAM, 2014) ทุก ๆ 2 สัปดาห์

การทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์เมอแรงค์จากผงไข่ขาว

ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์เมอแรงค์ (ใช้ผงไข่ขาวและผงเมอแรงค์) โดยทดสอบด้านความชอบ ได้แก่ สี ความกรอบ ความเค็ม ความหวาน

และความชอบโดยรวม ด้วยแบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยใช้วิธี hedonic scale 9 points (1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 9 = ชอบมากที่สุด) กับผู้ทดสอบชิมที่คุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ประเภทขนมอบกรอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Pair sample t-test เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ด้วยโปรแกรมสถิติ SPSS version 21

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาสมบัติทางกายภาพของผงไข่ขาว

ผลการศึกษาสมบัติของผงไข่ขาวเค็มอบแห้งก่อนและหลังลดปริมาณเกลือโดยการไดอะไลซิสแล้วผสมคาร์ราจีแนน (CG) ในปริมาณต่าง ๆ (0, 0.4 และ 0.8%) ดังแสดงใน Table 1 พบว่าผงไข่ขาวทั้ง 4 ชนิด ก่อนและหลังลดปริมาณเกลือ เมื่อนำมาตีเป็นโฟมมีความสามารถในการเกิดโฟมได้ดี โดยสามารถเกิดโฟมเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า ของปริมาตรเดิม ผงไข่ขาวเค็มก่อนลดปริมาณเกลือมีปริมาณเกลือสูงคือร้อยละ 31.32 ใกล้เคียงกับรายงานของ Puechkamut and Changnoi (2004) และ Mmadi *et al.* (2014) ที่พบว่าไข่ขาวเค็มมีเกลืออยู่ร้อยละ 28.31 และ 30.0 ตามลำดับ ผงไข่ขาวเค็มก่อนลดปริมาณเกลือ

ในการทดลองเกิดโฟมได้ดี เช่นเดียวกับการรายงานของ Mmadi *et al.* (2014) โดยมีค่าความสามารถในการเกิดโฟมร้อยละ 182.0 ซึ่งน้อยกว่าผงไข่ขาวเค็มที่ลดปริมาณเกลือ (0% CG) ที่มีเกลือร้อยละ 3.51 และมีความสามารถในการเกิดโฟมร้อยละ 191.0 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) แสดงว่าปริมาณเกลือไม่มีผลต่อความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาว เกลือที่มีอยู่ในไข่ขาวสามารถลดการจับตัวกันของโปรตีน (Protein-protein interactions) ทำให้โปรตีนเกิดการคลี่คลายตัวออกมวนพันห่อหุ้มฟองอากาศในขณะตีอากาศเข้าไป อย่างไรก็ตาม Ercelebi and Ibanoglu (2009) รายงานว่าการเติมเกลือความเข้มข้น 0-30 mM มีผลเพิ่มความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาวเนื่องจากเกลือมีส่วนช่วยให้โปรตีนในไข่ขาวละลายน้ำได้ดีขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นเกลือสูงกว่า 30 mM มีผลทำให้ความสามารถในการเกิดโฟมลดลงเพราะทำให้การละลายของโปรตีนลดลงได้ จากการทดลองเบื้องต้นเมื่อนำผงไข่ขาวเค็ม (มีเกลือ 31.32%) ไปตีผสมเป็นโฟมเมอแรงค์ พบว่ามีการขึ้นฟูดีและอบเป็นขนมเมอแรงค์ได้แต่ผลิตภัณฑ์มีความเค็มมากเกินไป ผงไข่ขาวเค็มจึงมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ขนมอบจากการที่ทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์เปลี่ยน

การลดปริมาณเกลือในไข่ขาวเค็มแล้วผสมคาร์ราจีแนน 3 ระดับคือร้อยละ 0 (ไม่ผสม), 0.4 และ 0.8 พบว่าการผสมคาร์ราจีแนนร้อยละ 0.4 ทำให้ไข่ขาวมีความสามารถในการเกิดโฟมมากที่สุด คือมีความสามารถในการเกิดโฟมร้อยละ 220.3 สอดคล้องกับค่าความหนาแน่นที่มีค่าต่ำลงโดยวัดค่าได้ 0.13 g/mL เมื่อเปรียบเทียบกับไข่ขาวเค็มลดปริมาณเกลือที่ผสมกับคาร์ราจีแนนร้อยละ 0 และ 0.8

Table 1. Physical properties and %salt of egg white power before and after desalting

Properties	Before desalting	After desalting		
		0% CG	0.4% CG	0.8% CG
Foam capacity (%)	182.0 ± 13.1 ^b	191.0 ± 14.7 ^b	220.3 ± 13.3 ^a	171.7 ± 15.5 ^b
Foam density (g/mL)	0.14 ± 0.01 ^{ab}	0.15 ± 0.02 ^{ab}	0.13 ± 0.02 ^b	0.17 ± 0.02 ^a
Salt (%)	31.32 ± 0.03 ^a	3.51 ± 0.08 ^b	3.59 ± 0.04 ^b	3.63 ± 0.01 ^b

Mean values with different ^{ab} in the same row are significantly different ($P < 0.05$); CG = Carrageenan

จากการทดลองพบว่าความเสถียรของโฟมมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อตั้งทิ้งไว้ในช่วงแรกเป็นระยะเวลา 15 นาที เนื่องจากแรงตึงผิวของน้ำทำให้น้ำเกิดการรวมตัวกันหยดเป็นของเหลวไหลรวมออกมา (Figure 1) จากนั้นความเสถียรของโฟมจะค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ โดยสังเกตได้ว่าไข่ขาวเค็มก่อนลดปริมาณเกลือ (salted egg white) มีแนวโน้มลดต่ำลงมากกว่าไข่ขาวเค็มที่ลดปริมาณเกลือ (0% CG) เนื่องจากเกลือเป็นสารที่ทำให้โปรตีนในไข่ขาวบางชนิดละลายน้ำได้ดีขึ้น แต่ปริมาณเกลือที่มากเกินไปทำให้ประจุของเกลือไปรวมตัวกับประจุของโปรตีนไข่ ดังนั้นแรงผลักระหว่างประจุของโปรตีนไข่ที่หุ้มฟองอากาศจึงลดลง ทำให้ฟองโปรตีนเกิดการรวมตัวกันและยุบตัวลงได้ (Raikos *et al.*, 2007) คาร์ราจีแนนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ (anionic polysaccharide) และมีหมู่ซัลเฟต สามารถเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนในไข่ขาวเกิดโครงสร้างตาข่ายของพอลิเมอร์ที่มีความแข็งแรงและคงตัวห่อหุ้มฟองอากาศได้ดี ไม่เกิดการยุบตัวลง เมื่อทดสอบความสามารถในการเกิดโฟมและความเสถียรของโฟม จะเห็นว่าไข่ขาวผสมคาร์ราจีแนนร้อยละ 0.4 เกิดโฟมไข่ขาวมากกว่าและให้โฟมไข่ขาวที่มีความเสถียรมากกว่าไข่ขาวที่ไม่ผสมคาร์ราจีแนนเมื่อระยะเวลาผ่านไป 90 นาที สอดคล้องกับการทดสอบการเกิดโฟมและความเสถียรของโฟม เมอแรงค์ที่ได้ มีการศึกษาก่อนหน้านี้ (Apirattananusorn *et al.*, 2019) อย่างไรก็ตามการผสม

คาร์ราจีแนนร้อยละ 0.8 จะทำให้ความหนืดของโปรตีนไข่ขาวเพิ่มขึ้น ความสามารถในการเกิดโฟมลดลงเนื่องจากความหนืดจะไปขัดขวางการคลี่คลายตัวของโปรตีนที่หุ้มฟองอากาศจึงทำให้โปรตีนห่อหุ้มอากาศได้น้อยลง (Lau and Dickinson, 2005) ดังนั้นในขั้นตอนการทดลองถัดไป จะเลือกใช้การเติมคาร์ราจีแนนระดับร้อยละ 0.4 เพื่อศึกษาต่อไป

การศึกษาสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีและค่าสีของผงไข่ขาว

ผลการศึกษาสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของผงไข่ขาวลดปริมาณเกลือผสมคาร์ราจีแนน (CG) ร้อยละ 0.4 เปรียบเทียบกับผงเมอแรงค์ทางการค้า (Table 2) พบว่า ผงไข่ขาวมีค่า pH เท่ากับ 7.20 ต่ำกว่าผงเมอแรงค์ทางการค้าซึ่งมีค่า 7.35 ส่วนค่า A_w มีค่า 0.52 และมีความชื้น เถ้า และเกลือร้อยละ 4.70, 0.12 และ 3.57 ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าผงเมอแรงค์ทางการค้าที่มีค่า A_w เท่ากับ 0.48 มีความชื้น เถ้า และเกลือร้อยละ 3.10, 0.06 และ 1.10 ตามลำดับ ปริมาณความชื้นร้อยละ 4.70 ในผงไข่ขาวมีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Ndife *et al.* (2010) ที่พบว่าผงไข่ขาวที่อบด้วยตู้อบลมร้อนมีค่าความชื้นร้อยละ 4.32 ปริมาณเถ้าที่มีค่าสูงเนื่องจากผงไข่ขาวมีเกลือปะปนอยู่สูงกว่าผงเมอแรงค์ทางการค้า อย่างไรก็ตามพบว่าผงเมอแรงค์ทางการค้ามีโปรตีนอยู่เพียงร้อยละ 18.50 น้อยกว่า

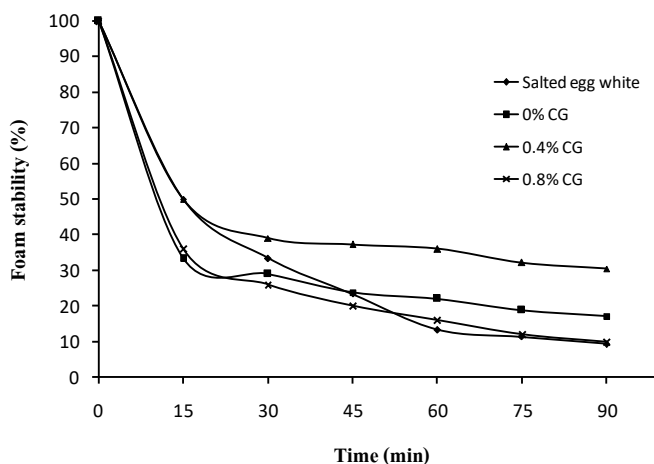


Figure 1. Foam stability of egg white powder

CG = Carrageenan

Table 2. Properties, chemical composition and color values of desalted egg white powder (0.4 % CG) and commercial meringue powder

Values	Desalted egg white powder (0.4% CG)	Commercial meringue powder
pH	7.20 ± 0.04 ^b	7.35 ± 0.00 ^a
A _w	0.52 ± 0.00 ^a	0.48 ± 0.0 ^b
Moisture (%)	4.70 ± 0.42 ^a	3.10 ± 0.43 ^b
Ash (%)	0.12 ± 0.0 ^a	0.06 ± 0.0 ^b
Salt (%)	3.57 ± 0.71 ^a	1.10 ± 0.35 ^b
Protein (%)	76.03 ± 0.86 ^a	18.50 ± 0.03 ^b
Fat (%)	Not found	Not found
Crude fiber (%)	1.07 ± 0.02	Not found
Color		
L*	91.88 ± 0.58 ^b	97.58 ± 1.21 ^a
a*	0.27 ± 0.10 ^a	-1.55 ± 0.22 ^b
b* ^{ns}	9.95 ± 0.55	10.90 ± 0.16

Mean values with different ^{a-b} in the same row are significantly different ($P < 0.05$)

Mean values with ^{ns} in the same row are not significantly different ($P \geq 0.05$)

CG = Carrageenan

ผงไข่ขาวซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 76.03 และไม่พบไขมันในตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด ค่าสีของผงไข่ขาวมีค่าความสว่าง (L*) 91.88 น้อยกว่าผงเมอแรงค์ทางการค้าที่มีค่า 97.58 และมีค่าสีแดง (a*) 0.27 มีค่ามากกว่าผงเมอแรงค์ทางการค้าที่มีค่า -1.55 ส่วนค่าสีเหลือง (b*) มีค่าไม่แตกต่างกัน ($P \geq 0.05$) โดยผงไข่ขาวและผงเมอแรงค์ทางการค้ามีค่า 9.95 และ 10.50 ตามลำดับ ผงไข่ขาวมีค่าความสว่างที่น้อยกว่าและค่าสีแดงที่มากกว่าผงเมอแรงค์ทางการค้าอาจเกิดจากสภาพไข่เค็มที่เก็บรักษาจนพ้นระยะเวลาการต้มทำให้ไข่ขาวเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่เกิดขึ้นจากกลูโคสและกรดอะมิโนที่มีในไข่ขาว จึงมีสีที่เข้มขึ้น (Quan and Benjakul, 2019)

การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมีของผงไข่ขาว

การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของผงไข่ขาวลดปริมาณเกลือ (0.4% CG) โดยวัดค่าทุก ๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าความสามารถในการเกิดโฟม ความหนาแน่นของโฟมและความเสถียรของโฟมของผงไข่ขาวมีแนวโน้มลดลง (Table 3) โดยเริ่มต้น

สัปดาห์ที่ 0 มีค่า 217.2 และมีค่า 185.7 ในสัปดาห์ที่ 12 ส่วนค่าสี ได้แก่ ค่า L* มีค่าอยู่ในช่วง 91.32-91.88 ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกัน ($P \geq 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่วนค่า a* มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ค่า b* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงทางเคมี ได้แก่ ความชื้นและ A_w มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Table 4) ส่วนค่า pH มีแนวโน้มลดลง แต่ไม่มีความแตกต่างกัน ($P \geq 0.05$) ความสามารถในการเกิดโฟม ความหนาแน่นของโฟมและความเสถียรของโฟมของผงไข่ขาวมีแนวโน้มลดลงอาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น การรวมตัวกันของโปรตีน (Protein aggregation) ทำให้ละลายน้ำได้น้อยลง การเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Katekhong and Charoenrein, 2017) และจำนวนจุลินทรีย์ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไปดังแสดงใน Table 5

การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ของผงไข่ขาวในระหว่างการเก็บรักษาดังแสดงใน Table 5 พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ไม่เกินจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ระบุไว้ว่าผงไข่ขาวต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบไม่เกิน 1×10^6 CFU/g และ

Table 3. Changes in physical properties of desalted egg white powder (0.4% CG) during storage

Week	Physical properties					
	Foam capacity	Foam density ^{ns}	Foam stability ¹	Color		
	(%)	(g/mL)	(%)	L ^{ns}	a*	b*
0	217.2±14.2 ^a	0.13±0.01	38.7±6.2 ^a	91.83±0.85	0.28±0.03 ^a	10.13±0.51 ^d
2	220.1±16.7 ^a	0.13±0.02	38.7±9.1 ^a	91.32±1.07	0.26±0.05 ^a	11.23±0.43 ^c
4	217.4±11.7 ^a	0.13±0.01	38.6±6.6 ^a	91.88±0.58	0.21±0.08 ^{ab}	13.95±0.55 ^b
6	214.2±15.0 ^a	0.13±0.01	38.5±9.0 ^a	91.62±1.05	0.19±0.07 ^{abc}	14.35±0.59 ^b
8	202.5±12.0 ^{ab}	0.12±0.01	30.7±9.5 ^{ab}	91.46±0.58	0.12±0.08 ^{bc}	14.30±0.34 ^b
10	198.8±18.5 ^b	0.12±0.02	25.5±6.8 ^{ab}	91.88±0.16	0.10±0.04 ^c	14.39±0.41 ^b
12	185.7±11.2 ^b	0.12±0.01	22.4±4.4 ^b	91.85±0.17	0.09±0.04 ^c	15.38±0.42 ^a

¹Determined after 45 minutes

Mean values with different ^{a-d} in the same column are significantly different ($P<0.05$)

Mean values with ^{ns} in the same column are not significantly different ($P\geq0.05$)

CG = Carrageenan

Table 4. Changes in chemical properties of desalted egg white powder (0.4% CG) during storage

Week	Chemical properties		
	Moisture(%) ^{ns}	Aw ^{ns}	pH ^{ns}
0	4.72±0.32	0.52±0.00	7.10±0.04
2	4.75±0.37	0.53±0.49	7.12±0.05
4	4.67±0.36	0.53±0.03	7.13±0.04
6	4.69±0.29	0.53±0.03	7.12±0.07
8	4.79±0.17	0.54±0.01	7.11±0.05
10	4.78±0.57	0.54±0.02	7.10±0.08
12	4.78±0.44	0.54±0.01	7.09±0.10

Mean values with ^{ns} in the same column are not significantly different ($P\geq0.05$)

CG = Carrageenan

Table 5. Number of CFU of desalted egg white powder (0.4% CG) during storage

Week	Number of CFU	
	Total microbial count (CFU/g)	<i>Salmonella</i> spp. (CFU/25 g)
0	1.20×10 ²	Not found
2	1.48×10 ²	Not found
4	5.20×10 ²	Not found
6	5.35×10 ³	Not found
8	4.59×10 ⁴	Not found
10	7.52×10 ⁴	Not found
12	3.45×10 ⁵	Not found

CG = Carrageenan

จะต้องไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 g (Department of Livestock Development, 2000) โดยตรวจพบในผงไข่ขาวในสัปดาห์ที่ 12 จำนวน 3.45×10^5 CFU/g และตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 g แสดงว่าผงไข่ขาวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 สัปดาห์ มีความปลอดภัยและอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด

การทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์เมอแรงค์จากผงไข่ขาว

การทดสอบความชอบโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน (Table 6) พบว่าเมอแรงค์ที่ทำจากผงไข่ขาวลดปริมาณเกลือ (0.4% CG) ไม่มีความแตกต่างของความชอบทางด้านความกรอบ ความเค็ม ความหวาน และความชอบโดยรวม เมื่อเปรียบเทียบกับเมอแรงค์ทางการค้ายี่ห้ออื่นของเมอแรงค์ที่ทำจากผงเมอแรงค์ทางการค้าที่ผู้ทดสอบชิมมีความชอบมากกว่าเนื่องจากลักษณะเป็นสีขาวมากกว่าเมอแรงค์ที่ทำจากผงไข่ขาวโดยมีความชอบด้านต่าง ๆ ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก (ได้คะแนน 7.07-7.90) ผลการทดสอบความชอบแสดงให้เห็นว่าการใช้ผงไข่ขาวลดปริมาณเกลือ (0.4% CG) สามารถนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เมอแรงค์ที่ให้คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เป็นที่ยอมรับได้

สรุป

ผงไข่ขาวลดปริมาณเกลือเติมคาร์ราจีแนนร้อยละ 0.4 มีความเหมาะสมทางด้านกายภาพและเคมีสามารถนำมาผลิตเป็นขนมเมอแรงค์ได้ ผงไข่ขาวมีความสามารถในการเกิดโฟม ความหนาแน่นของโฟม และความเสถียรของโฟมลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ส่วนค่าสี ได้แก่ ค่า L^* มีค่าไม่แตกต่างกัน ค่า a^* มีแนวโน้มลดลง และค่า b^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ความชื้นและ Aw มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนค่า pH มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างกัน ($P \geq 0.05$) ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^6 CFU/g และตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่าง 25 g อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด อย่างไรก็ตามการลดปริมาณเกลือโดยวิธีการใดอะไ่ก็ยังเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายสูง จึงควรหาวิธีการอื่นที่สามารถลดค่าใช้จ่ายและนำไปใช้ได้เหมาะสม

Table 6. Hedonic scales of sensory evaluation of meringue products

Sensory characteristics	Desalted egg white powder (0.4% CG)	Commercial meringue powder
Color	7.10±1.12 ^b	7.70±0.99 ^a
Crispiness ^{ns}	7.53±0.94	7.43±0.86
Saltiness ^{ns}	7.07±1.57	7.07±1.55
Sweetness ^{ns}	7.57±1.14	7.53±1.28
Overall liking ^{ns}	7.70±0.70	7.90±0.92

Mean values with different ^{a,b} in the same row are significantly different ($P < 0.05$)

Mean values with ^{ns} in the same row are not significantly different ($P \geq 0.05$)

CG = Carrageenan

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่และนักศึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารที่ให้ความร่วมมือในการทำวิจัยมาโดยตลอด และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานีที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland. 2200 p.
- Apirattananusorn, S., U. Rueangwatcharin, S. Maicaurkaew, S. Songtong and S. Thonginkhai. 2019. Meringue product from by-product salted egg white, Chaiya district, Suratthani province. The Golden Teak: Science and Technology Journal 6(1): 53-61. (in Thai)
- BAM, 2001. Bacteriological analytical manual. (Online). Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (April 25, 2018).
- BAM, 2014. Bacteriological analytical manual. (Online). Available: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (April 25, 2018).
- Department of Livestock Development. 2000. Announcement of the Department of Livestock Development on microbiological standards for livestock products. Department of Livestock Development, Bangkok. (in Thai)
- Dong, H.W., H. He, B.Y. Chen, N.N. Zhao and Z.Z. Wang. 2013. Effect of electrodialysis desalination on physicochemical properties of salted duck egg white. Food Science 34(7): 129-134.
- Ercelbi, E.A. and E. Ibanoglu. 2009. Effects of ionic strength on the foaming properties of whey protein isolate and egg white in the presence of polysaccharides. Journal of Food Processing and Preservation 33(4): 513-526.
- Kaewmanee, T., S. Benjakul and W. Visessanguan. 2009. Changes in chemical composition, physical properties and microstructure of duck egg as influence by salting. Food Chemistry 112(3): 560-569.
- Katekhong, W. and S. Charoenrein. 2017. Color and gelling properties of dried egg white: Effect of drying methods and storage conditions. International Journal of Food Properties 20(9): 2157-2168.
- Lau, C.K. and E. Dickinson. 2005. Instability and structural change in an aerated system containing egg albumen and invert sugar. Food Hydrocolloids 19(1): 111-121.
- Mmadi, M., T. Amza, Y.C. Wang and M. Zhang. 2014. Effect of desalination on physicochemical and functional properties of duck (*Anas platyrhynchos*) egg whites. Advance Journal of Food Science and Technology 6(6): 784-791.
- Mounir, S. and K. Allaf. 2018. Response surface methodology (RSM) as relevant way to study and optimize texturing by instant controlled pressure drop DIC in innovative manufacturing of egg white and yolk powders. Drying Technology 36(8): 990-1005.
- Ndife, J., Udobi, C. Ejikeme and N. Amaechi. 2010. Effect of oven drying on the functional and nutritional properties of whole egg and its

- components. African Journal of Food Science 4(5): 254-257.
- Puechkamut, Y. and W. Changnoi. 2004. Salted egg white powder production by foam-mat drying and its utilization. Research report. Faculty of Agro-Industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok. 84 p. (in Thai)
- Quan, T.H. and S. Benjakul. 2019. Duck egg albumen: physicochemical and functional properties as affected by storage and processing. Journal of Food Science and Technology 56(3): 1104-1115.
- Raikos, V., L. Campbell and S.R. Euston. 2007. Effects of sucrose and sodium chloride on foaming properties of egg white proteins. Food Research International 40(3): 347-355.
- Rumbaoa, R.G.O., N.E. Montanao and M.M. Loquias. 1998. Carrageenan-egg albumen interaction: application in a meringue formulation. (Online). Available:<http://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=PH2001101223> (May 9, 2019).
- Sadahira, M.S., M.I. Rodrigues, M. Akhtar, B.S. Murray and F.M. Netto. 2016. Effect of egg white protein-pectin electrostatic interactions in a high sugar content system on foaming and foam rheological properties. Food Hydrocolloids 58:1-10.
- Siple, M. 2005. Low-Cholesterol Cookbook for Dummies. Wiley Publishing, Inc., Hoboken. 752 p.
-

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นจากสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว

Development of Moisturizing Product from Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) Extract

พัชรวิวรรณ เบ้าคำ ตฤณลดา แสงทอง นิชนันท์ สุขนวัฒนกุล และ มธุกร สายนาคำ*

Phatchareewan Bhaokam, Trinlada Saengtong, Nitchanan Suchonwattanakul
and Mathukorn Sainakham*

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา อ. เมือง จ. พะเยา 56000

School of Pharmaceutical Sciences, University of Phayao, Phayao 56000, Thailand

*Corresponding author: Email: Mathukorn.sa@up.ac.th

(Received: 6 November 2019; Accepted: 17 April 2020)

Abstract: The aim of this study was to extract and investigate the biological activity of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) for development of moisturizing product. In this study, the okra was extracted by water and ethanol at various concentrations with maceration and reflux extraction. After that, crude extracts were determined to the polysaccharide and total phenolic content, free radical scavenging and lipid peroxidation inhibition. The selected okra extract was formulated to emulsion-gel and evaluated formulation stability, skin irritation with patch-test and moisturizing effect in women volunteer skin. The results showed that dry okra extracted using 50% ethanol by maceration process (MTd50) gave % yield at 27.50%, total polysaccharides at 5.58 ± 0.03 mg glucose/g, total phenolic compounds at 1.24 ± 0.01 mg GAE/g, SC_{50} value of 0.59 ± 0.07 mg/ml and IPC_{50} value of 0.02 ± 0.02 mg/ml. MTd50 extract was selected to formulate emulsion-gel products which showed high stability, no irritation and increasing the hydration of women volunteer skin for 90 minutes. Therefore, cosmetic products containing okra extract have the potential for development of skin moisturizer.

Keywords: *Abelmoschus esculentus* extracts, antioxidant activity, moisturizing effect, patch test, skin hydration evaluation

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้น การศึกษานี้ได้นำกระเจี๊ยบเขียวมาสกัดด้วยน้ำ และเอทานอล (ethanol) ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อนและวิธีไหลย้อนกลับด้วยความร้อน จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) และสารฟีนอลิกรวม ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation) ตั้งตำรับผลิตภัณฑ์อิมัลชันเจลที่มีส่วนผสมของสารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวเพื่อประเมินความคงตัวของตำรับ ทดสอบการระคายเคืองด้วยวิธี patch test และความชุ่มชื้นในผิวหนังของอาสาสมัครเพศหญิง ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 50% โดยวิธี MT (MTd50) มีเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้ 27.50% มีปริมาณ Polysaccharide 5.58 ± 0.03 mg glucose/g ปริมาณฟีนอลิกรวม 1.24 ± 0.01 mg GAE/g มีค่า SC_{50} 0.59 ± 0.07 mg/ml และค่า IPC_{50} 0.02 ± 0.02 mg/ml สารสกัด MTd50 ถูกนำมาเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์อิมัลชันเจลที่มีความคงตัว ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังของอาสาสมัครนาน 90 นาที ดังนั้นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวจึงมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนัง

คำสำคัญ: สารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียว ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ให้ความชุ่มชื้น การทดสอบการระคายเคือง การทดสอบประสิทธิภาพเพิ่มความชุ่มชื้น

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียว (okra) (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุประมาณ 1 ปี ลำต้นและกิ่งก้านมีสีเขียว มีจุดประม่วง ตามลำต้นจะมีขนอ่อนหยาบ ๆ มีใบเป็นใบเดี่ยวขนาดใหญ่ มักว่าเป็น 3 แฉก ปลายใบหยักแหลม โคนใบเว้าเป็นรูปหัวใจ ใบมีขนหยาบ ก้านใบยาว ผลมีลักษณะเป็นฝักสีเขียวทรงเรียวยาว มักโค้งเล็กน้อย ปลายฝักแหลมเป็นจีบ ผิวฝักมีเหลี่ยมเป็นสัน โดยฝักมีสันเป็นเหลี่ยมตามยาวอยู่ 5 เหลี่ยม ตามฝัก จะมีขนอ่อน ๆ อยู่ทั่วฝัก ฝักอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จากการศึกษาของ Roy *et al.* (2014) พบว่าในฝักมีน้ำเมือกชั้นเหนียว และมีเมล็ดลักษณะกลมอยู่มาก ฝักอ่อนมีรสหวาน ซึ่งในฝักกระเจี๊ยบเขียวมีสารสำคัญ ประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น carotene, folic acid, thiamine, riboflavin, niacin, vitamin c, oxalic acid และ amino acids นอกจากนี้เมล็ดของกระเจี๊ยบเขียวยังอุดมไปด้วยโปรตีนและไขมัน อีกทั้งน้ำมันจากเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวยังมี palmitic acid, oleic acid และ linoleic acid จาก

การศึกษาของ Jia *et al.* (2011) พบว่าในฝักกระเจี๊ยบเขียวมีสารเมือกที่ประกอบไปด้วย polysaccharide แบบพอลิเมอร์สายเกลียว โดยมี galactose, rhamnose และ galacturonic acid อยู่ในโครงสร้าง สาร polysaccharide มีฤทธิ์เพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้ นอกจากนี้กระเจี๊ยบเขียวยังเป็นแหล่งของสารประกอบ polyphenolic โดยมี hyperoside, quercetin, coumarin, scopoletin, uridine, phenylalanine อนุพันธ์ quercetin และ (-)-epigallocatechin ซึ่งเป็นสารประกอบหลักของการต้านอนุมูลอิสระที่พบในกระเจี๊ยบเขียว อีกทั้งยังมีงานวิจัยของ kanlayavattanakul *et al.* (2012) พบว่า polysaccharide ในตำรับเจลทาความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของเมือกกระเจี๊ยบเขียวสามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับมืออาสาสมัครเมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ ในงานวิจัยนี้ทางผู้วิจัยได้ทำการสกัดผักกระเจี๊ยบเขียว และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกระเจี๊ยบเขียว เพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง และนำผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวมาทดสอบในอาสาสมัครเพื่อทดสอบการระคายเคือง และการเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนการเตรียมพืช

นำฝักกระเจียบเขียวสดจากร้านขายผักในกรุงเทพมหานคร มาล้างทำความสะอาด หั่นลดขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร และนำฝักสดบางส่วนไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 19 ชั่วโมง จะได้ฝักกระเจียบเขียวที่ลดขนาดแบบสดและแห้ง เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

การสกัดสารสำคัญจากฝักกระเจียบเขียวด้วยวิธีแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อน

วิธีการสกัดนี้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Fan *et al.* (2014) และ Manosroi *et al.* (2012) โดยนำฝักกระเจียบเขียวที่เตรียมไว้บรรจุลงในโหลแก้วปริมาณ 20 กรัม โดยทำการแช่หมัก 3 วิธี คือ 50 % ethanol, 95% ethanol และน้ำกลั่น จำนวน 200 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง และนำฝักกระเจียบเขียวแห้งที่แช่หมักด้วย DI water ไปเก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แช่หมักเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเขย่าบนเครื่อง incubator shaker เป็นเวลา 10 นาที กรองสารสกัดที่ได้จากการหมักด้วย 50% ethanol และ 95% ethanol ผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 และนำสารสกัดที่แช่หมักด้วย DI water นำไปปั่นแยกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge (Thermo Scientific, Massachusetts, USA) ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อ 5 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำสารละลายที่กรองได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator (Eyela N-1001, Tokyo, Japan) จนได้สารสกัดหยาบ เพื่อบำบัดเพอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้ (% yield)

การสกัดสารสำคัญจากฝักกระเจียบเขียวแบบไหลย้อนกลับด้วยความร้อน

วิธีการสกัดนี้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Yuan *et al.* (2019) โดยนำฝักกระเจียบเขียวที่เตรียมไว้บรรจุลงในขวดก้นกลมปริมาณ 20 กรัม และเติมตัวทำละลายโดยแบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ 50% ethanol, 95% ethanol และ DI water ปริมาตร 200 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง จากนั้นจึงให้

ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้จากการสกัด ด้วย 50% ethanol และ 95% ethanol กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 ส่วนสารสกัดที่ต้มด้วย DI water นำไปปั่นแยกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อ 5 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำสารละลายที่กรองได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบ เพื่อบำบัดเพอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้ (% yield)

การหาปริมาณ Polysaccharide ในสารสกัดกระเจียบเขียว ด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid

วิธีการนี้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Jia and Zhao *et al.* (2015) โดยเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาใส่หลอดทดลอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำละลาย 6% phenol ปริมาตร 0.67 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดซัลฟิวริกปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer (Scientific Industries, New York, USA) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 25 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer (Thermo Scientific, Massachusetts, USA) นำค่าที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส เพื่อบำบัดเพอร์เซ็นต์ polysaccharide

การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม ในสารสกัดกระเจียบเขียวด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method

วิธีการนี้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Zhang *et al.* (2006) โดยเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดที่เตรียมได้ ลงใน 96 well microplate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 10% folin-ciocalteu reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วเติม 10% sodium carbonate ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ บ่มทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 755 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (BioTek Synergy H1, Vermont, USA) และนำ

ค่าที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก เพื่อคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH)

วิธีการนี้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Manosroi *et al.* (2016) โดยเตรียมสารสกัดที่มีความเข้มข้น 5 ระดับ (0.001-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เตรียม ascorbic acid เป็น positive control เติมสารตัวอย่างลงใน 96 well plate ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติม DPPH ที่ละลายใน 95% ethanol 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงไป 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader แล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาค่า % scavenging = $[(A-B)/A] \times 100$ โดยค่า A คือค่าดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม (control) และค่า B คือค่าดูดกลืนแสงของกลุ่มตัวอย่าง (sample) จากนั้นนำค่าไปพลอตกราฟระหว่าง % scavenging และค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างเพื่อหาค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50% (SC_{50})

การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ด้วยวิธี ferric thiocyanate (FTC)

วิธีการนี้ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Manosroi *et al.* (2016) โดยเตรียมสารสกัด 5 ความเข้มข้น (0.001-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เตรียม ascorbic acid เป็น positive control เติมสารตัวอย่างลงใน 96 well plate ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 50 มิลลิกรัม linoleic acid ใน 50% DMSO ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมสารละลาย NH_4SCN 0.385 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติม $FeCl_2$ 0.2538 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ละลายใน 2.4% HCl ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส ใน 96 well plate นำไปวัดค่าดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader แล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาหาค่า % inhibition of lipid peroxide = $[(A-B)/A] \times 100$ โดยค่า A คือค่า

ดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม (control) และค่า B คือค่าดูดกลืนแสงของกลุ่มตัวอย่าง (sample) จากนั้นนำค่าไปพลอตกราฟระหว่าง % inhibition of lipid peroxide และค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เพื่อหาค่าความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ที่ 50% (IPC_{50})

การตั้งตำรับผลิตภัณฑ์อิมัลชันเจล (emulsion gel)

ซึ่งสารใน Part A ให้เข้ากัน แล้วนำไปให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง 70-75 องศาเซลเซียส ด้วยเตาความร้อน (hot plate) เมื่ออุณหภูมิได้ตามกำหนดจึงค่อย ๆ เติม hydroxyethyl cellulose ลงในปิกเกอร์ Part A พร้อมปั่นผสมด้วยเครื่อง magnetic stirrer ที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที จน hydroxyethyl cellulose พองตัว ซึ่งสารใน Part B ผสมให้เข้ากัน ให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง 75-80 องศาเซลเซียส แล้วเทส่วนผสมของ Part A ลงใน Part B คนให้ผสมให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียว รอให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส จึงซึ่งสารใน Part C ผสมจนเป็นสารละลายเดียวกัน เทลงในส่วนผสมของ Part A+B คนผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ที่เตรียมไว้ เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป (Table 1)

ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์อิมัลชันเจล

การทดสอบความคงตัวแบบเร่งด้วยอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (heating-cooling cycle) ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Jaipakdee *et al.* (2015) โดยการเก็บตำรับที่เตรียมเสร็จทั้ง 2 ตำรับ คือ ตำรับพื้นที่ไม่ใส่สารสกัดผักกระเจียวเขียวและตำรับที่ใส่สารสกัดผักกระเจียวเขียว แบ่งใส่ขวดแก้วแล้วปิดฝา ใส่ในตู้เย็น 4 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำทั้ง 2 ตำรับเข้าตู้อบที่ 45 ± 5 องศาเซลเซียส อีกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทดสอบ 7 รอบ เมื่อครบจำนวนรอบที่กำหนดทำการบันทึกผล ค่าความหนืด สี กลิ่น การแยกชั้น และพีเอช ของผลิตภัณฑ์

Table 1. Ingredients of the emulsion-gel formulation containing pod okra extract

Part	Ingredients	Master formula (%w/w)	Function
A	DI water	74.50	solvent
	Butylene glycol	5.00	humectant
	Hydroxyethyl cellulose	1.50	gelling agent
B	Caprylic/capric triglyceride	5.00	emollient
	Cyclopentasiloxane (and) dimethicone (and) dimethicone/vinyl dimethicone Crosspolymer	2.00	thickener
	Glyceryl Stearate (and) PEG-100 Stearate	1.00	emulsifier
	Dimethicone	5.00	emollient
C	DI water	5.00	solvent
	Okra extract	0.50	active ingredient
D	Phenoxyethanol	0.50	preservative

การทดสอบการระคายเคืองและความชุ่มชื้นในอาสาสมัคร

การทดสอบนี้ดัดแปลงจากวิธีของ Limpongsa *et al.* (2014), di Nardo *et al.* (1996) และ Kanlayavattanakul *et al.* (2012) ตามลำดับ ศึกษาในประชากรกลุ่มเดียว โดยเป็นอาสาสมัครเพศหญิงสัญชาติไทย จำนวน 15 คน ที่มีอายุ 20 ปีขึ้นไป มีสุขภาพร่างกายแข็งแรง ไม่โรคประจำตัว ไม่แพ้สารเคมีหรือเครื่องสำอางใด ๆ และไม่ได้ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือยาใด ๆ บนบริเวณที่ทดสอบ ในการทดสอบให้อาสาสมัครอยู่ในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 2\%$ เป็นเวลา 30 นาทีก่อนการทดสอบ เริ่มด้วยการทดสอบการระคายเคืองด้วยวิธี patch test บริเวณท้องแขน โดยใส่สารทดสอบ คือ 3% sodium lauryl sulfate (SLS) เป็น positive control, sterile distilled water เป็น negative control, ดำริบพื้นไม่มีสารสกัดฝักระเจี๊ยบเขียว และดำริบที่ใส่สารสกัดฝักระเจี๊ยบเขียวที่เตรียมไว้ปริมาณ 0.3 กรัม ลงในผ้าก๊อชขนาด 1x1 เซนติเมตร นำผ้าก๊อชแปะลงบนท้องแขนเป็นแถวยาวในแนวตรงโดยแต่ละแผ่นมีระยะห่างกันประมาณ 1 เซนติเมตร และแปะทับด้วยแผ่นฟิล์มใสกันน้ำ ทิ้งไว้

นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าความแดงที่วัดได้จากเครื่องมือวัดความแดงของผิว (skin color) ก่อนและหลังทดสอบ ส่วนวิธีการวัดความชุ่มชื้นของผิว (skin hydration) ทำการวัดก่อนทดสอบความชุ่มชื้น เปรียบเทียบกับหลังทดสอบความชุ่มชื้น โดยการทาผลิตภัณฑ์ทดสอบ 1 ครั้ง คือ ดำริบพื้นไม่มีสารสกัดฝักระเจี๊ยบเขียว ดำริบที่ใส่สารสกัดฝักระเจี๊ยบเขียว และดำริบผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มความชุ่มชื้นตามท้องตลาด ปริมาณ 0.5 กรัม บริเวณท้องแขน บนพื้นที่ 1x1 เซนติเมตร จากนั้นวัดค่าความชุ่มชื้นที่เวลา 15, 30, 60, 90 และ 120 นาที การทดสอบข้างต้นนี้ได้รับการอนุมัติแล้วจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยพะเยา

การแสดงผลและสถิติที่ใช้

การศึกษาการระคายเคืองและทดสอบประสิทธิภาพเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังใช้สถิติ paired t-test ในการประเมินผล โดยมีค่านัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (p -value < 0.05) และใช้โปรแกรม IBM® SPSS® Statistics version 24 (SPSS Inc., Chicago, USA) ในการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองและวิจารณ์

การสกัดสารสำคัญจากฝักกระเจี๊ยบเขียว

เมื่อเปรียบเทียบ % yield ของสารสกัดจากฝักกระเจี๊ยบเขียวพบว่า สารสกัดที่มี % yield สูงสุด 2 ลำดับแรก คือสารสกัดจากฝักกระเจี๊ยบเขียวแห้ง สกัดด้วยวิธีไพล์ออนกลับด้วยความร้อนด้วยตัวทำละลาย 50% ethanol (RFd50) และสารสกัดจากฝักกระเจี๊ยบเขียวแห้ง สกัดด้วยวิธีแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อนด้วยตัวทำละลาย 50% ethanol (MTd50) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 27.65% และ 27.50% ตามลำดับ (Table 2) การใช้ตัวทำละลาย 50% ethanol ทำให้ได้สารสกัดออกมาในปริมาณมาก จากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Chansukh (2019) พบว่าสารในกลุ่ม polysaccharide มีความสามารถในการละลายน้ำ ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วได้ดี และสารในกลุ่ม polyphenol มีความสามารถในการละลาย ethanol ซึ่งเป็นตัวทำละลายกึ่งมีขั้วได้ดีเช่นกัน จึงทำให้ตัวทำละลาย 50% สามารถสกัดสารทั้ง 2 กลุ่ม ดังกล่าวข้างต้นออกมาได้ในปริมาณมาก ซึ่งส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้ของสารสกัดเพิ่มมากขึ้นด้วย

การหาปริมาณ Polysaccharide ในสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว ด้วยวิธี phenol-sulfuric acid

จากการทดลองเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของ polysaccharide ในสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 12 ตัวอย่าง ที่คำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกลูโคส พบว่าสารสกัดจากฝักกระเจี๊ยบเขียวแห้งที่สกัดด้วยวิธีแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อน ด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol (MTd95) มีเปอร์เซ็นต์ของ polysaccharide สูงสุดคือ 7.22 ± 0.12 %mg glucose/g โดยมีปริมาณมากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วย 50% ethanol (MTd50) และสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ (MTdD) ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jia *et al.*, (2011) และ Zou *et al.*, (2013) ซึ่งพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วย ethanol ที่ความเข้มข้นสูงจะมีปริมาณของ polysaccharide ในปริมาณมาก เนื่องจาก ethanol ที่มีความเข้มข้นสูงจะสามารถตกตะกอนสารที่พบได้ในฝักกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งเป็นโมเลกุล polysaccharide ขนาดเล็กได้หลายชนิด เช่น galactose, rhamnose และ galacturonic acid

Table 2. % yield, polysaccharides and total phenolic content of pod okra extract

Samples	% Yield	% Polysaccharide		Total phenolic compound	
		(mg glucose/g) (mean $\pm$ S.D.)	p-value	(mg GAE/g) (mean $\pm$ S.D.)	p-value
MTF95	2.70	3.91 ± 0.22^a	0.019	0.08 ± 0.08^a	0.001
MTF50	3.60	0.58 ± 0.03^b	0.033	1.26 ± 0.01^b	0.004
MTFD	1.75	0.13 ± 0.02		1.41 ± 0.02	
MTd95	4.00	7.22 ± 0.12^a	0.021	0.07 ± 0.01^a	0.002
MTd50	27.50	5.58 ± 0.03^b	0.001	1.24 ± 0.01	0.256
MTdD	11.70	1.20 ± 0.02		1.14 ± 0.01	
RFF95	2.60	3.14 ± 0.27^a	0.027	0.24 ± 0.06^a	0.001
RFF50	4.98	1.07 ± 0.09^b	0.042	1.25 ± 0.09	0.067
RFFD	16.55	0.76 ± 0.01		1.14 ± 0.01	
RFd95	8.84	7.14 ± 0.08^a	0.037	0.02 ± 0.04^a	0.001
RFd50	27.65	3.76 ± 0.02^b	0.048	1.24 ± 0.01	0.062
RFdD	18.15	1.99 ± 0.02		1.24 ± 0.03	

Note: MT = Maceration, RF = Reflux, F = Fresh okra, d = Dried okra, D = DI water, 95 = 95% EtOH, 50 = 50% EtOH, ^a = significantly different at $P < 0.05$ between okra pod extracted with 95% ethanol and okra pod extracted with 50% ethanol, ^b = significantly different at $P < 0.05$ between okra pod extracted with 50% ethanol and okra pod extracted with distilled water

การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม (total phenolic compound) ในสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวโดยวิธี Folin-Ciocalteu method

ในการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกรวมโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (Table 2) ในสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวพบว่า สารสกัดจากผักกระเจี๊ยบเขียวสด สกัดด้วยวิธีการแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อนด้วยตัวทำละลายน้ำ (MTFD) มีค่า total phenolic compound สูงที่สุด เท่ากับ 1.41 ± 0.02 mg GAE/g โดยผักกระเจี๊ยบเขียวที่ถูกสกัดด้วยวิธีดังกล่าวจะมีน้ำเป็นตัวทำละลายซึ่งสามารถสกัดสารกลุ่ม phenolic ออกมาได้ปริมาณสูง เนื่องจากน้ำมีพันธะไฮโดรเจนสามารถเข้าไปจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่ใน phenolic compound ได้มาก จึงทำให้สารสกัดดังกล่าวมีปริมาณของ total phenolic compound มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดกลุ่มเดียวกันที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% ethanol (MTF95) และ 50% ethanol (MTF50) (Huda-Faujan *et al.*, 2015)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง โดยสังเกตความสามารถในการกำจัด DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง (Chen *et al.*, 1999) จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากผักกระเจี๊ยบเขียวสด สกัดด้วยวิธีไหลย้อนกลับด้วยความร้อนด้วยตัวทำละลายน้ำ (RFFD) มีความเข้มข้นของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (SC_{50}) มีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 0.15 ± 0.02 mg/ml แสดงใน (Table 3) สารสกัด RFFD เป็นสารที่สกัดด้วยน้ำ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง อันเนื่องจากในสารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวมีสารในกลุ่ม polyphenolic ได้แก่ hyperoside, quercetin, coumarin, scopoletin, uridine, phenylalanine อนุพันธ์ quercetin และ (-)-epigallocatechin จากการศึกษาของ Jia *et al.* (2011) พบว่าโมเลกุลของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายจะมีพันธะไฮโดรเจน เข้าไปจับกับหมู่ไฮดรอกซิลของสารกลุ่ม polyphenolic ทำให้สารกลุ่มนี้ออกมาได้ปริมาณมาก (Huda-Faujan *et al.*, 2015) ดังนั้นสารสกัด RFFD ซึ่งมี

น้ำเป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารกลุ่ม polyphenolic ออกมาได้มากกว่าสารสกัดกลุ่มเดียวกันที่สกัดด้วย 95% ethanol (RFF50) และ 50% ethanol (RFF95) จึงทำให้สารสกัด RFFD มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง

การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ด้วยวิธี ferric thiocyanate (FTC)

จากผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ด้วยวิธี ferric thiocyanate (FTC) เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการสลายตัวของไขมัน จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ linoleic acid ที่จับกับโลหะไอออน (Fe^{2+}) (Gülçin, 2006) ในการทดลองพบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% ethanol และ DI water มีความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้ง lipid peroxidation ได้ร้อยละ 50 (IPC_{50}) ได้ โดยสารสกัดจากผักกระเจี๊ยบเขียวสด สกัดด้วยวิธีแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อนด้วยตัวทำละลาย 50% ethanol (MTF50) มีค่า IPC_{50} ต่ำที่สุด เท่ากับ 0.01 ± 0.01 mg/ml (Table 3) เนื่องจากโลหะจะไปกระตุ้นการเกิด lipid peroxidation โดยผ่านกระบวนการ catalytic peroxidation ของไขมัน linoleic acid (Knight and Voorhees, 1990) ซึ่งในผักกระเจี๊ยบเขียวมีสารในกลุ่ม polyphenolic มีสมบัติเป็นนิวคลีโอไฟล์ (nucleophile) ที่ดีสามารถดักจับอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ (Visioli and Galli, 1998) ทำให้สารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวสามารถยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ได้

การตั้งตำรับและการประเมินความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์อิมัลชันเจล

สารสกัดจากผักกระเจี๊ยบเขียวแห้งที่สกัดด้วย 50% ethanol ด้วยวิธีแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อน (MTd50) ซึ่งมีปริมาณสารสำคัญสูงและมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี คือมีปริมาณ polysaccharide เท่ากับ 5.58 ± 0.03 mg glucose/g มีปริมาณ Total phenolic compound เท่ากับ 1.24 ± 0.01 mg GAE/g มีค่า SC_{50} เท่ากับ 0.59 ± 0.07 mg/ml และมีค่า IPC_{50} เท่ากับ 0.02 ± 0.02 mg/ml โดยสารสกัดดังกล่าวได้ถูกคัดเลือกมาเป็นสารสำคัญใน

Table 3. Free radical scavenging activity and lipid peroxidation inhibition activity

Samples	SC ₅₀ (mg/ml) (mean ± S.D.)	p-value	IPC ₅₀ (mg/ml) (mean ± S.D.)	p-value
MTF95	2.39 ± 0.22 ^a	0.013	N/A	
MTF50	0.42 ± 0.15	0.103	0.01 ± 0.01 ^b	0.022
MTFD	0.20 ± 0.01		0.02 ± 0.01	
MTd95	3.95 ± 0.61 ^a	0.020	N/A	
MTd50	0.59 ± 0.07	0.071	0.02 ± 0.02	0.168
MTdD	1.11 ± 0.37		0.02 ± 0.01	
RFF95	1.19 ± 0.14 ^a	0.008	N/A	
RFF50	0.17 ± 0.01 ^b	0.023	0.18 ± 0.06 ^b	0.021
RFFD	0.15 ± 0.02		0.03 ± 0.01	
RFd95	1.59 ± 0.27 ^a	0.037	N/A	
RFd50	0.49 ± 0.05 ^b	0.016	0.02 ± 0.01 ^b	0.024
RFdD	0.92 ± 0.15		0.04 ± 0.02	
Ascorbic acid	0.02 ± 0.01		0.05 ± 0.01	

Note: SC₅₀ = the concentration of 50% scavenging activity, IPC₅₀ = the concentration of 50% lipid peroxidation inhibition, N/A = No activity, ^a = significantly different at $P < 0.05$ between okra pod extracted with 95% ethanol and okra pod extracted with 50% ethanol, ^b = significantly different at $P < 0.05$ between okra pod extracted with 50% ethanol and okra pod extracted with distilled water

ตำรับอิมัลชันเจล เมื่อทำการทดสอบลักษณะทางกายภาพและความคงตัวของตำรับอิมัลชันเจลที่เตรียมขึ้นพบว่า ตำรับพื้นมีสีขาวขุ่นโปร่งแสง ไม่มีกลิ่น มีพีเอชค่อนข้างเป็นกลาง คือ 6.58 มีค่าความหนืด $27,735.33 \pm 12.47$ cP ขณะที่ ตำรับที่ใส่สารสกัดมีสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะของสารสกัดมีพีเอชลดลงเท่ากับ 5.40 และมีค่าความหนืด $28,088.67 \pm 5.56$ cP แสดงใน (Table 4) ซึ่งมีความหนืดสูงกว่าตำรับพื้น โดยทั้งสองตำรับไม่เกิดการแยกชั้นเกิดขึ้นก่อนการนำไปทดสอบความคงตัว และผลการทดสอบความคงตัวด้วยวิธีเร่งด้วยอุณหภูมิร้อนสลับเย็น (heating-cooling cycle) พบว่า หลังการเก็บภายใต้สภาวะเร่งตำรับพื้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านกลิ่น แต่สีมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ส่วนตำรับที่ใส่สารสกัดผักกระเจียบเขียวมีกลิ่นที่เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และสีเปลี่ยนแปลงปานกลาง โดยทั้งสองตำรับไม่เกิดการแยกชั้น มีค่าพีเอชและความหนืดลดลง ไม่พบการเจริญของเชื้อราและเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร

จากการทดสอบการระคายเคืองบริเวณท้องแขนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาสาสมัครเพศหญิง 15 คน (Table 5) พบว่า 3% sodium lauryl sulfate (SLS) เป็น Positive control มีค่าความแดงของผิวเพิ่มขึ้น ก่อให้เกิดการระคายเคืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนและหลังทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง sodium lauryl sulfate (SLS) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีความเข้มข้น 3% เมื่อสัมผัสกับผิวเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จึงสามารถก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังได้ (di Nardo *et al.*, 1996) บริเวณทดสอบที่ทา sterile distilled water เป็น negative control ตำรับพื้นไม่มีสารสกัดผักกระเจียบเขียว และตำรับที่ใส่สารสกัดผักกระเจียบเขียว เมื่อวัดความแดงของผิวก่อนและหลังทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีค่าความแดงของผิวไม่เปลี่ยนแปลง จึงสรุปได้ว่าไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองกับผิวหนังในอาสาสมัคร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kanlayavattanukul *et al.*, (2012) ทดสอบการระคายเคืองบนผิวหนังในอาสาสมัคร 12 คน พบว่า สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เจลทำความสะอาดมือ

Table 4. Physical and chemical stability of the product before and after the stability test using heating-cooling cycle

Samples	Physical and chemical stability									
	pH		Viscosity (cP) (mean $\pm$ S.D.)		Odor		Color		Separation	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
Based formulation	6.58	5.72	27,735.33 $\pm$ 12.47	25,660.67 $\pm$ 4.19	-	-	-	+	-	-
Formulation containing okra extract	5.40	5.02	28,088.67 $\pm$ 5.56	28,064.67 $\pm$ 19.60	-	+	-	++	-	-

Note: (-) = No change, (+) = Minimal change, (++) = Moderate change

Table 5. Skin erythema evaluation in female volunteers before and after using the sample products for 24 hours

Samples	Erythema (mean $\pm$ S.D.)	
	Before	After
3% Sodium Lauryl sulfate (SLS)	9.0 $\pm$ 1.3	11.3 $\pm$ 2.4 ^a
Sterile distilled water	9.5 $\pm$ 1.6	9.2 $\pm$ 1.6
Base formulation	9.6 $\pm$ 1.5	9.5 $\pm$ 1.5
Formulation containing okra extract	10.1 $\pm$ 1.7	9.8 $\pm$ 1.6

Note: ^a = statistically significant difference at $P < 0.05$

ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวไม่มีการระคายเคืองกับผิวหนัง

การทดสอบความชุ่มชื้นในอาสาสมัคร

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพเพิ่มความชุ่มชื้นบนผิวหนังบริเวณผิวที่ไม่ได้ทาผลิตภัณฑ์, ตักรับพื้นที่ไม่ใส่สารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียว ตักรับที่ใส่สารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียว และตักรับผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มความชุ่มชื้นตามท้องตลาด ประเมินในอาสาสมัครเพศหญิงจำนวน 15 คน (Table 6) โดยใช้เครื่องวัดความชื้นซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณน้ำใน stratum corneum พบว่าตักรับที่ใส่สารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวมีค่าความชุ่มชื้นของผิวมากกว่าตักรับพื้นที่ไม่ใส่สารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ตั้งแต่เวลา 0 ถึง 120 นาที และตักรับที่ใส่สารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวยังมีค่าความชุ่ม

ชื้นของผิวเพิ่มขึ้นมากกว่าบริเวณที่ไม่ได้ทาผลิตภัณฑ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่เวลา 15, 30, 60 และ 90 นาที เนื่องจากตักรับมีส่วนประกอบของสารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวที่มีส่วนประกอบของ polysaccharide ที่มีคุณสมบัติให้ความชุ่มชื้นโดยเป็นฟิล์มเคลือบผิวชั้น stratum corneum และช่วยเพิ่มปริมาณน้ำในผิวหนัง (Kanlayavattanukul *et al.*, 2012) นอกจากนี้สารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวยังมีส่วนประกอบของสาร polyphenolic ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลให้สามารถช่วยปกป้องผิวจากการเกิดปฏิกิริยาจากสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ได้ เช่น แสงแดด ที่ก่อให้เกิดริ้วรอยและสูญเสียความชุ่มชื้นของผิวหนัง เป็นต้น ดังนั้นสารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวที่มีองค์ประกอบของ polysaccharide และ polyphenolic จึงมีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นของผิวหนัง จากสารสกัดกระเจี๊ยบเขียวดังนั้นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มี

Table 6. Skin moisture in female volunteers using the sample products for 120 minutes

Samples	Skin hydration (mean $\pm$ S.D.)					
	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Untreated area	230.9 $\pm$ 54.5	236.8 $\pm$ 57.0	246.2 $\pm$ 51.5	235.2 $\pm$ 48.7	239.4 $\pm$ 50.0	237.4 $\pm$ 47.2
Commercial product	225.9 $\pm$ 65.0	498.3 $\pm$ 107.6	448.7 $\pm$ 107.4	414.5 $\pm$ 87.5	343.5 $\pm$ 69.9	299.2 $\pm$ 46.6
Based formulation	212.4 $\pm$ 57.0	369.1 $\pm$ 109.5	327.7 $\pm$ 81.8	253.4 $\pm$ 56.4	241.9 $\pm$ 54.6	217.6 $\pm$ 56.4
Formulation containing okra extract	223.6 $\pm$ 58.3 ^a	400.6 $\pm$ 107.6 ^{a,b}	369.3 $\pm$ 90.0 ^{a,b}	271.6 $\pm$ 57.0 ^{a,b}	250.3 $\pm$ 59.4 ^{a,b}	225.6 $\pm$ 52.4 ^a

Note:

^a = significantly different at $P < 0.05$ between base formulation and formulation containing of okra extract^b = significantly different at $P < 0.05$ between untreated area and formulation containing of okra extract

ส่วนประกอบของสารสำคัญซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะสามารถช่วยปกป้องผิวจากมลภาวะภายนอก ทำให้ผิวหนังมีความแข็งแรงและสามารถกักเก็บน้ำในผิวให้มีความชุ่มชื้นได้ (Huang and Miller, 2007)

สรุป

กระเจี๊ยบเขียวเป็นหนึ่งในผักเศรษฐกิจของประเทศไทย ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีแนวคิดนำผักกระเจี๊ยบเขียว มาศึกษาฤทธิ์ และพัฒนาต่อเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยคัดเลือกสารสกัดจากผักกระเจี๊ยบเขียวแห้งที่สกัดด้วย 50% ethanol ด้วยวิธีแช่หมักโดยไม่ใช้ความร้อน (MTd50) พบว่ามีปริมาณ polysaccharide เท่ากับ 5.58 ± 0.03 mg glucose/g extract มีปริมาณ Total phenolic compound เท่ากับ 1.24 ± 0.01 mg GAE/g มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด โดยมีค่า SC_{50} เท่ากับ 0.59 ± 0.07 mg/ml และมีความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation สูงที่สุด โดยมีค่า IPC_{50} เท่ากับ 0.02 ± 0.02 mg/ml มาเป็นสารสำคัญในตำรับครีมต้านแดด จากการทดสอบในอาสาสมัครพบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากผักกระเจี๊ยบเขียวไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และสามารถเพิ่มความชุ่มชื้นยาวนานแก่ผิวหนังหลังทาผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 90 นาที อีกทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้มีส่วนประกอบของสารสกัดผักกระเจี๊ยบเขียวซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ที่ช่วยปกป้องผิวจากมลภาวะภายนอก ทำให้ผิวมีความแข็งแรงและสุขภาพดี สำหรับการพัฒนางานวิจัยในอนาคต

สามารถนำผลการศึกษานี้ไปใช้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่สามารถออกจำหน่ายสู่ท้องตลาดได้ และยังเป็นแนวทางในการพัฒนาตำรับเครื่องสำอางอื่น ๆ ที่มีส่วนประกอบของสารสำคัญจากพืชธรรมชาติได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา สำหรับทุนและสถานที่ในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Chansukh, K. 2019. Isolation, separation and identification of active principles from medicinal plants. (Online). Available: [elfit.ssru.ac.th/kittsak_ja/pluginfile.php/98/block_html/content/4-Isolation Separation and identification of active principles from medicinal plants-kittsak.pdf](http://elfit.ssru.ac.th/kittsak_ja/pluginfile.php/98/block_html/content/4-Isolation%20Separation%20and%20identification%20of%20active%20principles%20from%20medicinal%20plants-kittsak.pdf) (October 21, 2019). (in Thai)
- Chen, Y., M.F. Wang, R.T. Rosen and C.T. Ho. 1999. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging active components from *Polygonum multiflorum* Thumb. Journal of

- Agricultural and Food Chemistry 47(6): 2226-2228.
- di Nardo, A., K. Sugino, P. Wertz, J. Ademola and H.I. Maibach. 1996. Sodium lauryl sulfate (SLS) induced irritant contact dermatitis: a correlation study between ceramides and in vivo parameters of irritation. Contact Dermatitis 35(2): 86-91.
- Fan, S., Y. Zhang, Q. Sun, L. Yu, M. Li, B. Zheng, X. Wu, B. Yang, Y. Li and C. Huang. 2014. Extract of okra lowers blood glucose and serum lipids in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. Journal of Nutritional Biochemistry 25(7): 702-709.
- Gülçin, I. 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). Toxicology 217(2-3): 213-220.
- Huang, C.K. and T.A. Miller. 2007. The truth about over-the-counter topical anti-aging products: A comprehensive review. Aesthetic Surgery Journal 27(4): 402-412.
- Huda-Faujan, N., Z.A. Rahim, M.M. Rehan and F.B.H. Ahmad. 2015. Comparative analysis of phenolic content and antioxidative activities of eight Malaysian traditional vegetables. Malaysian Journal of Analytical Sciences 19(3): 611-624.
- Jaipakdee, N., K. Trakanchaiwong and E. Limpongsa. 2015. Evaluation of physical stability, efficacy and preference of anticellulite cream containing natural compounds. Isan Journal of Pharmaceutical Sciences 11(2): 55-70. (in Thai)
- Jia, G.T. and H.Q. Zhao. 2015. Extraction and Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Salvia miltiorrhiza*. pp. 106-109. In: Proceedings of International Conference on Chemical, Material and Food Engineering. Atlantis Press, Paris.
- Jia, L., H.F. Li and L.L. Jing. 2011. Chemical constituents in n-butanol extract of *Abelmoschus esculentus* L. Chinese Traditional and Herbal Drugs 41(11): 1771-1773.
- Knight, J.A. and R.P. Voorhees. 1990. Peroxidation of linolenic acid—catalysis by transition metal ions. Annals of Clinical and Laboratory Science 20(5): 347-352.
- Kanlayavattanukul, M., C. Rodchuea and N. Lourith. 2012. Moisturizing effect of alcohol-based hand rub containing okra polysaccharide. International Journal of Cosmetic Science 34(3): 280-283.
- Limpongsa, E., N. Jaipakdee and S. Deeseenthum. 2014. Formulation and evaluation of facial masks prepared from Thai jasmine rice. KKU Research Journal 19(6): 905- 915. (in Thai)
- Manosroi, A., P. Jantrawat, M. Sainakham, W. Manosroi and J. Manosroi. 2012. Anticancer activities of the extract from Longkong (*Lansium domesticum*) young fruits. Pharmaceutical Biology 50(11): 1397-1407.
- Manosroi, A., M. Sainakham, C. Chankhampan, W. Manosroi and J. Manosroi. 2016. *In vitro* anti-cancer of Job's tears (*Coix lachryma-jobi* Linn.) extracts on human colon adenocarcinoma. Saudi Journal of Biological Sciences 23(2): 248-256.
- Roy, A., S.L. Shrivastava and S.M. Mandal. 2014. Functional properties of okra *Abelmoschus esculentus* L. (Moench): traditional claims and scientific evidences. Plant Science Today 1(3): 121-130.

- Visioli, F. and C. Galli. 1998. The effect of minor constituent of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutrition Reviews*. 56(5): 142-147.
- Yuan, Q., S. Lin, Y. Fu, X.R. Nie, W. Liu, Y. Su, Q.H. Han, L. Zhao, Q. Zhang, D.R. Lin, W. Qin and D.T. Wu. 2019. Effects of extraction methods on the physicochemical characteristics and biological activities of polysaccharides from okra (*Abelmoschus esculentus*). *International Journal of Biological Macromolecules* 127: 178-186.
- Zhang, Q., J. Zhang, J. Shen, A. Silva, D.A. Dennis and C.J. Barrow. 2006. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of Applied Phycology* 18(3-5): 445-450.
- Zou, P., X. Yang, W.W. Huang, H.T. Zhao, J. Wang, R.B. Xu, X.L. Hu, S.Y. Shen and D. Qin. 2013. Characterization and bioactivity of polysaccharides obtained from pine cones of *Pinus koraiensis* by graded ethanol precipitation. *Molecules* 18(8): 9933-9948.
-

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.

Shutsrirung, 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. Rourmchaiapikun 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 2 May - August 2020

Effects of Photoperiod and Gibberellic Acid on Flowering of Hydrangea Suphatta Saekor and Nuttha Potapohn.....	161
Heterosis Studies on Horticultural Characteristics and Yield of Chili Hybrids Aatjima Na Jinda and Jutamas Kumchai.....	169
Effects of Salicylic Acid and GA ₃ Solutions on Germination and Vigor of 'Khaek Dam Kaset' Papaya Seed Wilasinee Rattanaphan, Rattaphol Chatbanyong and Pichitra Kaewsorn.....	177
Effects of Phosphate-solubilizing Bacillus Application with Chemical Fertilizer on Yield and Yield Components of Sugarcane in Pak Chong Soil Series Sirinapa Chungopast and Chaisit Thongjoo.....	187
Effects of Na-bentonite on Soil Chemical Properties in Natural Gas Pipeline Rights of Way Thamonwan Khongchai, Natthapol Chittamart, Saowanuch Tawornpruek, Daojarus Ketrot Surachet Aramrak and Kittiphong Songrukkiat.....	197
Effects of Nitrogen Fertilizer Rates and Irrigation Methods on Growth and Yield of Sweet Corn in Chiang Mai Province Panitnart Mungmoon and Choochad Santasup.....	211
Effects of Crude Extract from Fever Vine (<i>Paederia linearis</i> Hook. f.) in Controlling Rice Weevil (<i>Sitophilus oryzae</i> L.) Duangduan Wattanuruk and Nathapong Matintarangsorn.....	225
Association Between <i>cGH</i> and <i>IGF-1</i> Genotype Patterns and Body Weight and Growth of Khai Mook Esarn 2 Chicken Anuwat Jandamook, Banyat Laopaiboon and Sajee Kunhareang.....	235
Effects of Soybean Soapstock Supplementation in Broiler Diets on Nutrient Digestibility, Productive Performance, Carcass Composition, Meat Quality and Economic Benefit Return Manatsanun Nopparatmaitree, Watchara Pinthong, Jinda Klin-Ubol, Thanapat Sittisuporn, Nuttapol Aiern-Mongkol, Kanokkorn Pharaweck, Pitchaya Chumcaun, Pornpimol Kongtap, Bhutharit Vittayaphathananurak Raksasiri and Warangkana Kitpipit.....	247
Molecular Genetic Methods for Diagnosis of White Spot Syndrome in White Shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>) Ratchanon Kusolsongkhrokul, Vassana Sirisan, Pongphol Pongthaisong and Wootichai Kenchaiwong.....	257
Effects of Carrageenan on Properties of Egg White Powder from By-product Salted Egg Supaporn Apirattananusorn, Uraporn Rueangwatcharin and Sukanya Maicaurkaew.....	269
Development of Moisturizing Product from Okra (<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench) Extract Patchareewan Bhaokam, Trinlada Saengtong, Nitchanan Suchonwattanakul and Mathukorn Sainakham.....	279

ISSN 0857-0841

