



# วารสารเกษตร

## JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 33 ฉบับที่ 3 กันยายน - ธันวาคม 2560

การวิเคราะห์องค์ประกอบของแอนโทไซยานินและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของดอกกล้วยไม้ช้าง

ณัฐดนัย สุเมธาโชติพงษ์ กรวรรณ ศรีงาม วิวัฒน์ บัณฑิตย์ และ ณัฐา โพธารมณ์.....311

การกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวเหนียวดำจากที่สูงและ

ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ปลูกที่ลุ่มและที่สูง

พิทวัส สมบูรณ์ ชนาภานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย ต่อนภา ผุสดี และ ศันสนีย์ จำจด.....323

ผลของแบคทีเรียที่ผลิตสาร Indole-3-Acetic Acid (IAA) ต่อการเจริญเติบโตและ ปริมาณธาตุอาหารของพริกขี้หนู

จิราภรณ์ อินทสาร ฉัตรปวีณ์ เดชจิรัตน์สิริ และ ประวิทย์ บุญมี.....333

คุณลักษณะของ *Azospirillum* spp. สายพันธุ์ท้องถิ่นในปมถั่วลิสงและการอยู่ร่วมกันได้กับ *Bradyrhizobium* ในประเทศไทย

พรรณพร กองแก้ว สุภาภค พินิจศักดิ์พัฒนา ภัสชญภณ ห่มนึ่ง และ อัจฉรา นันทกิจ.....345

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ cutinase และ endopolygalacturonase ของเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

ในช่วงการเข้าทำลายบนผลพริก

สวิตา สุวรรณรัตน์ ปฐวิภา สงกุมาร Siegrid Steinkellner และ สมศิริ แสงโชติ.....357

ประสิทธิภาพเศษใบและก้านใบยาสูบในการควบคุมแมลงศัตรูผักบางชนิด

ศุภกร วงศ์สุข เขียวลักษณ์ จันทร์บาง และ จิราพร กุลสาริน.....367

ประสิทธิภาพของก้านคาร์บอนไดออกไซด์ในการกำจัดมอดหนวดยาว (*Cryptolestes pusillus*) ในข้าวและสัณฐานวิทยาของไข่มอดหนวดยาว

พุดิพัฒน์ คุณะปัญญาติลภ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์ และ เขียวลักษณ์ จันทร์บาง.....377

ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกร ตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

นราสินี แก้วโหลมา สุพล เศรษฐบุตร บุศรา ลิ้มวันตร์กุล และ ประทานทิพย์ กะมด.....387

ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเกษตรอินทรีย์ที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ

จังหวัดเชียงใหม่

จารุวรรณ พุดั่น สุพล เศรษฐบุตร วรทัศน์ อินทร์คัมพร และ ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข.....397

การยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งของเกษตรกรในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ณัฐวุฒิ จันทอง และ พหล ศักดิ์ะทัศน์.....405

การพัฒนาสาธิตได้ด้าที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร

พิชชาภา โอจงเพียร พาณี ปิมปา และ เพ็ญศักดิ์ จันทร์วสุ.....415

การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ระบาดในฟาร์มปลานิลโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี

จาตุรนต์ บ้องน้ำไม่ และ ชนกันต์ จิตมนัส.....427

การให้อาหารหมักจากวัสดุเศษเหลือแบบจำกัดต่อประสิทธิภาพการผลิตและต้นทุนทางเศรษฐกิจในโคนมสาวทดแทน

อาทิตย์ ปัญญาศักดิ์ สมเกียรติ ประสานพานิช และ ศรเทพ อัมมาสาร.....437

การเปรียบเทียบสมรรถภาพการขุน คุณภาพซาก และเนื้อของโคลูกผสมระหว่างพันธุ์พื้นเมืองกับชาร์โรเลต์ แบล็คแองกัส และบราห์มัน

ธนาพร บุญมี นิราภรณ์ ชัยวัง ณัฐพันธ์ กันธิยะ และ สัตยชัย จตุรสิทธา.....451

บทความปริทัศน์:

งาซีม่อน: ทางเลือกอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มปริมาณกรดไขมันโอเมกาสามในเนื้อสัตว์และใช้สำหรับเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ

นภัสสร มณฑา วินัย โยธินศิริกุล กิตติพงษ์ ทิพย์ะ ครรชิต ชมพูพันธ์ Christian Lambert และ สัตยชัย จตุรสิทธา.....463

ISSN 0857-0841

TCI กลุ่มที่ 1

## คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

### เรื่องที่ตีพิมพ์

บทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการ ทางด้านเกษตรศาสตร์และสาขาที่เกี่ยวข้อง

### การเตรียมต้นฉบับ

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

### 3. การเรียงลำดับเนื้อหา

3.1 ชื่อเรื่อง (Title) ควรสั้น ชัดเจน และต้องสื่อเป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

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

3.3 บทคัดย่อ (Abstract) ควรเป็นเนื้อหาที่สั้น ชัดเจนและเข้าใจง่าย โดยรวมเหตุผลในการศึกษาวิจัย อุปกรณ์ วิธีการ ตลอดจนผลการศึกษาและสรุปด้วย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ควรเกิน 300-350 คำ และให้ระบุคำสำคัญ (keywords) ไว้ท้ายบทคัดย่อแต่ละภาษาด้วย (บทความปริทัศน์อาจไม่ต้องมีบทคัดย่อ)

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

3.5 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ให้อธิบายละเอียดวัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ ตลอดจนวิธีและแบบจำลองการศึกษาวิจัยที่ชัดเจน และสมบูรณ์

3.6 ผลการศึกษาหรือผลการทดลอง (Results) ให้บรรยายผลการศึกษาวิจัย พร้อมเสนอข้อมูลในรูปแบบ ตารางหรือภาพประกอบได้ โดยตารางหรือภาพ ให้จัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด

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

3.8 สรุป (Conclusion) ควรสรุปผลที่ได้รับจากการศึกษาวิจัยว่าเป็นไปตามวัตถุประสงค์หรือไม่ พร้อมให้ข้อเสนอแนะ หรือระบุอุปสรรคและแผนงานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไป

### 4. กิตติกรรมประกาศ หรือ คำขอบคุณ (Acknowledgement)

อาจมีหรือไม่ก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ช่วยเหลือในงานวิจัย แต่ไม่ได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย

### 5. เอกสารอ้างอิง (References)

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

5.2 ในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้เรียงลำดับเอกสารภาษาไทยก่อนภาษาอังกฤษ โดยเรียงตามลำดับอักษรในแต่ละภาษา ตามรูปแบบการเขียนนี้ดังนี้

### 1) วารสาร (Journals)

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

วันทนา มูทิตา และ ณัฐรา วรรณประเสริฐ. 2547. เชลล์พันธุ์ศาสตร์และการถ่ายทอดสีตอกของฟิวเซีย. วารสารเกษตร 20(1): 10-18.

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

### 2) หนังสือ และตำรา (Books & Textbooks)

ชื่อผู้เขียน ปีที่พิมพ์ ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

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

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

### 3) เรียงย่อในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องกันเขียน และมีบรรณธิการ

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

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

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

### 4) วิทยานิพนธ์

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

อภิรักษ์ มณีพงษ์. 2547. ผลของการใช้ไอโซนต่อคุณภาพและสารพิษตกค้างหลังการเก็บเกี่ยวส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 100 หน้า.

### 5) เอกสารวิชาการอื่นๆ

ชื่อผู้เขียน หรือหน่วยงาน ปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่องหรือชื่อหนังสือ. ประเภทของเอกสาร. สถาบันหรือหน่วยงานที่จัดทำ. เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

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

### 6) สื่ออิเล็กทรอนิกส์

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

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

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

คู่มือคำแนะนำในการใช้ภาษาอังกฤษในเนื้อเรื่องภาษาไทย และการส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์ได้ในนิตยสาร

# วารสารเกษตร

## JOURNAL OF AGRICULTURE

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

อ.ดร. สรณะ สมโน  
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
ศ.ดร. จรัญ จันทลักขณา  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
ศ. ญานวิทย์ ดร. เมธาวรรณพัฒน์  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศ.ดร. อังศุมาลย์ จันทราปัติย์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
ศ.ดร. สุชีลา เดชะวงศ์เสถียร  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
ศ.ดร. ธวัชชัย ศุภดิษฐ์  
สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์  
รศ.ดร. เสวียน เปรมประสิทธิ์  
มหาวิทยาลัยนเรศวร  
รศ.ดร. วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ  
มหาวิทยาลัยนเรศวร  
รศ.ดร. เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
รศ. บำเพ็ญ เขียวหวาน  
มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมวิราช  
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  
นางสาวอรณิชาณ์ ปารมี  
นายมานพ เปี้ยพรรณ

Sarana Sommano, Ph.D.  
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.  
Nation 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

สวัสดีครับท่านผู้อ่านทุกท่าน

วารสารเกษตรได้ย่างเข้าปีที่ 34 แล้วครับ ขอต้อนรับท่านผู้อ่านด้วยบทความวิจัย จำนวน 15 เรื่องด้วยกัน มีสาขาพืชสวน 3 เรื่อง ปฐพี 2 เรื่อง โรคพืช 3 เรื่อง ส่งเสริมการเกษตร 3 เรื่อง สัตวศาสตร์ 3 เรื่อง และอุตสาหกรรมเกษตรอีก 1 เรื่อง ทุกเรื่องเข้มข้นไปด้วยเนื้อหาวิชาการที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้ นี่เป็นการแสดงให้เห็นว่างานวิจัยนำไปใช้ได้จริง นอกจากนี้ยังมีบทความวิจัยที่ได้ทำ ณ ประเทศเมียนมาร์ในเรื่องประเมินศักยภาพมะม่วงก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวนั้น ทำให้เห็นได้ว่าวารสารเกษตรเป็นวารสารที่ได้รับการยอมรับจากนักวิจัยต่างชาติมากขึ้น และเป็นเรื่องที่น่ายินดีที่วารสารเกษตรได้เป็นแม่แบบของวารสารในสายเกษตรด้วยกันที่ยกทีมงานมาดูวิธีการดำเนินการของวารสาร

ขอขอบคุณนักวิจัยและคณะที่ได้ส่งบทความที่ดี มีคุณค่ามาแบ่งปันให้ทุกท่านได้อ่าน ซึ่งจะทำให้ทุกท่านได้สาระจากการอ่านอย่างมาก เพื่อเตรียมตัวกับการก้าวไปสู่ประเทศไทย 4.0 ด้วยกัน

พบกันใหม่ในฉบับหน้าครับ

ศ. (เชี่ยวชาญพิเศษ) ดร. สัมชัย จตุรสิทธิ์ธา

บรรณาธิการวารสารเกษตร



การวิเคราะห์องค์ประกอบของแอนโทไซยานิน  
และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของดอกกล้วยไม้ช้าง

Analysis of Anthocyanin Components and Genetic Relationship  
of *Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl. Flower

ณัฐดนัย สุเมธาโชติพงษ์<sup>1\*</sup>, กรวรรณ ศรีงาม<sup>2</sup>, วีณัน บัณฑิตย์<sup>1,3</sup> และ ณัฏฐา โพธารณ<sup>1</sup>  
Natdanai Sumaythachotphong<sup>1\*</sup>, Korawan Sringarm<sup>2</sup>, Weenun Bundithya<sup>1,3</sup>  
and Nuttha Potapohn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup>Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>2</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup>Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>3</sup>ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (AG-BIO/PERDO-CHE) จ.นครปฐม 73140

<sup>3</sup>Center of Excellence on Agricultural Biotechnology, Science and Technology Postgraduate Education and Research  
Development Office, Commission on Higher Education (AG-BIO/PERDO-CHE), Nakhon Pathom 73140, Thailand

\*Corresponding author: Email: donn027@hotmail.com

(Received: 26 April 2017; Accepted: 19 July 2017)

**Abstract:** *Rhynchostylis gigantea* is an epiphytic orchid commonly found in Thailand. Generally, there are four varieties of this species, pure white flower (*R. gigantea* var. *harrisoniana*), white with red-spots, white with red-blotches and solid red flower (*R. gigantea* var. *rubrum*). Recently, the new hybrid types having orange and pink-orange flowers have been developed. Thus, Anthocyanin pigment components of flower colors of this species are of interest to study. HPLC technique was used to identify pigments of *R. gigantea* flowers. Genetic variation of *R. gigantea* flowers was studied by RAPD technique using 20 random primers. It was found that primers OPF01, OPF04, OPF05, OPF06, OPF09, OPF12 and OPF14 were able to reveal genetic variation especially OPF01 and OPF06. The selected primers could classify *R. gigantea* varieties into 3 groups with relevance to flower color characteristics and anthocyanin derivatives. The first group was pure white flower which did not have anthocyanin derivative in flower. The next group having 78% genetic similarity was composed of white with red-spots and white with red-blotches flowers, the main components in flower colors were pelargonidin-3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, delphinidin and kuromanin. The last group was dark red and orange flowers with 65.6% genetic similarity contained kuromanin, pelargonidin-3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, delphinidin and cyanidin as main components in flower colors.

**Keywords:** *Rhynchostylis gigantea*, flower color, pigment, HPLC, RAPD, genetic relationship

**บทคัดย่อ:** กล้วยไม้ช้าง (*Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl.) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย และเป็นกล้วยไม้พื้นถิ่นของประเทศไทย โดยทั่วไปมี 4 สายพันธุ์ คือ ช้างเผือก (ดอกสีขาวล้วน) ช้างกระ (ดอกสีขาวมีจุดสีม่วงแดงกระจายบนกลีบดอก) ช้างพลาย (ดอกสีขาวมีแต้มหรือปื้นสีม่วงแดงกระจายบนกลีบดอก) และช้างแดง (ดอกสีม่วงแดงเข้ม) ปัจจุบันกล้วยไม้ช้างได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้มีสีสันใหม่ ๆ ออกมา เช่น ช้างส้ม (ดอกสีส้มอมชมพูอ่อน) และช้างชมพู (ดอกสีชมพูอมม่วงอ่อน) เป็นต้น จึงน่าจะมีการศึกษาองค์ประกอบของสารให้สีในกลุ่มแอนโทไซยานินในดอกกล้วยไม้ช้าง การใช้เทคนิคเอชพีแอลซีเพื่อจำแนกสารให้สีในกลีบดอก และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ช้างโดยเทคนิคอาร์เอฟดีที่ใช้ไพรเมอร์แบบคู่ 20 ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์ OPF01, OPF04, OPF05, OPF06, OPF09, OPF12 และ OPF14 สามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ โดยไพรเมอร์ OPF01 และ OPF06 สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจัดแบ่งกลุ่มสายพันธุ์กล้วยไม้ช้างออกเป็น 3 กลุ่ม ตามลักษณะสีที่ปรากฏบนกลีบดอก สารให้สีที่เป็นองค์ประกอบของสีดอกและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยกลุ่มที่ 1 ได้แก่ ช้างเผือก ไม่ปรากฏสารให้สีในกลุ่มแอนโทไซยานินในดอก กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ช้างกระและช้างพลาย มีพื้นที่ขาวและมีจุดหรือแต้มสีม่วงแดง พบ pelargonidin-3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, delphinidin และ kuromanin เป็นองค์ประกอบหลักของสีดอก มีความเหมือนทางพันธุกรรม 78% ส่วนกลุ่มที่ 3 ได้แก่ ช้างแดงและช้างส้ม มีพื้นที่สีทึบ พบ kuromanin, pelargonidin-3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, delphinidin และ cyanidin เป็นองค์ประกอบหลัก มีความเหมือนทางพันธุกรรม 65.6%

**คำสำคัญ:** กล้วยไม้ช้าง สีดอก สารให้สี เอชพีแอลซี อาร์เอฟดี ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

## คำนำ

ประเทศไทยสามารถผลิตกล้วยไม้ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้หลายสกุล เป็นผู้ผลิตกล้วยไม้ที่สำคัญของโลก มีปริมาณและมูลค่าการส่งออกสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อพัฒนาการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ให้ต้นทุนการผลิตต่ำลง เพิ่มปริมาณและคุณภาพให้สูงขึ้น มีการปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ใหม่ๆ ที่เป็นสายพันธุ์การค้าให้มีความหลากหลายมากขึ้น เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ โดยเฉพาะการพัฒนาและการผลิตกล้วยไม้ไทยพันธุ์แท้และกล้วยไม้ไทยลูกผสม ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทย เช่น กล้วยไม้ช้าง ตลอดจนชนิดและสกุลใกล้เคียง เป็นต้น

กล้วยไม้ช้าง (*Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl.) เป็นกล้วยไม้พื้นถิ่นของประเทศไทยที่มีเอกลักษณ์เฉพาะชนิด ลักษณะเด่นคือ ความสวยงามของช่อดอกที่มีความหลากหลายในด้านสีสันและลวดลายบนกลีบดอก และมีกลิ่นหอม (ณัฐา, 2545) จึงเป็นที่ต้องการของตลาดและมีแนวโน้มของความต้องการเพิ่มขึ้น กล้วยไม้ช้างอยู่ในเผ่า (tribe) Vandae ซึ่งเผ่าที่มีความหลากหลาย

ทางพันธุกรรมสูง เช่น สกุลช้าง (*Rhynchostylis*) สกุลกุหลาบ (*Aerides*) สกุลเข็ม (*Ascocentrum*) และสกุลแวนด้า (*Vanda*) เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถผสมพันธุ์กันได้ ทั้งในสกุลเดียวกันและข้ามสกุล ทำให้มีความหลากหลายด้านสายพันธุ์ ทั้งรูปทรง พORMดอก สีสัน และกลิ่น (ครรชิต, 2547)

สีของดอกไม้เกิดจากการสะสมสารให้สีที่แตกต่างกัน เช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และแอนโทไซยานิน (Kazama *et al.*, 2003) สีของดอกกล้วยไม้ที่เป็นสารให้สีในกลุ่มแอนโทไซยานินเป็นสารให้สีที่ละลายน้ำได้ ซึ่งพบในแวคิวโอลของเซลล์ให้สีแดง-ม่วง-น้ำเงินในดอกไม้ ปัจจุบันได้มีการค้นพบ 6 ชนิดหลัก ได้แก่ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin (นิตยา และคณะ, 2551) การศึกษาสารให้สีในกลุ่มแอนโทไซยานินครั้งแรกในดอกกล้วยไม้พันธุ์ *Dendrobium comutum* Hook. f และ *Dendrobium crocatum* Hook. f พบว่าเป็นชนิด cyanidin-3-glucoside (Lowry and Keong, 1973) ต่อมาได้มีการค้นพบ cyanidin-3-(6-malonylglucoside)-7, 3'-di-(4-glucosyl-p-hydroxybenzoyl glucoside) ในดอกกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* พันธุ์ Pramot ซึ่งเป็นดอก

กล้วยไม้ที่มีสีแดงม่วง (Saito *et al.*, 1994) และ Tatsuzawa *et al.* (2004) ได้พบ cyanidin 3, 7, 3'-triglucoside และ delphinidin 3, 7, 3'-triglucoside ในกล้วยไม้สกุลแวนด้าลูกผสม

กล้วยไม้สกุลช้างมีสีของกลีบดอกอยู่ในโทนสีแดง-ม่วง-ชมพู ปัจจุบันได้รับการพัฒนาพันธุ์โดยการผสมข้ามสายพันธุ์หรือข้ามสี ให้ดอกมีสีสันและลวดลายที่แตกต่างหลากหลาย ทำให้ยากต่อการจำแนกหรือแบ่งกลุ่มสายพันธุ์ การใช้เครื่องหมายโมเลกุล โดยเฉพาะเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้บ่งชี้ความจำเพาะของพืชชนิดหนึ่งหรือสายพันธุ์หนึ่ง สามารถใช้จำแนกความแตกต่างในระดับจีโนมได้ ซึ่งเกิดจากความแปรปรวนของนิวคลีโอไทด์หรือเกิดโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (สุรินทร์, 2545) ดังนั้นการวิเคราะห์สารให้สีกลุ่มแอนโทไซยานินและอนุพันธ์ในดอกกล้วยไม้ช้าง โดยเทคนิคเอสพีแอลซี ประกอบกับการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม เพื่อการจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์และจัดแบ่งกลุ่มสายพันธุ์ภายในชนิด (species) เดียวกัน โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกล้วยไม้ช้าง จึงเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์และเป็นแนวทางในการพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลช้างและกลุ่มสกุลใกล้เคียง เพื่อการผลิตเชิงการค้าต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

กล้วยไม้ช้างที่ใช้ในการศึกษา 5 สายพันธุ์ คือ ช้างเผือก ช้างกระ ช้างพลาย ช้างแดง และช้างส้ม (ภาพที่ 1) โดยใช้ตัวอย่างดอกกล้วยไม้ช้างจาก 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 3 ต้น (3 ช่อ) การศึกษาแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ 1) วิเคราะห์สารให้สีกลุ่มแอนโทไซยานินและอนุพันธ์ในดอกกล้วยไม้ช้าง โดยสกัดสารให้สีตามวิธีการของ Rodriguez-Saona and Wrolstad (2005) คัดแยกสารให้สีและทำให้บริสุทธิ์ตามลำดับขั้น (sequential extractions) ตามวิธีการของ Durst and Wrolstad (2005) และ Rodriguez-Saona and Wrolstad (2005) วิเคราะห์รูปแบบ ชนิด และปริมาณของสารให้สี โดยใช้เครื่อง HPLC รุ่น CLASS-VP V 6.14 SP2 (Shimadzu, Japan) ตามวิธีการของ Junka

*et al.* (2007) และใช้สารละลายมาตรฐาน 8 ชนิด คือ cyanin, kuromanin, keracyanin, pelargonidin-3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, delphinidin, cyanidin และ pelargonidin ในการวิเคราะห์อนุพันธ์ของแอนโทไซยานิน และ 2) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ช้าง โดยสกัดจีโนมดีเอ็นเอจากดอกกล้วยไม้ช้าง ตามวิธีการ CTAB คัดแปลงของ Taywiya *et al.* (2008) และ แสงทอง และคณะ (2559) คัดกรองไพรเมอร์อาร์เอพีดีสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ ตามวิธีการของ Taywiya *et al.* (2008) และ Phengprachanh *et al.* (2013) จากไพรเมอร์ OPF 20 ไพรเมอร์ และคัดเลือกไพรเมอร์ที่ทำให้เกิดความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ เพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอ โดยคำนวณขนาดโมเลกุลด้วยโปรแกรม Gene Tool และประมวลผลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วย Gene Directory โดยใช้ UPGMA cluster analysis เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมตามลักษณะสีที่ปรากฏบนกลีบดอกกล้วยไม้ช้าง

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสีดอกกล้วยไม้ช้าง

สารให้สีกลุ่มแอนโทไซยานินเป็นสารประกอบที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารให้สีธรรมชาติและจัดเป็นสารทุติยภูมิที่พบในพืช (Grotewold, 2006) ปัจจุบันได้มีการค้นพบ anthocyanidins ทั้งหมดประมาณ 20 ชนิด แต่มี 6 ชนิดหลัก ที่เป็นที่รู้จักและได้มีการศึกษาค้นคว้าเชิงลึก ได้แก่ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin ซึ่งแต่ละชนิดมีสีที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับความเป็นกรด-เบส (pH) ชนิดและจำนวนน้ำตาลที่มาเกาะ และจำนวน aliphatic หรือ aromatic acid (Mazza and Miniati, 1993) จำนวนของ hydroxyl group (-OH) และ/หรือ methyl group (-CH<sub>3</sub>) ณ ตำแหน่ง R3' และ R5' บนวงแหวน B (Tanaka *et al.*, 2008)



Figure 1. Five varieties of *Rhynchosstylis gigantea* (1: white flower; 2: white with red pink-spots flower; 3: white with red-blotches flower; 4: dark red flower and 5: orange flower)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสีดอกกล้วยไม้ช้างและการกระจายตัวของสารให้สีในกลุ่มแอนโทไซยานิน โดยแยกวิเคราะห์ในกลีบดอก (sepal และ petal) และกลีบปาก (lip) ด้วยเทคนิคเอชพีแอลซี พบว่าดอกของช้างกระ ช้างพลาย และช้างแดง ซึ่งอยู่ในกลุ่มสีชมพู-ม่วงแดง มีสารให้สีที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ pelargonidin-3-O-glucoside ทั้งกลีบดอกและกลีบปาก ในกลีบปากมีปริมาณสารสีสูงกว่าในกลีบดอก โดยช้างแดงพบ pelargonidin-3-O-glucoside ทั้งในกลีบดอกและกลีบปากสูงสุด ปรากฏที่ retention time (RT) 29.76 และ 29.42 (ภาพที่ 2G: peak ที่ 18 และ ภาพที่ 2H: peak ที่ 24) มีปริมาณ 7.61 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบดอก และ 11.04 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบปาก (ตารางที่ 1) ตามลำดับ รองลงมาคือ ช้างพลาย ปรากฏที่ RT 29.47 และ 29.66 (ภาพที่ 2E: peak ที่ 6 และ ภาพที่ 2F: peak ที่ 10) มีปริมาณ 1.72 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบดอก และ 7.49 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบปาก (ตารางที่ 1) และช้างกระ ปรากฏที่ RT 29.43 และ 29.38 (ภาพที่ 2C: peak ที่ 1 และ ภาพที่ 2D: peak ที่ 3) มีปริมาณ 0.23 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบดอก และ 0.86 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบปาก (ตารางที่ 1) ตามลำดับ

ส่วนสารให้สีที่เป็นองค์ประกอบรองคือ peonidin-3-O-glucoside โดยช้างแดงมีปริมาณมากที่สุด ปรากฏที่ RT 30.30 และ 29.89 (ภาพที่ 2G: peak ที่ 19 และ ภาพที่ 2H: peak ที่ 24) คือ 2.33 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบดอก และ 2.23 มิลลิกรัม ต่อ 100

กรัม น้ำหนักสด ในกลีบปาก (ตารางที่ 1) ตามลำดับ รองลงมาคือช้างพลาย ปรากฏที่ RT 29.98 และ 30.18 (ภาพที่ 2E: peak ที่ 7 และ ภาพที่ 2F: peak ที่ 11) มีปริมาณ 0.07 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบดอก และ 0.79 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบปาก (ตารางที่ 1) ตามลำดับ และช้างกระ ปรากฏที่ RT 30.05 และ 30.02 (ภาพที่ 2C: peak ที่ 2 และ ภาพที่ 2D: peak ที่ 4) มีปริมาณ 0.13 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบดอก และ 0.74 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ในกลีบปาก (ตารางที่ 1) ตามลำดับ และ cyanidin, delphinidin, keracyanin หรือ antirrhinin (cyanidin-3-O-rutinoside), kuromanin หรือ chrysanthemin (cyanidin-3-O-glucoside) และ cyanin พบเฉพาะช้างแดงและช้างพลาย ซึ่งในกลีบดอกช้างแดง ปรากฏที่ RT 34.25, 32.32, 28.89, 28.42 และ 24.49 (ภาพที่ 2G: peak ที่ 21; ภาพที่ 2G: peak ที่ 20; ภาพที่ 2G: peak ที่ 17; ภาพที่ 2G: peak ที่ 16 และ ภาพที่ 2G: peak ที่ 14) ตามลำดับ ส่วนกลีบปาก พบ cyanidin, delphinidin, kuromanin และ cyanin (cyanidin-3,5-O-diglucoside) ปรากฏที่ RT 33.48, 31.72, 28.20 และ 24.76 (ภาพที่ 2H: peak ที่ 27; ภาพที่ 2H: peak ที่ 26; ภาพที่ 2G: peak ที่ 23 และ ภาพที่ 2G: peak ที่ 22) ตามลำดับ และในกลีบดอกช้างพลาย พบ cyanidin, delphinidin, keracyanin และ kuromanin ปรากฏที่ RT 33.74, 31.94, 28.62 และ 28.16 (ภาพที่ 2E: peak ที่ 41; ภาพที่ 2E: peak ที่ 40; ภาพที่ 2E: peak ที่ 6 และ ภาพที่ 2E: peak ที่ 5) ตามลำดับ ส่วนกลีบปาก พบ cyanidin, delphinidin, kuromanin และ cyanin ปรากฏที่ RT 34.11, 32.26, 28.35 และ 24.68 (ภาพที่ 2F: peak

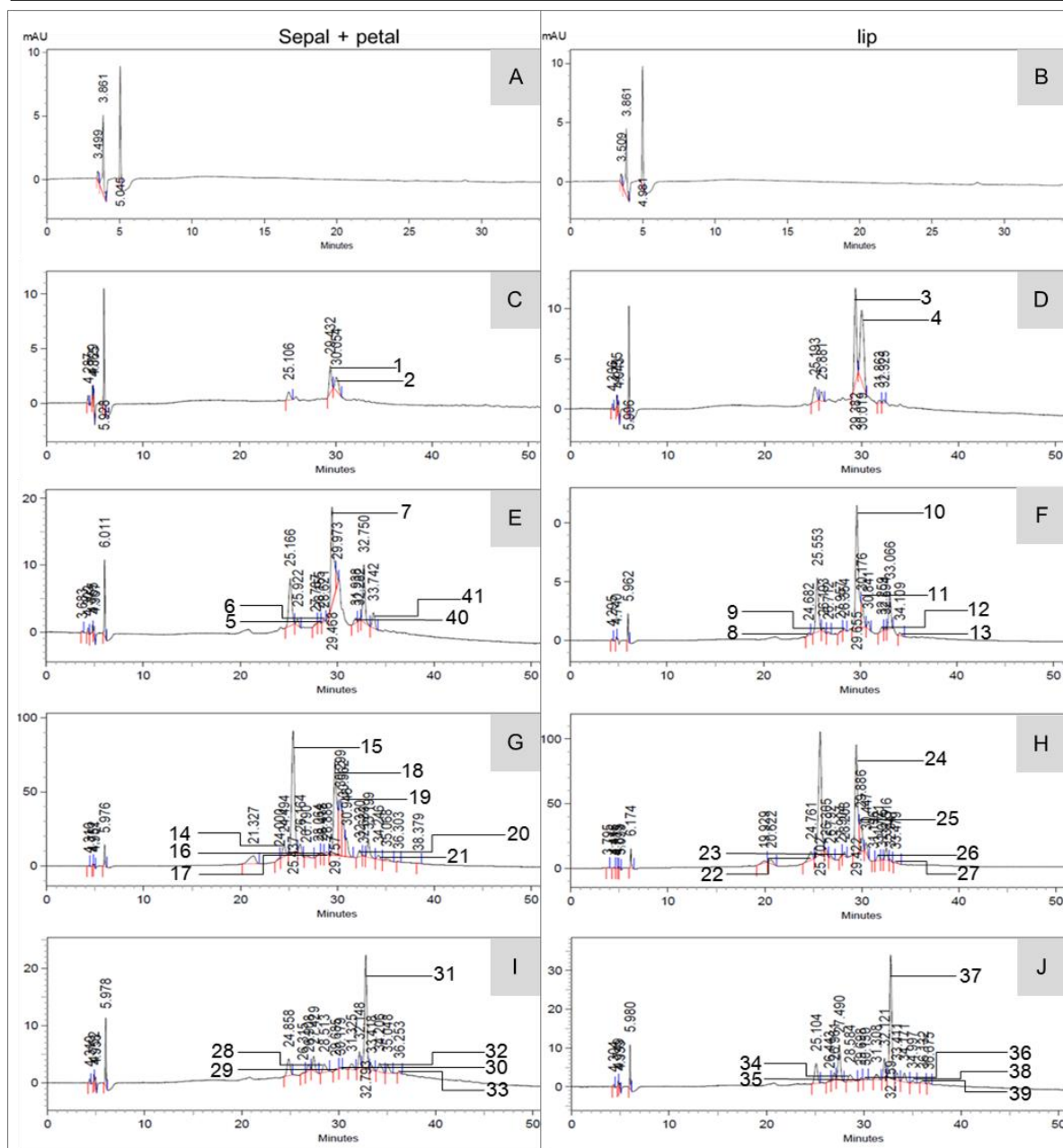


Figure 2. HPLC Chromatographs of anthocyanin derivatives from five varieties of *Rhynchosyilis gigantean* (A: white flower (sepal+petal); B: white flower (lip); C: white with red pink-spots flower (sepal+petal); D: white with red pink-spots flower (lip); E: white with red-blotches flower (sepal+petal); F: white with red-blotches flower (lip); G: dark red flower (sepal+petal); H: dark red flower (lip); I: orange flower (sepal+petal) and J: orange flower (lip))

Table 1. Anthocyanin derivatives content of *Rhynchosytilis gigantea* flower

| Anthocyanin derivatives<br>(mg/100g fresh weight) | R1     |     | R2     |      | R3     |      | R4     |       | R5     |      |
|---------------------------------------------------|--------|-----|--------|------|--------|------|--------|-------|--------|------|
|                                                   | Sepal  | lip | Sepal  | lip  | Sepal  | lip  | Sepal  | lip   | Sepal  | lip  |
|                                                   | +petal |     | +petal |      | +petal |      | +petal |       | +petal |      |
| Cyanin                                            | Nd.    | Nd. | Nd.    | Nd.  | Nd.    | 0.12 | 0.90   | 1.24  | Nd.    | Nd.  |
| Kuromanin                                         | Nd.    | Nd. | Nd.    | Nd.  | 0.03   | 0.14 | 0.07   | 0.43  | 0.34   | 0.65 |
| Keracyanin                                        | Nd.    | Nd. | Nd.    | Nd.  | 0.03   | Nd.  | 0.16   | Nd.   | Nd.    | Nd.  |
| Cyanidin                                          | Nd.    | Nd. | Nd.    | Nd.  | 0.62   | Nd.  | 0.84   | 0.47  | 0.70   | 1.30 |
| Peonidin-3-O-glucoside                            | Nd.    | Nd. | 0.13   | 0.74 | 0.07   | 0.79 | 2.33   | 2.26  | 0.03   | 0.06 |
| Delphinidin                                       | Nd.    | Nd. | Nd.    | Nd.  | 0.07   | 0.12 | 0.38   | 0.45  | 1.97   | 4.31 |
| Pelargonidin-3-O-glucoside                        | Nd.    | Nd. | 0.23   | 0.86 | 1.72   | 7.49 | 7.61   | 11.04 | 0.03   | 0.10 |
| Pelargonidin                                      | Nd.    | Nd. | Nd.    | Nd.  | Nd.    | Nd.  | Nd.    | Nd.   | 0.20   | 0.76 |

R1: white flower; R2: white with red pink-spots flower; R3: white with red-blotches flower; R4: dark red flower and R5: orange flower; Nd. = Not detected; (Shimadzu CLASS-VP V 6.14 SP2; 520 nm; LOD = 0.005 mg/100g; LOQ = 0.01 mg/100g)

ที่ 13; ภาพที่ 2F: peak ที่ 12; ภาพที่ 2F: peak ที่ 9 และ ภาพที่ 2F: peak ที่ 8) ตามลำดับ

ในดอกช้างส้มซึ่งอยู่ในโหนดสีส้มอมชมพู-ม่วง (กลีบปากสีชมพู-ม่วง) มีสารให้สีที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ delphinidin ทั้งกลีบดอกและกลีบปาก ซึ่งในกลีบปาก มีปริมาณสารสีสูงกว่าในกลีบดอก โดยปรากฏที่ retention time (RT) 32.78 และ 32.79 (ภาพที่ 2I: peak ที่ 31 และ ภาพที่ 2J: peak ที่ 37) มีปริมาณ 1.97 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในกลีบดอก และ 4.31 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในกลีบปาก ตามลำดับ องค์ประกอบรอง คือ cyanidin ปรากฏที่ RT 34.28 และ 34.21 (ภาพที่ 2I: peak ที่ 32 และ ภาพที่ 2J: peak ที่ 38) มีปริมาณ 0.70 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในกลีบดอก และ 1.30 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในกลีบปาก (ตารางที่ 1) ตามลำดับ และยังพบ pelargonidin kuromanin และ peonidin-3-O-glucoside โดยกลีบดอก ปรากฏที่ RT 36.43 28.55 และ 30.19 (ภาพที่ 2I: peak ที่ 33; ภาพที่ 2I: peak ที่ 28 และ ภาพที่ 2I: peak ที่ 30) ตามลำดับ ส่วนกลีบปาก ปรากฏที่ RT 36.25 28.51 และ 30.18 (ภาพที่ 2J: peak ที่ 30; ภาพที่ 2J: peak ที่ 39 และ ภาพที่ 2J: peak ที่ 35) ตามลำดับ

สารให้สีในดอกกล้วยไม้หลายชนิดเป็นสารให้สี กลุ่มแอนโทไซยานิน ซึ่งทำให้เกิดสีน้ำเงิน ม่วง แดง ชมพู (Junka *et al.*, 2007) และสีส้ม พบอยู่ในรูปของออกซิเนียมไอออน (oxonium ion) (Jackman and Smith, 1996) การศึกษาในกุหลาบมาลัยแดง (*Aerides multiflora*) และ ไอยเรศ (*Rhynchosytilis retusa*) โดยเฉพาะไอยเรศซึ่งอยู่ในสกุลช้างและมีดอกคล้ายกันกับช้างกระและช้างพลาย พบ pelargonidin และ cyanidin เป็นองค์ประกอบหลักของสารให้สีในกลีบดอก และฟ้ามุ่ย (*Vanda coerulea*) พบ delphinidin เป็นองค์ประกอบหลัก (นิตยา และคณะ, 2551) นอกจากนี้ kuromanin และ keracyanin ยังพบได้ในช้างแดง การศึกษาในครั้งนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาในกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์แท้และลูกผสม (*Dendrobium gouldii* K280-6, *Dendrobium bigibbum* 'blue' และ *Dendrobium Kultana* 'blue') ที่มีสีดอกอยู่ในกลุ่มสีส้มอมชมพู (peach-colored flowers) พบว่ามีสารให้สีชนิด pelargonidin glucoside เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนกลุ่มสีม่วงแดง ม่วงน้ำเงิน ม่วงปนเหลือง ม่วงอมเทาปนเหลือง หรือเหลือง อมส้ม และน้ำตาล ซึ่งสีดอกดังกล่าวประกอบด้วยสารให้สีชนิด cyanidin เป็นหลัก และ peonidin เป็นองค์ประกอบรอง (Kuehnle *et al.*, 1997)



### การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

#### - การคัดกรองไพรเมอร์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกล้วยไม้ช้าง 5 สายพันธุ์ (ช้างเผือก ช้างกระ ช้างพลาย ช้างแดง และช้างลัม) โดยใช้ไพรเมอร์อาร์เอพีดีในการคัดกรองเบื้องต้น ใช้ไพรเมอร์กลุ่ม OPA, OPD, OPF และ OPG และพบว่าไพรเมอร์กลุ่ม OPF สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกล้วยไม้ช้างได้ดี (ไม่ได้แสดงข้อมูล) เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPF01-20 พบว่าไพรเมอร์ OPF01, OPF04, OPF05, OPF06, OPF09, OPF12 และ OPF14 สามารถทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอต้นแบบ ปรากฏเป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอหลายแถบที่ชัดเจน และมีความแตกต่างกันทั้งหมด 161 แถบ โดยไพรเมอร์ OPF01 และ OPF06 ให้แถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกันชัดเจนในแต่ละตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ช้างแต่ละตัวอย่าง แสดงผลดังนี้ ไพรเมอร์ OPF01 และ OPF06 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทุกตัวอย่าง 38 และ 19 แถบ ตามลำดับ (ภาพที่ 3) ซึ่งไพรเมอร์อาร์เอพีดีมีความเหมาะสมและ

ให้ผลดีในกล้วยไม้หลายชนิด เช่นการศึกษากล้วยไม้สกุลฟาแลนนอปซิสและสกุลใกล้เคียง 36 ตัวอย่าง จาก 30 ชนิด ซึ่งเป็นตัวแทนของ 8 หมู่ ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี พบว่ามี 6 ไพรเมอร์ คือ OPAK10, OPD03, OPF01, OPF02, OPF09 และ OPF14 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ชัดเจน และมีความแตกต่างกันทั้งหมด 82 แถบ (Taywiya *et al.*, 2008) และไพรเมอร์อาร์เอพีดี 12 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันจำนวน 98 แถบ (87.5%) ในกล้วยไม้วิ้งแคระ (มัลลิกา และคณะ, 2557) การศึกษากล้วยไม้สกุลช้าง 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มเขาแกะ ได้แก่ เขาแกะเผือก และเขาแกะธรรมดา 2) กลุ่มช้าง ได้แก่ ช้างแดง ช้างเผือก ช้างกระ และช้างประหลาด โดยใช้ไพรเมอร์อาร์เอพีดี 24 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ที่สามารถนำมาจัดกลุ่มแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกลุ่มเขาแกะได้ คือ ไพรเมอร์ OPAK01, OPAK11, OPD16, OPF10, OPF12 และ OPF16 ส่วนกลุ่มช้าง คือ ไพรเมอร์ OPAK10, OPD06, OPD10, OPF07 และ OPF10 (สุพิศตรา และวิณัน, 2548)

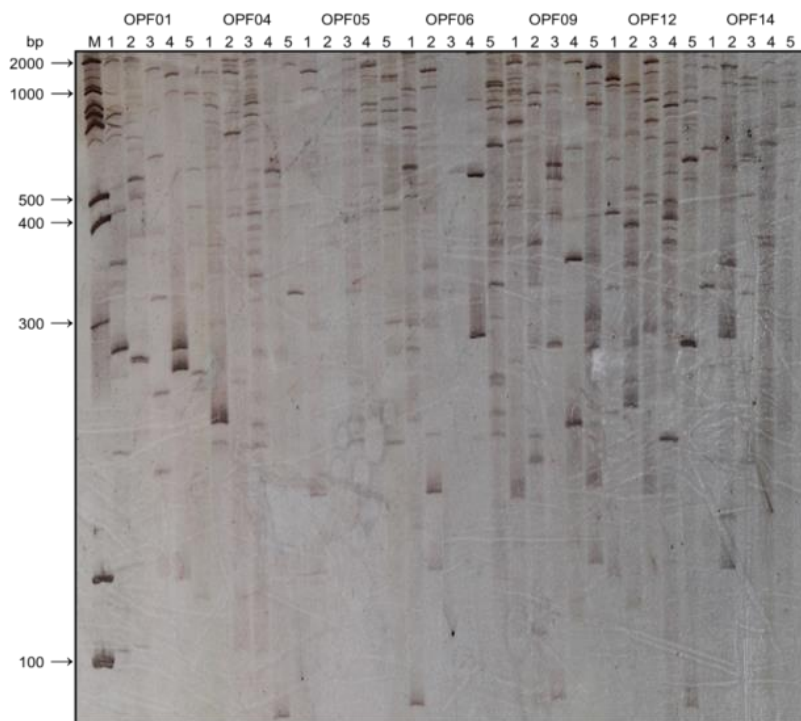


Figure 3. Polymorphic profiles of *Rhynchosstylis gigantea* by 7 RAPD primers (1: white flower; 2: white with red pink-spots flower; 3: white with red-blotches flower; 4: dark red flower and 5: orange flower; M: 100 bp plus marker)

### - การวิเคราะห์หลายพหุมิติเอ็นเอของกล้วยไม้ช้าง

เมื่อนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณโดยไพรเมอร์ทั้งหมดมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าไม่สามารถจำแนกกล้วยไม้ช้างตามลักษณะสีดอกได้ (ไม่ได้แสดงข้อมูล) แต่เมื่อพิจารณาการจัดกลุ่มจากแต่ละไพรเมอร์ พบว่ามีความสอดคล้อง เมื่อทำซ้ำยังให้ผลเช่นเดิม โดยไพรเมอร์คัดเลือก OPF01 และ OPF06 เมื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยการใช้ไพรเมอร์เดี่ยวและร่วม พบว่าแต่ละไพรเมอร์สามารถจำแนกกล้วยไม้ช้างเผือก ช้างกระ ช้างพลาย ช้างแดง และช้างส้ม ได้ 2 กลุ่มหลักที่มีความเหมือนกันทางพันธุกรรม 38% กลุ่มที่ 1 มีพีนกลีบดอกสีขาว ได้แก่ ช้างเผือก ช้างกระ และช้างพลาย มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่ม 58% และ 66% เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPF01 และ OPF06 ตามลำดับ ในกลุ่มแรกนี้ สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ 1.1 ช้างเผือก พีนกลีบดอกสีขาวล้วน (ไม่มีจุดกระ) 1.2 ช้างกระและช้างพลาย พีนกลีบดอกสีขาวมีจุดกระและแต้มสีม่วงแดง โดยไพรเมอร์ OPF01 และ OPF06 สามารถจัดกลุ่มช้างกระกับช้างพลาย ได้ที่ความเหมือนทางพันธุกรรม 75% และ 83% ตามลำดับ (ภาพที่ 4 และ ภาพที่ 5) และกลุ่มที่ 2 มีพีนกลีบดอกสีทึบ ได้แก่ ช้างแดงและช้างส้ม มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรม 70% และ 58% เมื่อใช้ไพรเมอร์ OPF01 และ OPF06 ตามลำดับ (ภาพที่ 4 และ ภาพที่ 5) อย่างไรก็ตาม เมื่อนำข้อมูลจาก 2 ไพรเมอร์ มาวิเคราะห์ร่วมกัน พบว่าช้างกระและช้างพลายมีค่าความเหมือนทาง

พันธุกรรมภายในกลุ่มเท่ากับ 60.5% ส่วนช้างแดงและช้างส้มมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 65.6% แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างช้างแดงและช้างส้มสูงขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับลักษณะสีดอกที่ปรากฏแตกต่างกัน (ภาพที่ 6) ไพรเมอร์กลุ่ม OPF มีความเหมาะสมสำหรับการจัดจำแนกและแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลช้าง โดยใช้ไพรเมอร์ OPF07, OPF10, OPF12 และ OPF16 (สุพัตรา และวีถัน, 2548) และไพรเมอร์ OPF01, OPF02, OPF09 และ OPF14 สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์กล้วยไม้ฟาแลนนอปซิสและสกุลใกล้เคียงได้ (Taywiya et al., 2008)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารให้สีในดอกกล้วยไม้ช้างด้วยเทคนิค HPLC และเครื่องหมายดีเอ็นเอ พบว่าสามารถจัดแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ตามความสัมพันธ์ของลักษณะที่ปรากฏบนกลีบดอก สารให้สีที่เป็นองค์ประกอบของสีดอก และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมดังนี้ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ช้างเผือก ไม่ปรากฏสารให้สีกลุ่มแอนโทไซยานินในดอก กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ช้างกระและช้างพลาย มีพีนสีขาวและมีจุดหรือแต้มสีม่วงแดง พบอนุพันธ์ของแอนโทไซยานินชนิด pelargonidin-3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, delphinidin และ kuromanin เป็นองค์ประกอบหลักของสีดอก มีความเหมือนทางพันธุกรรม 78% ส่วนกลุ่มที่ 3 ได้แก่ ช้างแดงและช้างส้ม มีพีนสีทึบ พบอนุพันธ์ของแอนโทไซยานินชนิด kuromanin, pelargonidin-3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, delphinidin และ cyanidin

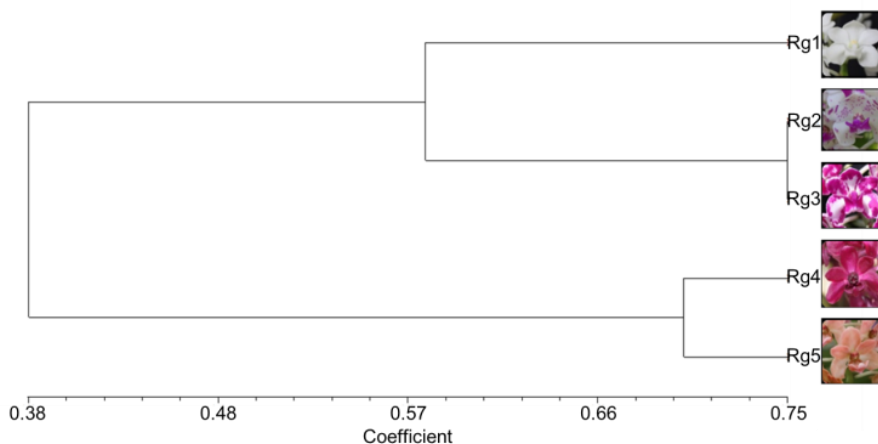


Figure 4. Dendrogram of *Rhynchosstylis gigantea* derived from a UPGMA cluster analysis by primer OPF01

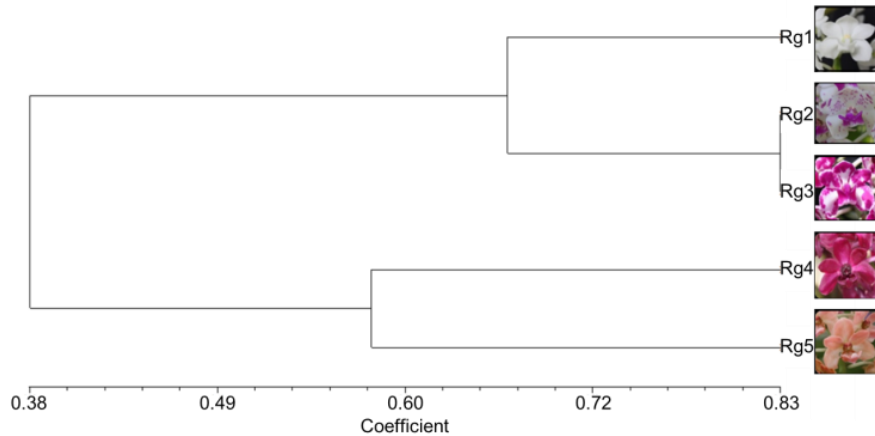


Figure 5. Dendrogram of *Rhynchostylis gigantea* derived from a UPGMA cluster analysis by primer OPF06

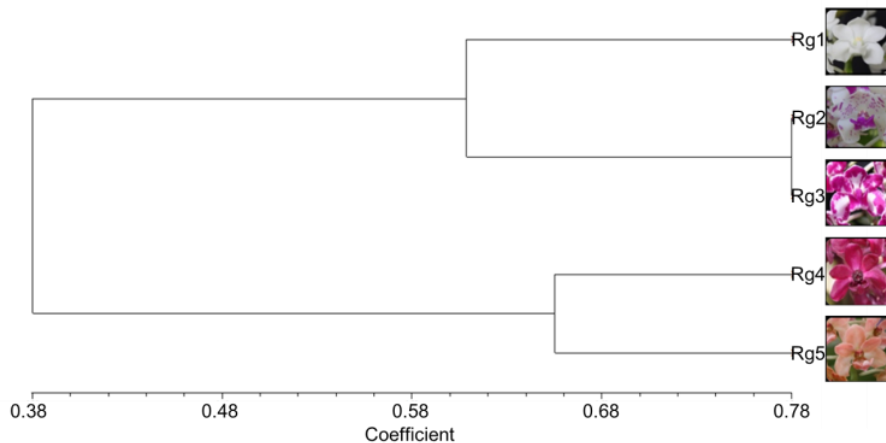


Figure 6. Dendrogram of *Rhynchostylis gigantea* derived from a UPGMA cluster analysis by primer OPF01

เป็นองค์ประกอบหลักของสีดอก มีความเหมือนทางพันธุกรรม 65.6% โดยสารให้สีที่พบในดอกกล้วยไม้ช้างทุกสายพันธุ์ (ยกเว้นช้างเผือก) คือ pelargonidin-3-O-glucoside และ peonidin-3-O-glucoside ส่วน pelargonidin พบเฉพาะในช้างส้ม

### สรุป

สารให้สีกลุ่มแอนโทไซยานินที่เป็นองค์ประกอบหลักในดอกกล้วยไม้ช้าง คือ pelargonidin-3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, delphinidin และ

kuromanin พบในดอกของช้างแดง ช้างพลาย ช้างกระ และช้างส้ม องค์ประกอบรองคือ cyanin พบในดอกของช้างแดงและช้างพลาย และ cyanidin พบในดอกของช้างแดงและช้างส้ม keracyanin พบเฉพาะในดอกช้างแดงและช้างพลาย ส่วน pelargonidin พบเฉพาะในดอกช้างส้ม ไพรเมอร์ OPF01 และ OPF06 สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและจัดแบ่งกลุ่มกล้วยไม้ช้าง 5 สายพันธุ์ ได้ 3 กลุ่ม ตามลักษณะสีที่ปรากฏชนิดของสารให้สีที่เป็นองค์ประกอบและลายพิมพ์ดีเอ็นเอคือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ช้างเผือก กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ช้างกระและช้างพลาย และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ ช้างแดงและช้างส้ม

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์  
ห้องปฏิบัติการกลางศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร และ  
ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ และ ศูนย์ความเป็นเลิศด้าน  
เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนานักบัณฑิตศึกษาและ  
วิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงาน  
คณะกรรมการการอุดมศึกษา (AG - BIO/ PERDO -  
CHE) อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม

## เอกสารอ้างอิง

- ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้.  
อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 283  
หน้า.
- ณัฐา ควรประเสริฐ. 2545. กล้วยไม้วิทยา 1. ภาควิชา  
พืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
เชียงใหม่, เชียงใหม่. 76 หน้า.
- นิตยา จันกา เฉลิมชัย วงษ์อารี และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์.  
2551. แอนโทไซยานินในดอกกล้วยไม้พันธุ์แท้  
3 สายพันธุ์ในเผ่า VANDEAE Lindley. วารสาร  
วิทยาศาสตร์เกษตร 39: 3 (พิเศษ): 339-342.
- มัลลิกา ดวงเขตต์ ณัฐา โพธารมณ์ และ วิวัฒน์ บัณฑิตย์.  
2557. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทาง  
พันธุกรรมของ *Doritis pulcherrima* Lindl. ต้น  
แคระ โดยเทคนิคอาร์เอพีดีและไอเอสเอสอาร์.  
วารสารเกษตร 30(2): 99-109.
- สุพัตรา เจริญภักดี และ วิวัฒน์ บัณฑิตย์. 2548. การ  
วิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่  
สัมพันธ์กับลักษณะดอกของ กล้วยไม้สกุลช้าง.  
วารสารเกษตร 21(2): 99-105.
- สุรินทร์ ปิยะโชคนากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดี  
เอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี.  
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,  
กรุงเทพฯ. 116 หน้า.
- แสงทอง พงษ์เจริญกิต จันทรเพ็ญ สระระ ธีรานุ เจริญกิจ  
และ ฉันทนา วิชรรัตน์. 2559. การศึกษา

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลำไยด้วย  
เทคนิคไอดีอาร์เอพีดี. วารสารเกษตร 32(1):  
1-8.

- Durst, R.W. and R.E. Wrolstad. 2005. Separation  
and characterization of anthocyanins by  
HPLC. pp. 33-45. In: R.E. Wrolstad, T.E.  
Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid,  
S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D.M. Smith  
and P. Sporns (eds.). Handbook of Food  
Analytical Chemistry: Pigments, Colorants,  
Flavors, Texture, and Bioactive Food  
Components. John Wiley & Sons, Inc.,  
Hoboken, New Jersey.
- Grotewold, E. 2006. The genetics and biochemistry  
of floral pigments. Annual Review of Plant  
Biology 57: 761-780.
- Jackman, R.L. and J.L. Smith. 1996. Anthocyanins  
and betalains. pp. 244-309. In: G. A. F.  
Hendry and J. D. Houghton (eds.). Natural  
Food Colorants. 2<sup>nd</sup> ed. Chapman and  
Hall, Glasgow.
- Junka, N., C. Wongs-Aree, S. Kanlayanarat and K.  
Thunomchit. 2007. Predominance of  
cyanidin found in flower from two species of  
*Aerides* orchid. Acta Horticulturae 755:  
549-556.
- Kazama, K., N. Noda and M. Suzuki. 2003.  
Flavonoid composition related to petal color  
in different lines of *Clitoria ternatea*.  
Phytochemistry 64: 1133-1139.
- Kuehnle, A.R., D.H. Lewis, K.R. Markham, K.A.  
Mitchell, K.M. Davies and B.R. Jordan.  
1997. Floral flavonoids and pH in  
*Dendrobium* orchid species and hybrids.  
Euphytica 95(2): 187-194.
- Lowry, J.B. and S.C. Keong. 1973. A preliminary  
study of Malaysian orchid pigments. Malay  
Journal of Science 2: 115-121.

- Mazza, G. and E. Miniati. 1993. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. CRC Press, Boca Raton. 362 p.
- Phengphachanh, B., D. Naphrom, W. Bundithya and N. Potapohn. 2013. Differential gene expression during flower bud initiation and flower bud development of *Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl. Journal of Agricultural Technology 9: 1285-1295.
- Rodriguez-Saona, L.E. and R.E. Wrolstad. 2005. Extraction, isolation and purification of anthocyanins. pp. 7-17. In: R.E. Wrolstad, T.A. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D.M. Smith and P. Sporns (eds.). Handbook of Food Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavors, Texture and Bioactive Food Components. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Saito, N., K. Toki, K. Uesato, A. Shigihara and T. Honda. 1994. An acylated cyanidin glycoside from the red-purple flowers of *Dendrobium*. Phytochemistry 37: 245-248.
- Tanaka, Y., N. Sasaki and A. Ohmiya. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. The Plant Journal 54: 733-749.
- Tatsuzawa, F., N. Saito, H. Seki, M. Yokoi, T. Yukawa, K. Shinoda and T. Honda. 2004. Acylated anthocyanins in the flowers of *Vanda* (Orchidaceae). Biochemical Systematic and Ecology 32: 651-664.
- Taywiya, P., W. Bundithya and N. Potapohn. 2008. Analysis of genetic relationship of the genus *Phalaenopsis* by RAPD technique. Acta Horticulturae 788: 39-42.
-



# การกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวเหนียวดำจากที่สูงและข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ปลูกที่ลุ่มและที่สูง

## Gene Segregation for Anthocyanin Contents in F<sub>2</sub> Population Between Purple Glutinous Rice from Highland and Pathum Thani 1 Grown at Lowland and Highland Locations

พิทวัส สมบูรณ์<sup>1</sup> ชนาکان เตโบลต์ พรหมอุทัย<sup>1,2</sup> ต่อนภา ผุสดี<sup>1,2</sup> และ ศันสนีย์ จำจด<sup>1,2\*</sup>

Pittawat Somboon<sup>1</sup>, Chanakan Thebault Prom-u-thai<sup>1,2</sup>, Tonapha Pusadee<sup>1,2</sup> and Sansanee Jamjod<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup>Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>2</sup>ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup>Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

\*Corresponding author: Email: sansanee.cm@gmail.com

(Received: 18 April 2017; Accepted: 24 August 2017)

**Abstract:** Purple rice contains anthocyanin in/ purple pericarp which acts as an anti-oxidative properties to many diseases. The objectives of this study were to evaluate gene segregation and environment on grain anthocyanin content. A F<sub>2</sub> population was derived from a cross between the local purple glutinous rice variety from highland (Bieisu 037) and improved white rice variety (Pathum Thani 1; PTT1). Two-hundred and sixty five F<sub>2</sub> plants were grown at 2 locations (lowland and highland). The data were recorded for pericarp color, anthocyanin content and grain yield. The pericarp color of the F<sub>2</sub> population were segregated at the ratio of 9 purple: 3 brown: 4 white which was fitted into 2 complementary genes controlling model. One hundred F<sub>2</sub> plants with purple pericarp were further selected to determine grain anthocyanin content and results from both locations were compared. Continuous segregation for the grain anthocyanin content of F<sub>2</sub> populations, ranged from 0.2 to 370.3 mg/100 g with skewed toward that of the PTT1 parent in both locations. Moreover, genotype by environment interaction effect on grain anthocyanin content was observed. The F<sub>2</sub> plants grown on the highland provided the grain anthocyanin (average 58.9 mg/100 g) doubled than that of the lowland (average 24.9 mg/100 g). It implied that the environment affected on anthocyanin content. There was positive correlation between the grain anthocyanin content in F<sub>2</sub> population at lowland and highland ( $r = 0.788^{**}$ ). The dilution effect did not affect grain anthocyanin content. The information from this study will be useful for selection in breeding program for high anthocyanin content rice varieties. However, increasing in population size will provide more opportunity for selection of plants with desirable traits and high grain anthocyanin content. Due to genotype by environmental effect on grain anthocyanin content, therefore the selection should be done in the target locations.

**Keywords:** Purple rice, anthocyanin, selection, breeding

**บทคัดย่อ:** ข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมืองมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงเป็นแหล่งสะสมของแอนโทไซยานินที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคสำคัญหลายชนิด การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว และสภาพแวดล้อมต่อการแสดงออกของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว โดยสร้างลูกผสมระหว่างข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองจากที่สูง (ปิอิซู) กับข้าวขาวพันธุ์ปรับปรุง (ปทุมธานี 1) ปลูกทดสอบลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 265 ต้น ใน 2 พื้นที่ คือ ที่ลุ่มและที่สูง เก็บบันทึกข้อมูลสีเยื่อหุ้มเมล็ด ปริมาณแอนโทไซยานินและผลผลิต ผลการศึกษาพบว่าลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดในสัดส่วน 9 สีม่วง : 3 สีน้ำตาล : 4 สีขาว แสดงว่าถูกควบคุมด้วย 2 ยีน คัดเลือกเมล็ดจากต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง 100 ต้น จากจำนวนทั้งหมด 156 ต้น นำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวและเปรียบเทียบระหว่าง 2 พื้นที่ปลูก พบว่าประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินเป็นแบบต่อเนื่อง ตั้งแต่ระหว่าง 0.2 ถึง 370.3 mg/100 g ซึ่งส่วนใหญ่กระจายตัวไปในทิศทางของพันธุ์พ่อที่มีค่าต่ำ นอกจากนั้นพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินตอบสนองต่อแหล่งปลูกแตกต่างกัน โดยการปลูกในที่สูงให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงเป็นสองเท่าของข้าวที่ปลูกในที่ลุ่ม การปลูกบนที่สูงมีปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ย 58.9 mg/100 g และการที่ปลูกในที่ลุ่มมีค่าเฉลี่ย 24.9 mg/100 g แสดงให้เห็นว่ามีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด โดยมีความสัมพันธ์ในทางบวกมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างทั้งสองแหล่งเท่ากับ 0.788 และพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงไม่ได้เกิดจากการมีผลผลิตต่อต้นต่ำ ผลจากการทดลองครั้งนี้จะสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวก่ำให้มีแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงในชั่วต่อไป อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณประชากรในการศึกษาให้มีขนาดใหญ่ขึ้นจะเพิ่มโอกาสในการกระจายตัวของต้นที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงได้มากขึ้น และควรมีการทดสอบในพื้นที่สภาพแวดล้อมเป้าหมายในการคัดเลือกและส่งเสริมด้วยเนื่องจากแหล่งปลูกมีอิทธิพลต่อการสะสมแอนโทไซยานินเป็นอย่างมาก

**คำสำคัญ:** ข้าวก่ำ แอนโทไซยานิน การคัดเลือก การปรับปรุงพันธุ์

## คำนำ

ข้าวก่ำหรือข้าวเหนียวดำ (purple rice) เป็นข้าวพื้นเมืองที่นิยมปลูกทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย โดยมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากข้าวทั่วไป คือ มีการปรากฏของสีม่วงบนส่วนต่าง ๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ กลีบรวงดอก เปลือกเมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด (Kim *et al.*, 2011) ซึ่งลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง นั้นพบว่าการเกิดจากการสะสมของแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งเป็นรงควัตถุในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ละลายน้ำได้ดี พบในพืชหลายชนิดทั้งในดอกและผลที่ให้สีม่วง น้ำเงิน และแดง (Matsuo *et al.*, 1997) มีรายงานพบว่าการแสดงออกของลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ (Ham *et al.*, 2015) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Rahman *et al.* (2013) ที่พบว่าลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วย 2 ยีน คือ *Pb* และ *Pp*

นอกจากนี้ Maeda *et al.* (2014) ยังพบว่าการแสดงออกของสีเยื่อหุ้มเมล็ด ถูกควบคุมด้วย 3 ยีนบนโครโมโซมแท่งที่ 1, 3 และ 4 และพบความแตกต่างของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดระหว่างพันธุ์ข้าวก่ำ โดย Sompong *et al.* (2011) ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวก่ำที่เก็บรวบรวมจาก 3 ประเทศ คือ จีน ศรีลังกา และไทย พบว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 19.4 ถึง 140.8 mg/100 g นอกจากนี้ Somsana *et al.* (2013) ยังพบว่าสภาพแวดล้อมจากแหล่งปลูกที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด จากการปลูกข้าวก่ำ 7 สายพันธุ์ 8 พื้นที่ พบว่าแต่ละพันธุ์ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงในพื้นที่ปลูกที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของดำเนิน และคันสนีย์ (2552) พบว่าข้าวก่ำพื้นเมืองที่รวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทยมีปริมาณสารแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 93.5 ถึง 125.6 mg/100 g ซึ่งข้าวก่ำพื้นเมืองเหล่านี้สามารถใช้เป็นฐานพันธุกรรมที่นำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว



อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้าวเก่าเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองซึ่งไวต่อช่วงแสง ปลูกได้ปีละครั้งและให้ผลผลิตต่ำ เมื่อเทียบกับพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ จากการศึกษาของพีรพันธ์ และคณะ (2557) ได้ศึกษาในคุณสมบัติระหว่างข้าวเก่าพันธุ์ดอยสะเก็ดและพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ปทุมธานี 1 พบว่าสามารถคัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะมีแอนโทไซยานินสูงได้ทั้งชนิดข้าวเจ้าและข้าวเหนียว และนอกจากนี้การศึกษาเบื้องต้นยังพบว่ามีพันธุ์ข้าวเก่าพื้นเมืองที่ปลูกบนที่สูงของภาคเหนือตอนบนจำนวนหลายพันธุ์มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงและสามารถนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการผสมพันธุ์กับพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ได้

การศึกษานี้ได้ผสมพันธุ์ข้าวระหว่างข้าวเหนียวดำพื้นเมืองจากที่สูงที่มีค่าแอนโทไซยานินสูง กับข้าวขาวพันธุ์สมัยใหม่ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด และประเมินสภาพแวดล้อมต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทั้งชนิดข้าวเจ้าและข้าวเหนียวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง

## อุปกรณ์และวิธีการ

### พันธุกรรม

ใช้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากพื้นที่สูงซึ่งเป็นข้าวเหนียวเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง คือ พันธุ์บีอิชู 037 (Bieisu 037; BES037) เป็นพันธุ์แม่ และพันธุ์ข้าวเจ้าขาวปทุมธานี 1 (Pathum Thani 1; PTT1) เป็นพันธุ์พ่อ

### การสร้างประชากรลูกผสม

เพาะเมล็ดพันธุ์พ่อแม่ และย้ายปลูกในกระถางบรรจุดิน สายพันธุ์ละ 3 กระถาง กระถางละ 5 ต้น 1 ต้นต่อหลุม จัดช่วงระยะห่างของเวลาในการปลูกทุก ๆ 10 วัน ทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อให้ข้าวมีระยะออกดอกที่ใกล้เคียงกัน เมื่อถึงระยะออกดอกจึงผสมข้ามพันธุ์โดยให้บีอิชูเป็นพันธุ์แม่ และปทุมธานี 1 เป็นพันธุ์พ่อ เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเกี่ยว นวดเมล็ด และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 ในกระถางเพื่อผสมตัวเองระหว่างเดือนมกราคม - พฤษภาคม 2558 เมื่อถึงระยะ

ออกดอกใช้ถุงไซโคลมรวบไว้เพื่อให้ได้เมล็ดผสมตัวเองทั้งหมด เมื่อถึงระยะสุกแก่ เก็บเกี่ยวเมล็ดแยกต้น สุ่มตัวอย่างแบ่งเมล็ดไว้เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำมาประเมินลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดตามวิธีของ Maeda *et al.* (2014) ส่วนที่สองนำไปปลูกวัดการกระจายตัวทางพันธุกรรมในลูกผสมชั่วที่ 2

### การประเมินลูกผสมชั่วที่ 2

เพาะเมล็ด และย้ายปลูกลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้งหมด 265 ต้น และพันธุ์พ่อแม่ พันธุ์ละ 10 ต้น ในกระถางระหว่างเดือนกรกฎาคม - ธันวาคม 2558 เมื่อต้นกล้าอยู่ในระยะแตกกอประมาณ 20 วันหลังเพาะเมล็ด แบ่งแยกต้นกล้าแต่ละต้นเป็นสองส่วนแล้วย้ายปลูกลงกระถางบรรจุดิน แยกเป็นสองกระถาง ดังนั้นจะมีประชากรทั้งหมด 2 ชุดที่เหมือนกัน นำประชากรลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่แยกปลูก 2 พื้นที่ ในที่ลุ่มที่เรือนทดลองสาขาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (CMU) ระดับความสูง 328 เมตร เหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง และมีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.6 องศาเซลเซียส และปลูกในที่สูงที่แปลงของเกษตรกรบ้านทุ่งหลวง ต.แม่วีน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ (TL) ระดับความสูง 978 เมตร เหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง และมีอุณหภูมิเฉลี่ย 24.3 องศาเซลเซียส เมื่อต้นข้าวทั้งสองแหล่งมีอายุ 30 วัน ให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ จากนั้นเมื่อต้นข้าวอายุประมาณ 60 วัน ให้ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 10 กก./ไร่

เมื่อถึงระยะสุกแก่ เก็บเกี่ยวเมล็ดแยกต้นของทุกต้น นวดเมล็ด บันทึกน้ำหนักเมล็ดต่อต้น และสีเยื่อหุ้มเมล็ด คัดเลือกเมล็ดจากต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง 100 ต้น นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวโดยแกะเปลือกหุ้มเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2 และพันธุ์แม่เพื่อให้ได้ข้าวกล้อง 1 g/plant นำไปสกัดโดยใช้ methanol 70% แล้ววัดโดยวิธี pH differential method ตามวิธีของ Abdel-Aal and Hucl (1999)

### การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลค่าเฉลี่ย และช่วงการกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2

เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ วิเคราะห์หาความ สัมพันธ์ระหว่างลักษณะ และประเมินการกระจาย ตัว โดยการจัดกลุ่ม ทดสอบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้ม เมล็ดในลูกผสมชั่วที่ 2 โดยใช้ chi-square test ( $\chi^2$  test)

### ผลการทดลอง

#### สีเยื่อหุ้มเมล็ด

ข้าวเหนียวก้าพันธุ์แม่มีเยื่อหุ้มเมล็ดทุกเมล็ด เป็นสีม่วง ข้าวพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ทุกเมล็ดเป็นสีขาว ส่วนลูกผสมชั่วแรกพบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีน้ำตาลทุก เมล็ด สำหรับลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่ามีการกระจายตัวให้สี เยื่อหุ้มเมล็ดที่ไม่แตกต่างจากค่าคาดหวัง คือ สีม่วง : สี น้ำตาล : สีขาว สอดคล้องกับอัตราส่วนเท่ากับ 9:3:4 (ตารางที่ 1) ในลูกผสมชั่วที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบสองแหล่ง ปลุก พบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่แตกต่างกัน ระหว่างแหล่งปลูก ซึ่งการปลูกในที่สูงให้จำนวนต้นที่มีเยื่อ หุ้มม่วงทั้งเมล็ดสูงกว่า และให้ความเข้มของสีเยื่อหุ้ม เมล็ดมากกว่าการปลูกในที่ลุ่ม

#### ปริมาณแอนโทไซยานิน

คัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2 จากต้นที่มีลักษณะเยื่อ หุ้มเมล็ดสีม่วงทั้งหมด 100 ต้น และพันธุ์พ่อแม่ที่ปลูกทั้งที่ ลุ่มและที่สูง เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด ทั้งสองแหล่งปลูก พบว่ามีการกระจายตัวของปริมาณแอน โทไซยานินในลูกผสมชั่วที่ 2 โดยพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ไม่

พบแอนโทไซยานิน พันธุ์แม่ และลูกผสมที่ปลูกในที่ลุ่มมี ค่าเฉลี่ยน้อยกว่าการปลูกในที่สูง โดยพันธุ์แม่ปลูกในที่ลุ่ม มีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 147 mg/100 g ในขณะที่ การปลูกที่สูงมีค่าเท่ากับ 312 mg/100 g ในส่วนของ ลูกผสมชั่วที่ 2 ปลูกในที่ลุ่มให้ค่าเฉลี่ย 24.9 mg/100 g กระจายตัวระหว่าง 0.2-154.5 mg/100 g แต่เมื่อปลูกในที่ สูงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 58.9 mg/100 g กระจายตัวกว้างกว่า มีค่าระหว่าง 0.2-370.3 mg/100 g ซึ่งพบว่าลูกผสมส่วน ใหญ่กระจายตัวอยู่ในช่วงค่าแอนโทไซยานินต่ำ (ภาพที่ 1)

เมื่อพล็อตกราฟระหว่างปริมาณแอนโทไซ ยานินในเมล็ดจากทั้งสองแหล่งปลูก พบความสัมพันธ์ แบบเส้นตรงในทางบวกระหว่างการปลูกในที่ลุ่มและใน ที่สูง มีค่าความชัน (b) เท่ากับ 1.91 และสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.7887\*\* (ภาพที่ 2) โดยพันธุ์ ปิธิชู ซึ่งเป็นพันธุ์แม่ ที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานิน ก่อนข้างสูงในสภาพแวดล้อมทั้ง 2 พื้นที่ และยังพบว่ามี ลูกผสม จำนวน 4 ต้น ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง ซึ่ง ที่ถูกจัดกลุ่มอยู่ในระดับเดียวกับพันธุ์ปิธิชู

#### ผลผลิตเมล็ด

ในลูกผสมชั่วที่ 2 พบการกระจายตัวของน้ำหนัก เมล็ดต่อดัน เมื่อปลูกในที่ลุ่มให้น้ำหนักเมล็ดเฉลี่ย 7.34 g/plant กระจายตัวระหว่าง 2.54-20.64 g/plant ในขณะที่ การปลูกที่สูง กระจายตัวกว้างกว่าการปลูกในที่ลุ่ม โดยมี ค่าเฉลี่ย 10.38 g/plant กระจายตัวระหว่าง 2.92-31.72 g/plant โดยพันธุ์พ่อให้น้ำหนักเมล็ดต่อดันค่อนข้างสูงทั้ง

Table 1. Distribution of pericarp color in  $F_2$  population between purple rice (BES037) and white rice (PTT1) grown at Chiang Mai University (CMU) and Thung Luang (TL) in 2015

| Parent and cross             | Pericarp color of grain |       |       | Total | $\chi^2$<br>(9:3:4) | P-value |
|------------------------------|-------------------------|-------|-------|-------|---------------------|---------|
|                              | Purple                  | Brown | White |       |                     |         |
| Parents                      |                         |       |       |       |                     |         |
| BES037                       | 10                      |       |       | 10    |                     |         |
| PTT1                         |                         |       | 10    | 10    |                     |         |
| $F_1$ (BES037 $\times$ PTT1) |                         | 10    |       | 10    |                     |         |
| $F_2$ (BES037 $\times$ PTT1) |                         |       |       |       |                     |         |
| CMU                          | 143                     | 58    | 64    | 265   | 1.582               | 0.453   |
| TL                           | 156                     | 45    | 64    | 265   | 0.889               | 0.641   |

The ratio were not significantly different at  $P>0.05$

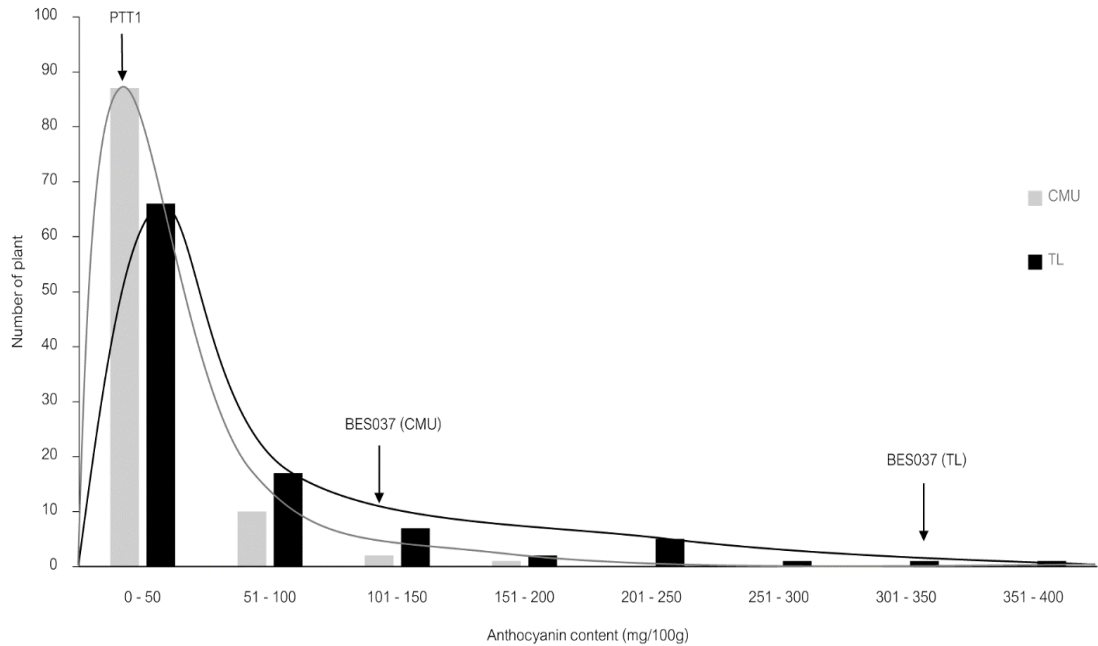


Figure 1. Distribution of anthocyanin content in  $F_2$  population between purple rice (BES037) and white rice (PTT1) grown at lowland (CMU) and highland (TL) conditions

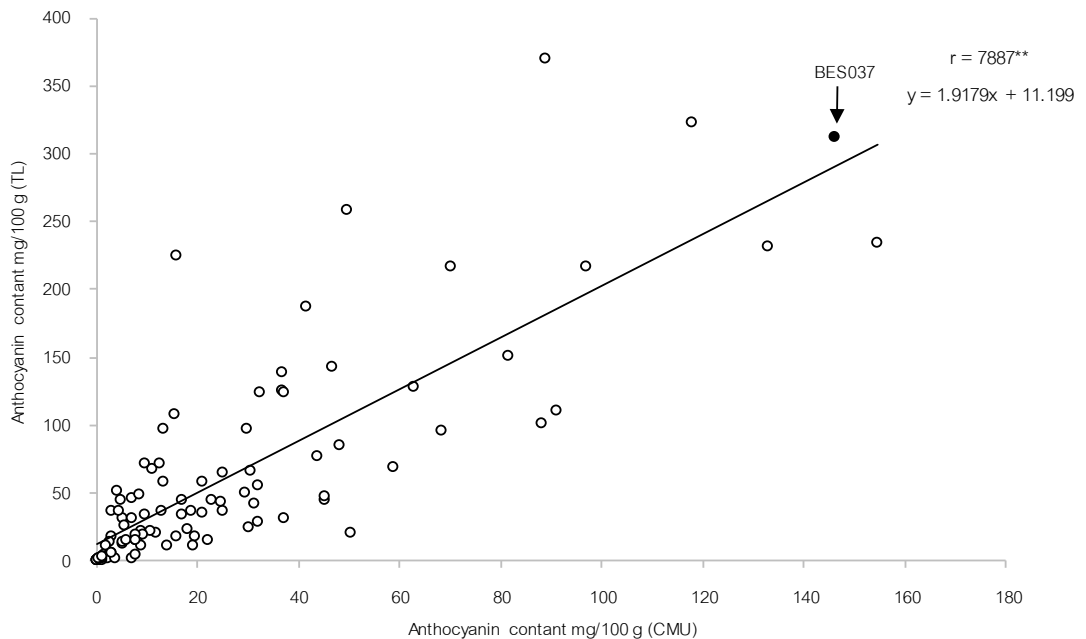


Figure 2. Relationship between anthocyanin content in grain of  $F_2$  population from lowland (CMU) and highland (TL)

สองแหล่งปลูก ในที่ลุ่ม เท่ากับ 12.13 g/plant ที่สูง 16.53 g/plant ในขณะที่พันธุ์แม่ให้น้ำหนักค่อนข้างต่ำทั้งสองแหล่งปลูก (ภาพที่ 3) ในขณะที่การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของน้ำหนักเมล็ดต่อต้นจากการเพาะปลูกของทั้งสองแหล่งปลูก พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างแหล่งปลูก (ภาพที่ 4 a)

### น้ำหนักเมล็ดต่อต้นและปริมาณแอนโทไซยานิน

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเมล็ดต่อต้น และปริมาณแอนโทไซยานินในลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้งสองแหล่งปลูก พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างทั้งสองลักษณะ โดยพันธุ์แม่ให้น้ำหนักเมล็ดต่อต้นค่อนข้างต่ำและปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงทั้งสองแหล่งปลูก ส่วนพันธุ์พ่อให้น้ำหนักเมล็ดค่อนข้างสูงทั้งสองแหล่งปลูก และไม่พบปริมาณแอนโทไซยานินเนื่องจากเป็นข้าวขาว (ภาพที่ 4 b, 4 c)

### วิจารณ์

จากการศึกษาลักษณะของสีเยื่อหุ้มเมล็ด ในลูกผสมชั่วที่ 1 พบเป็นสีน้ำตาลทุกเมล็ด แต่เมื่อศึกษาในลูกผสมชั่วที่ 2 จากการปลูกในที่สูงพบว่ามีกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดทั้งสามแบบ คือ สีม่วง : สีน้ำตาล : สีขาว เท่ากับ 9:3:4 แสดงว่าลักษณะของสีเยื่อหุ้มเมล็ดถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ โดยมีการแสดงออกแบบข่มข้ามคู่ (recessive epistasis) ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang and Shu (2007) และ Rahman *et al.* (2013) ที่พบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวในสัดส่วนเดียวกัน และลักษณะสีม่วงของเยื่อหุ้มเมล็ดในข้าวเหนียวดำถูกควบคุมด้วยยีนสองตัว คือ *Pb* และ *Pp* ดังนั้นในการคัดเลือกให้ได้ต้นที่มีแอนโทไซยานินสูงในประชากรที่มีการกระจายตัวทางพันธุกรรมเช่นนี้ประสบความสำเร็จควรจะเพิ่มขนาดประชากรที่จะคัดเลือกให้มากขึ้น

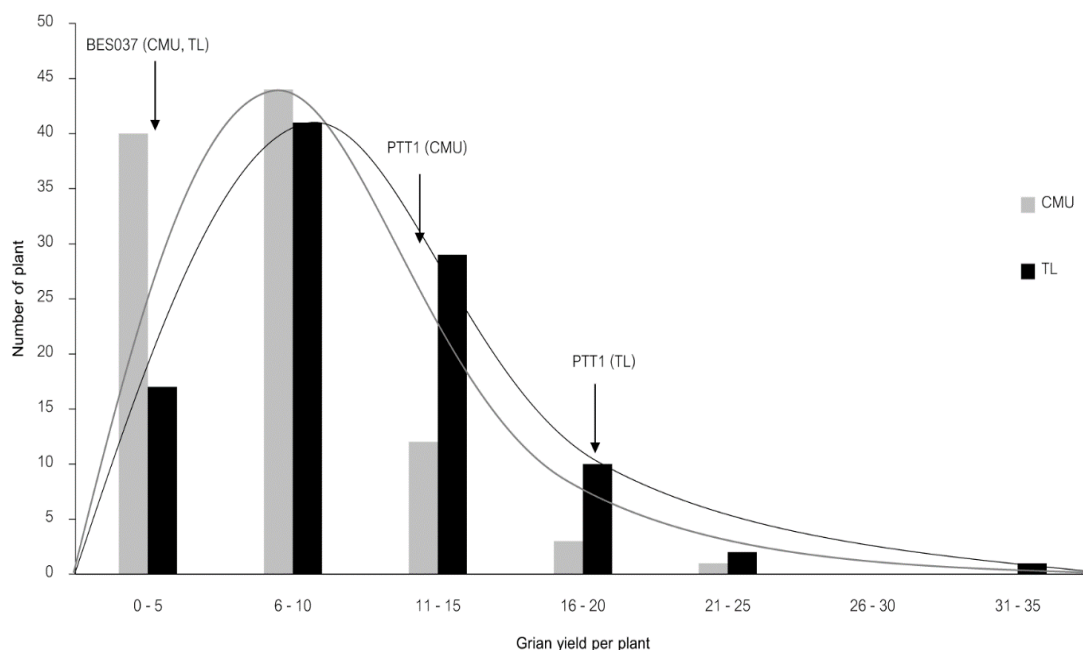


Figure 3. Distribution of grain yield per plant in F2 population between purple rice (BES037) and white rice (PTT1) grown at lowland (CMU) and highland (TL) conditions

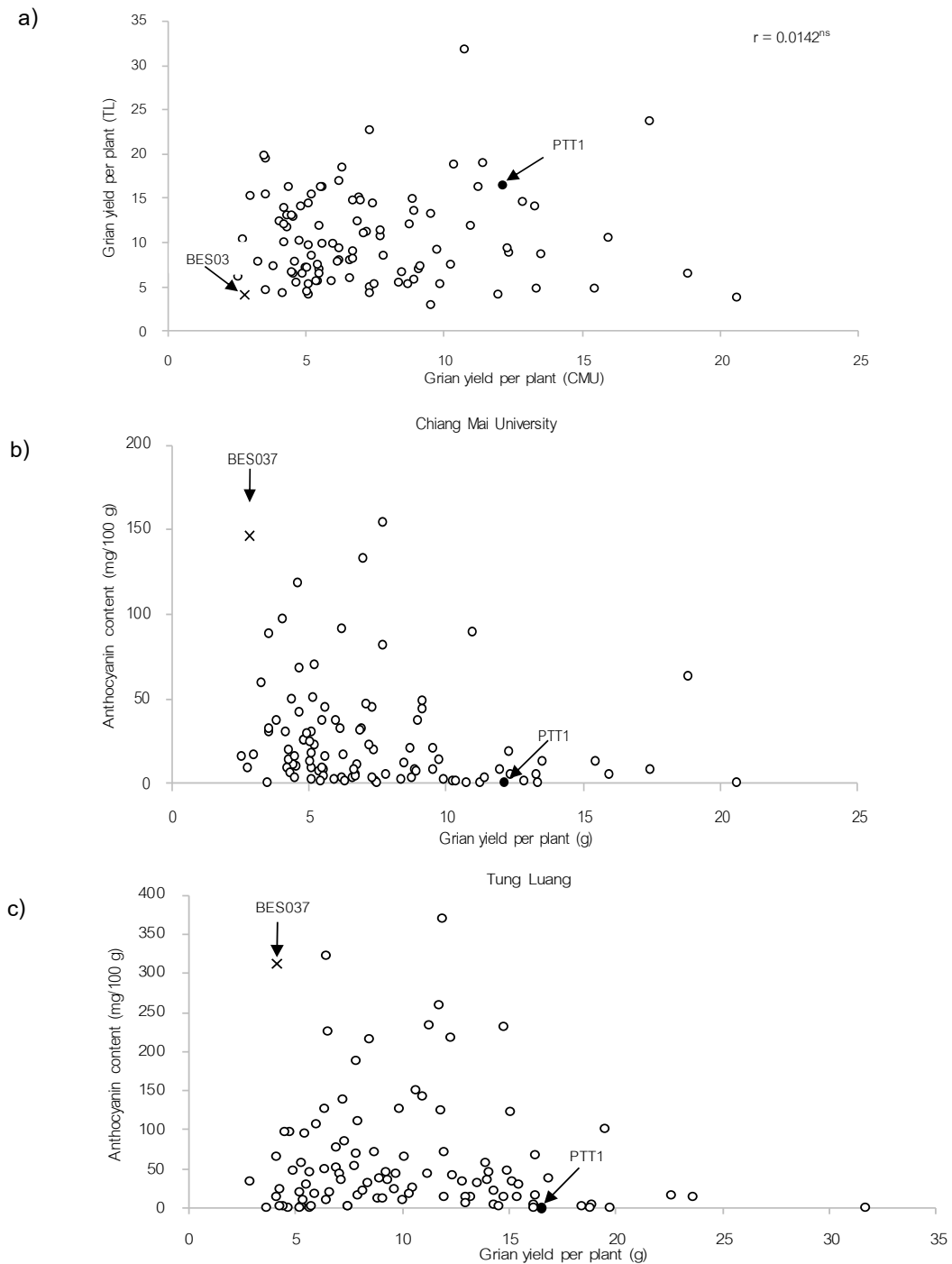


Figure 4. Relationship between (a) grain yield per plant in  $F_2$  population from lowland (CMU) and highland (TL), (b) grain yield per plant and anthocyanin content in  $F_2$  population from lowland (CMU) and (c) grain yield per plant and anthocyanin content in  $F_2$  population from highland (TL)

เพื่อเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกให้ได้จำนวนต้นที่มีกรแสดงออกของลักษณะที่ต้องการ และเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกต้นที่มีแอนโทไซยานินสูง และจากผลการทดลองเมื่อได้ข้อมูลพันธุ์กรรมที่ควบคุมลักษณะการแสดงออกของสีเยื่อหุ้มเมล็ด จะทำให้สามารถวางแผนคัดเลือกต้นที่มีแอนโทไซยานินสูงได้โดยคัดเลือกจากต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงได้เนื่องจากผลการศึกษาของ Shen *et al.* (2009) และ Ham *et al.* (2015) พบว่าความเข้มของสีเยื่อหุ้มเมล็ดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมในเมล็ด

การกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีค่าอยู่ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ เป็นการกระจายตัวแบบต่อเนื่อง (continuous distribution) ซึ่งกระจายตัวค่อนข้างไปในทิศทางของปริมาณแอนโทไซยานินต่ำ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของพีรพันธ์ และคณะ (2557) ที่พบว่าจำนวนต้นของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ส่วนใหญ่กระจายตัวไปยังทิศทางที่มีค่าปริมาณแอนโทไซยานินค่อนข้างต่ำ และมีประชากรส่วนน้อยที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงในคู่ผสมระหว่างข้าวกำแพงแสน ดอยสะเก็ด และพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ปทุมธานี 1 และในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวกำแพงแสน Heugjinju กับข้าวขาวพันธุ์ Hwacheong ges (Ham *et al.*, 2015)

นอกจากนี้ยังพบว่าอิทธิพลของสภาพแวดล้อมในแหล่งปลูกมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว โดยตอบสนองต่อแหล่งปลูกที่แตกต่างกันเมื่อปลูกประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 เปรียบเทียบใน 2 พื้นที่ปลูก ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของ Somsana *et al.* (2013) พบว่าข้าวกล้า 7 สายพันธุ์ที่ปลูกใน 8 สภาพแวดล้อมแตกต่างกัน มีปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ปลูก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Rerkasem *et al.* (2015) พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวกล้า 9 สายพันธุ์ที่ปลูกบนพื้นที่สูงและที่ราบลุ่มให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดที่แตกต่างกัน โดยในการทดลองนี้พบว่าประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ปลูกในที่ลุ่ม (CMU) ให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดต่ำกว่าการปลูกในที่สูง (TL) ผลที่ได้เป็นไปได้ว่าการปลูกในที่สูงมีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ต่ำกว่าในที่ลุ่ม ซึ่งอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในพืชชนิดอื่น

ด้วยเช่นกัน พบว่าอุณหภูมิปลูกในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิประมาณ 15-20 องศาเซลเซียส จะให้ผลผลิตที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าการปลูกในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Yamane *et al.*, 2006) และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินจากต้นที่ปลูกในที่ลุ่ม (CMU) และต้นที่ปลูกในที่สูง (TL) พบว่ามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก แสดงว่าต้นที่ปลูกในสภาพที่ลุ่มให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูง เมื่อปลูกในที่สูงก็จะให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงเช่นกัน

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเมล็ดต่อต้นทั้งสองแหล่งปลูก ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กัน และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเมล็ดต่อต้นกับปริมาณแอนโทไซยานิน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ สุภาภรณ์ และชนากานต์ (2559) ที่พบว่าข้าวเหนียวดำพื้นเมือง 19 พันธุ์ ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด แสดงว่าปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดที่สูงไม่ได้เกิดจากผลผลิตต่ำ (non dilution effect) จากผลการศึกษานี้จะช่วยให้เกิดความเข้าใจและเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนงานพัฒนาและการปรับปรุงพันธุ์ ทำให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือต้นที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงได้ ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จึงต้องมีการวางแผนปลูกทดสอบสายพันธุ์ข้าวที่ 2-3 จำนวนมากพอและคัดเลือกในสภาพแวดล้อมและมีอุณหภูมิที่เหมาะสม

## สรุป

จากผลการศึกษาพบว่าลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ด ถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินใน เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวแบบต่อเนื่อง ค่อน ไปในทิศทางของแอนโทไซยานินต่ำ และสภาพแวดล้อมที่ แตกต่างกันมีผลต่อการสะสมของปริมาณแอนโทไซยานิน ในเมล็ด โดยการปลูกในที่สูง (TL) มีการกระจายตัวของ ปริมาณแอนโทไซยานินกว้างกว่าการปลูกในที่ลุ่ม (CMU) และให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดมากกว่าเป็นสอง เท่า

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ภายใต้สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## เอกสารอ้างอิง

ดำเนิน กาละดี และ ศันสนีย์ จำจด. 2552. ความแตกต่างทางพันธุกรรมของสีม่วง. หน้า 49-73. ใน: รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องพันธุศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์และโภชนาศาสตร์เกษตรของข้าวเหนียวดำ. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

พีรพันธ์ มาบ้น สุพรรณิกา ตี๋ขันธ์ ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย ดำเนิน กาละดี และ ศันสนีย์ จำจด. 2557. การคัดเลือกในช่วงต้นเพื่อลักษณะแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงและไม่ไวต่อช่วงแสงในลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวพันธุ์ท่าคอยสะเกิดและปทุมธานี 1. วารสารนเรศวรพะเยา 7(2): 160-171.

สุภาพรณ์ ภูะเมื่องมอญ และ ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย. 2559. ความแปรปรวนของปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองของไทย. วารสารเกษตร 32(2): 191-199.

Abdel-Aal, E.-S.M. and P. Hucl. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. Cereal Chemistry 76: 350-354.

Ham, T.H., S.W. Kwon, S.N. Ryu and H.J. Kon. 2015. Correlation analysis between grain color and cyanidin-3-glucoside content of rice grain in segregate population. Plant Breeding and Biotechnology 3: 160-166.

Kim, C.K., M.A. Cho, Y.H. Choi, J.A. Kim, Y.H. Kim, Y.K. Kim and S.H. Park. 2011. Identification and characterization of seed-specific transcription factors regulating anthocyanin biosynthesis in black rice. Journal of Applied Genetics 52: 161-169.

Maeda, H., T. Yamaguchi, M. Omoteno, T. Takarada, K. Fujita, K. Murata, Y. Iyama, Y. Kojima, M. Morikawa, H. Ozaki, N. Mukaino, Y. Kidani and T. Ebitani. 2014. Genetic dissection of black grain rice by the development of a near isogenic line. Breeding Science 64: 134-141.

Matsuo, T., Y. Futsuhara, F. Kikichi and H. Yamaguchi. 1997. Science of the Rice Plant. Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo.

Rahman, M.M., K.E. Lee, E.S. Lee, M.N. Matin, D.S. Lee, J.S. Yun, J.B. Kim and S.G. Kang. 2013. The genetic constitutions of complementary genes *Pp* and *Pb* determine the purple color variation in pericarps with cyanidin-3-O-glucoside depositions in black rice. Journal of Plant Biology 56: 24-31.

Rerkasem, B., S. Jumrus, N. Yimyan and C. Prom-uthai. 2015. Variation of grain quality among Thai purple rice genotypes grown at two different altitudes. ScienceAsia 41: 377-385.

Shen, Y., L. Jin, P. Xiao, Y. Lu and J.S. Bao. 2009. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. Journal of Cereal Science 49: 106-111.

Sompong, R., S. Siebenhandl-Ehn, G. Linsberger-Martin and E. Berghofer. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties

- from Thailand, China and Sri Lanka. Food Chemistry 124: 132-140.
- Somsana, P., P. Wattana, B. Suriham and J. Sanitchon. 2013. Stability and genotype by environment interactions for grain anthocyanin content of Thai black glutinous upland rice (*Oryza sativa*). SABRAO Journal of Breeding and Genetics 45(3): 523-532.
- Wang, C.X. and Q.Y. Shu. 2007. Fine mapping and candidate gene analysis of purple pericarp gene *Pb* in rice (*Oryza sativa* L.). Chinese Science Bulletin 52: 3097-3104.
- Yamane, T., S.T. Jeong, N. Goto-Yamamoto, Y. Koshita and S. Kobayashi. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. American Journal of Enology and Viticulture 57: 54-59.
-



# ผลของแบคทีเรียที่ผลิตสาร Indole-3-Acetic Acid (IAA) ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณธาตุอาหารของพริกชี้หนู

## Effect of Bacteria-producing Indole-3-Acetic Acid (IAA) on Growth and Nutrient Contents of Bird Chili (*Capsicum annuum* L.)

จิราภรณ์ อินทสาร<sup>1\*</sup> ฉัตรปวีณ์ เดชจิริรัตนสิริ<sup>1</sup> และ ประวิทย์ บุญมี<sup>2</sup>  
Jiraporn Inthasan<sup>1\*</sup>, Chatprawee Dechjirattanasiri<sup>1</sup> and Pravitt Boonmee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

<sup>1</sup>Division of Soil Resources and Environment, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

<sup>2</sup>ศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ ต.โป่งผา อ.แม่สาย จ.เชียงราย 57130

<sup>2</sup>Prince Chakraband Pensiri Center for Plant Development, Chiang Rai 57130, Thailand

\*Corresponding author: Email: inthasan@mju.ac.th

(Received: 7 December 2016; Accepted: 29 March 2017)

**Abstract:** Studying of effect of bacteria-producing indole-3-acetic acid (IAA) on growth and nutrient content of chili (*Capsicum annuum* L.) by screening bacteria from rhizospheric soil in Prince Chakraband Pensiri center for plant development, Chiang Rai province was started in 2015. Fifty-seven isolates were found and only fifteen isolates that could provide indole-3-acetic acid (IAA), with the range of IAA production at 20-126 µg/ml. The 6 isolates (isolates 1-6) of IAA producing bacteria were selected to inoculate in chili seedlings. Seven treatments were laid out in a completely randomized design with four replications consisting of 1) control (without inoculation), treatment 2)-7) depending on bacteria-producing indole-3-acetic acid (IAA) isolate 1-6 respectively as *Bacillus* spp. The result showed that isolate 1 (*Brevibacillus agri*) provided the highest IAA value at 126 µg/ml. Isolate 1 caused significantly number of leaves, shoot height, root length, fresh weight and dry weight of shoot and root parts higher than other treatments. Moreover, bacteria isolate 1 could rise the highest of nitrogen phosphorus potassium uptake in shoot (3.68 %N, 0.30 %P and 3.65 %K) and root (2.08 %N, 0.15 %P and 2.49 %K). Obviously, the bacteria that produced high level of IAA had an effect on all growth of physiology parameters than bacteria - producing low of IAA level.

**Keywords:** Bacteria-producing indole-3-acetic acid (IAA), plant nutrition, bird chili

**บทคัดย่อ:** การศึกษาผลของแบคทีเรียที่สามารถผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณธาตุอาหารของพริก โดยทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากดินในพื้นที่ของศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย ในปี พ.ศ. 2558 พบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 57 ไอโซเลท โดยมีแบคทีเรีย 15 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการผลิต IAA อยู่ในช่วง 20 ถึง 126  $\mu\text{g/ml}$  จากนั้นทำการคัดเลือก isolate ที่สามารถผลิตสาร indole-3-acetic acid (IAA) ได้สูงที่สุด 6 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท 1-ไอโซเลท 6 นำไปทดสอบกับต้นกล้าพริก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) ประกอบด้วยสิ่งทดลอง 7 ตัวรับ จำนวน 4 ซ้ำ คือ 1. ตัวรับควบคุม (control) ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์, ตัวรับที่ 2-ตัวรับที่ 7 ใส่จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตสาร IAA ไอโซเลท 1-6 ตามลำดับ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ *Bacillus* spp. จากผลการทดลองพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท 1 (*Brevibacillus agri*) มีความสามารถในการผลิต IAA ได้สูงที่สุดคือ 126  $\mu\text{g/ml}$  ส่งผลให้มีจำนวนใบต่อต้น ความสูง ความยาวราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งทั้งในส่วนเหนือดินและส่วนของราก สูงกว่าตัวรับอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การดูใช้ธาตุอาหารของพริกในตัวรับที่มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ ไอโซเลท 1 ทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ของส่วนเหนือดิน (3.68%N, 0.30%P และ 3.65%K) และ ส่วนรากมีค่าสูงที่สุด (2.08%N, 0.15%P และ 2.49%K) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเชื้อ isolate ที่สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ในปริมาณที่สูงช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตในด้านสรีระทุก ๆ ด้านของพริกขึ้นสูงสูงกว่าเชื้อกลุ่มที่สามารถผลิตฮอร์โมนได้ในปริมาณต่ำ

**คำสำคัญ:** แบคทีเรียผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ธาตุอาหารพืช พริกขึ้นสูง

## คำนำ

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulating chemicals) ที่จัดอยู่ในกลุ่มออกซินมีอยู่หลายชนิด แต่สารออกซินชนิดแรกที่ค้นพบคือ indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งเป็นสารที่พืชสร้างขึ้นเอง (ดิลลี และคณะ, 2549) การสกัดสาร IAA จากพืชเพื่อนำมาใช้ประโยชน์เป็นสิ่งที่กระทำได้ยากและสิ่งที่สำคัญคือ IAA สลายตัวได้ง่ายและรวดเร็วมากจึงไม่สะดวกต่อการนำมาใช้ประโยชน์ (วันเพ็ญ, 2548) มีการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ที่มีคุณสมบัติคล้ายออกซินเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ได้แก่ NAA (1-naphthylacetic acid), IBA (4-(indol-3-yl)butyric acid), 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) และ 4-CPA (4-chlorophenoxyacetic acid) (พันทวี, 2532; พิศเดช, 2529) ขณะเดียวกันจากการศึกษางานวิจัยหลายชิ้นพบว่ามีการสังเคราะห์ IAA โดยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดิน โดยการสังเคราะห์ IAA นั้นมีกรดอะมิโน L-tryptophan เป็นสารตั้งต้น ซึ่งมีจุลินทรีย์หลายกลุ่ม โดยเฉพาะ plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) (Lynch, 1985) ซึ่ง PGPR เป็นแบคทีเรียที่อาศัย

อยู่รอบ ๆ รากพืชและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วยกลไกต่าง ๆ (Arshad and Frankenberger, 1992) ยังรวมถึงจุลินทรีย์กลุ่มที่มีความสามารถในการย่อยละลายฟอสเฟตที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ร่วมกับหินฟอสเฟตหรือปูนโดโลไมท์ ทำให้ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดินโดยเฉพาะฟอสฟอรัสเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งปรับระดับค่าความเป็นกรดต่างในดินกรดให้อยู่ในระดับที่สูงขึ้นอีกด้วย (จิราภรณ์ และคณะ, 2559) นอกจากนี้จุลินทรีย์กลุ่ม PGPR ยังสามารถผลิตฮอร์โมนพืชได้อีกหลายชนิด ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช ปรับปรุงโครงสร้างดิน ยับยั้งการทำงานของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคพืช (ธนากร, 2557) ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากรอบ ๆ รากพืชที่มีความหลากหลายของพืชพันธุ์นั้น มีความสามารถในการสร้าง IAA ที่ต่างกัน โดย IAA เป็นตัวเหนี่ยวนำในการทำให้รากพืชยืดยาวขึ้น และยังเพิ่มจำนวนขนราก รวมทั้งทำให้พืชมีความสามารถในการดูดใช้ธาตุอาหารได้ดีอีกด้วย (Datta and Basu, 2000)

ปัญหาสำคัญของการเพาะปลูกพริกขึ้นสูงในพื้นที่ของศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงรายนั้น มักประสบปัญหาเกี่ยวกับความไม่สม่ำเสมอของต้นกล้าพริกขึ้นสูงที่ไม่สมบูรณ์ จากสาเหตุต่าง ๆ หลาย

ด้านไม่ว่าจะเป็นเกิดการเกิดโรคของพืชโดยเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา เนื่องจากในพื้นที่ของศูนย์มีความแปรปรวนของสภาพอากาศ โดยเฉพาะการเพาะปลูกพริกชี้หนูในช่วงฤดูฝน ซึ่งมักจะสังเกตอาการได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าหรือ 1 เดือนหลังย้ายปลูก ทั้งนี้พบว่าต้นกล้าที่มีระบบรากแข็งแรงจะมีโอกาสในการเกิดโรคพืชได้น้อยกว่า ดังนั้นจึงมีแนวคิดในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของระบบรากของพืชในงานทดลองครั้งนี้ ซึ่งพบว่ามีการศึกษาจุลินทรีย์ที่สามารถผลิต IAA ต่อความยาวรากของ sugar beet น้ำหนักแห้งของพืชส่วนเหนือดิน และระบบรากของต้นกล้า sugar beet ซึ่งจุลินทรีย์ดังกล่าวคือ *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* หลายสายพันธุ์พบในสภาพไร่นาของเกษตรกรในเมือง Berkeley รัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา (Loper and Schroth, 1986) ทั้งนี้จากการทดลองของ Pilet and Saugy (1985) ได้ศึกษาความเข้มข้นของ IAA กับความยาวของรากข้าวโพดพบว่ามีความสัมพันธ์กันระหว่างความยาวของรากและปริมาณ IAA ที่ใช้ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ จะเห็นได้ว่าการนำจุลินทรีย์กลุ่มนี้มาใช้ในงานในทางการเกษตรมาเป็นระยะเวลาหนึ่งแล้ว ซึ่งการศึกษาเพิ่มเติมของงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการนำเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต IAA ที่ตรวจสอบได้ในบริเวณพื้นที่ดังกล่าวมาทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกชี้หนู และปริมาณธาตุอาหาร

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการศึกษาความสามารถในการผลิตสาร indole-3-acetic acid (IAA) ของแบคทีเรียในพื้นที่ของศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย โดยทำการศึกษาและวิเคราะห์ทางเคมี ในห้องปฏิบัติการอาคารปฏิบัติการทางดินและปุ๋ยชั้นสูง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ระหว่างเดือนมกราคม - ธันวาคม 2558 นำตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร บริเวณรอบ ๆ รากพืชของศูนย์ฯ มาทำการเจือจางเป็นลำดับส่วน (serial dilution) แล้วนำมาแยกเชื้อโดยเกลี่ยเชือบนอาหารแข็ง PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง

เป็นเวลา 3 วัน พบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 57 Isolates หลังจากนั้นนำเชื้อที่พบทั้งหมดมาทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยวิธีการ streak plate method ลงบนอาหาร nutrient agar (NA) เพื่อนำไปศึกษาหาความสามารถในการผลิต IAA ต่อไป

## การเลี้ยงเชื้อและการเก็บตัวอย่างแบคทีเรียที่สามารถผลิต IAA

เมื่อได้แบคทีเรียบริสุทธิ์ที่แยกได้โคโลนีเดี่ยวบนอาหาร nutrient agar (NA) แล้ว จึงนำมาเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (NB) ที่เติม tryptophan 0.102 g/l นำเชื้อที่ได้ไปบ่ม โดยเขย่าด้วยความเร็ว 125 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นนำเชื้อที่ได้มาแยกส่วนสารละลายโดยการนำมา centrifuge ที่ 50,000 rpm เป็นเวลา 5-10 นาที เพื่อแยกเซลล์ของเชื้อออกจากสารละลาย นำส่วนละลายใส่เก็บไว้ปววิเคราะห์หาปริมาณ indole-3-acetic acid (IAA)

เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน IAA (IAA Standard) โดยใช้ indole-3-acetic acid (MW = 175.19) เป็น standard เตรียม IAA ให้มีความเข้มข้น 10 mM ก่อน โดยใช้เป็น stock solution (ละลายใน 50% Methanol) แล้วเจือจางสารละลาย IAA 10 mM ให้เป็น 1 mM ด้วย 50% methanol จากนั้นนำสารละลาย IAA ที่ความเข้มข้น 1 mM นี้ทำ standard ที่มีความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 50, 100, 150  $\mu$ M โดยการเตรียมแต่ละความเข้มข้นจำนวน 1 ml ปรับปริมาตรด้วย 50% methanol (อรรชร, 2545) และดูดสารละลายส่วนใสของตัวอย่างแบคทีเรียมา 1 ml ใส่ในหลอดทดลองจากนั้นเติม van Urk-Salkowski reagent 2 ml โดยใช้วิธี Salkowski's method (Ehmann, 1977) เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มในที่มืดนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer

เมื่อได้ข้อมูลปริมาณสาร indole-3-acetic acid (IAA) ของแบคทีเรียทั้งหมด 57 ไอโซเลทข้างต้นแล้วพบว่า มีเพียง 15 ไอโซเลท ที่สามารถผลิต IAA ได้ จึงได้ทำการทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถ ในการผลิต IAA สูงที่สุด 6 ไอโซเลท เพื่อนำมาทดสอบกับต้นกล้าพริกชี้หนู โดยวางแผนทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD)

จำนวน 4 ข้ำ ประกอบด้วยสิ่งทดลอง 7 ดำรับ คือ 1. ดำรับควบคุม (control) ไม่ใส่เชื้อแบคทีเรีย ดำรับที่ 2- ดำรับที่ 7 ใส่แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสาร IAA ไอโซเลท 1-6 ตามลำดับ ทำการศึกษาในต้นกล้าพริก ที่มีอายุ 1 สัปดาห์ โดยทำการย้ายปลูกกล้าพริกลงในวัสดุ ปลูก (ขุยมะพร้าว) จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลท จึงนำมาเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (NB) จนเกิดความ ขุ่นและมีความเข้มข้นของเชื้อไม่น้อยกว่า  $10^8$  CFU/ml ใส่ ลงบริเวณรอบต้นพริกขี้หนู 5 ml/ต้น หลังจากย้ายปลูก เสร็จ ทำการบันทึกผลอัตราการเจริญเติบโต ความสูง จำนวนใบ ทำการให้น้ำหลังย้ายปลูกวันละ 2 ครั้ง และให้ สารละลายธาตุอาหาร Hogland solution วันเว้นวัน เป็น ระยะเวลา 6 สัปดาห์ (Lindsay, 1979)

### ขั้นตอนการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค DNA Sequencing

นำแบคทีเรียที่สามารถผลิต IAA สูงที่สุด 6 ไอโซเลท มาเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient agar (NA) ให้ อยู่ในช่วง log phase แยกเก็บเซลล์ที่บริสุทธิ์ นำมาสกัด Genomic DNA จากชุดสกัด DNA (genomic DNA extraction kit) หลังจากนั้นทำ PCR เพื่อเพิ่มจำนวน 16S rDNA ที่สนใจ (ใช้ primer ที่จำเพาะต่อ 16S rDNA; โดย ใช้ 27F และ 1522R) จนได้ purified PCR product ส่ง PCR product ที่ได้ไปหาลำดับเบสของ DNA ที่ 1<sup>st</sup> Base Laboratories ประเทศมาเลเซีย นำผลการวิเคราะห์หาลำดับเบสมาสร้าง contig และ นำ contig ที่สร้างได้ไป เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม BLASTN การเปรียบเทียบจะดูค่า %similarity หาก มากกว่า 95% ถือว่าเหมือนกับเชื้อชนิดที่มีในฐานข้อมูล ทุกประการ แต่ถ้าต่ำกว่าอาจจะเป็นเชื้อสปีชีส์เดียวกัน แต่ อาจจะเป็นคนละสายพันธุ์กับที่มีรายงานไว้ในฐานข้อมูล GenBank

### การเก็บตัวอย่างพืชและการวิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช

เมื่อครบระยะเวลาจากการเก็บข้อมูล (7 สัปดาห์ หลังย้ายปลูก) ทำการเก็บตัวอย่างต้นพริกขี้หนู โดยแยก เก็บเป็นส่วนของต้น และส่วนของราก โดยนำตัวอย่างมา

ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง ล้างดินและรากของพริก อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ ในโตรเจน โดยการย่อยตัวอย่างพืชตามวิธีการของ Jackson (1967) ตัวอย่างพืชจะถูกเผา (dry ashing) ที่ อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ประมาณ 6-8 ชั่วโมง จากนั้นละลายตัวอย่างด้วยสารละลายผสม (2 N HCl : น้ำกลั่น ในอัตราส่วน 15:15 มิลลิลิตร) เพื่อวิเคราะห์ ปริมาณฟอสฟอรัส โดยการพัฒนาสี อ่านค่าด้วยเครื่อง Spectrophotometer และปริมาณโพแทสเซียม อ่านค่า ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (เนาวรัตน์, 2527)

### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ตามแผนการทดลอง แบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) เมื่อพบความแตกต่างกันในทางสถิติจึงทำการ เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธีจัดกลุ่ม ของสิ่งทดลอง (least significant difference-LSD)

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### ปริมาณ Indole-3-Acetic Acid (IAA) ที่แบคทีเรียผลิตได้

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากตัวอย่าง ดินในระยะ 0-15 เซนติเมตร ของศูนย์จักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย พบแบคทีเรียทั้งหมด 57 ไอโซเลท โดยมี แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสาร indole-3-acetic acid (IAA) จากการเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (NB) ทั้งหมด 15 ไอโซเลท ซึ่งสามารถผลิต IAA ที่เป็นสาร ควบคุมการเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินได้อยู่ในช่วง 20 ถึง 126 µg/ml ดังแสดงในภาพที่ 1 ไอโซเลท ที่สามารถ ผลิต IAA ได้สูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 1 ซึ่งสามารถผลิต IAA ได้ 126 µg/ml รองลงมาคือ ไอโซเลท 3 ไอโซเลท 4 และ ไอโซเลท 5 ซึ่งสามารถผลิต IAA ได้เท่ากับ 102, 101 และ 100 µg/ml ตามลำดับ ขณะที่ ไอโซเลท 12 สามารถผลิต IAA ได้น้อยที่สุด คือ 20 µg/ml จึงคัดเลือก แบคทีเรียที่สามารถผลิต IAA สูงที่สุด 6 ลำดับแรกไป จำแนกชนิดเชื้อโดยการหาลำดับเบส 16S rRNA พบว่า

แบคทีเรียดังกล่าวเป็นชนิดของแบคทีเรีย *Brevibacillus agri*, *Brevibacillus borstelensis* และ *Bacillus megaterium* (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shahab *et al.* (2009) ที่พบการผลิตสาร indole acetic acid ของแบคทีเรียชื่อ *Bacillus thuringiensis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ tryptophan โดยพบปริมาณ IAA อยู่ในช่วง 57-288 µg/ml และ การทดลองของ Mohite (2013) ที่พบแบคทีเรีย *B. megaterium*, *Lactobacillus casei*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus* และ *Lactobacillus acidophilus* บริเวณรอบรากข้าวโพด ข้าวสาลี ต้นกล้วย และฝ้าย มีความผันแปรของปริมาณการผลิต IAA ตั้งแต่ 15-65 µg/ml ขณะที่ธนากร (2557) ศึกษาการสังเคราะห์ IAA จากแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่แยกได้จากดินและเปลือกของต้นยางพารา โดยทำการทดสอบในอาหารที่มี L-tryptophan เช่นกันพบว่า ไอโซเลท NRRU-L11 สามารถสร้าง IAA ได้สูงถึง

608 µg/ml อย่างไรก็ตามจากงานทดลองของ วิลาวรรณ์ และดุสิต (2557) ที่ศึกษาเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007S พบเชื่อดังกล่าวสามารถผลิต IAA อยู่ในระดับ 47.5 µg/ml เท่านั้น รวมทั้งงานทดลองของ Datta *et al.* (2011) ที่พบว่าแบคทีเรียทั้งหมด 15 ไอโซเลท มีความสามารถในการผลิต IAA อยู่ในช่วง 0-44 µg/ml และมีความสามารถในการย่อยสลายฟอสฟอรัสเช่นกัน ซึ่งเป็นแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* sp. ส่วนงานทดลองของ Acuña *et al.* (2011) คัดเลือกแบคทีเรียจากรอบ ๆ รากพืชพบแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Paenibacillus* sp. สามารถผลิต IAA อยู่ที่ 32-37 µg/ml เท่านั้น ทั้งนี้ยังพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างและอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการผลิต IAA ของแบคทีเรียอีกด้วย (Malhotra and Srivastava, 2009; Acuña *et al.*, 2011)

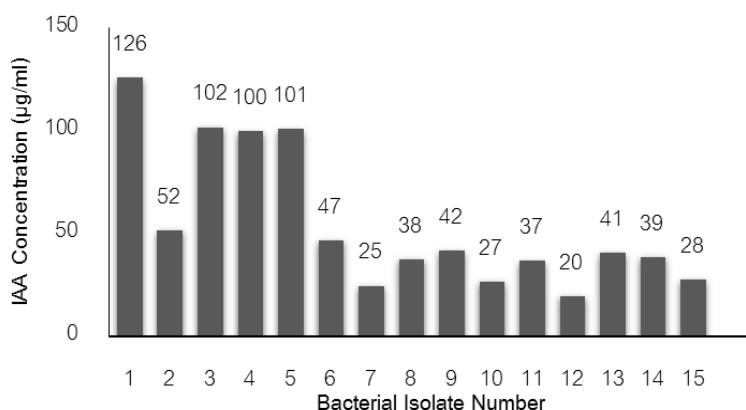


Figure 1. Comparison of Indole-3-acetic acid (IAA) production by the bacteria isolates in NB broth with tryptophan

Table 1. Identification of IAA producing bacteria by DNA sequencing 16S rDNA

| Isolate Number | Identified bacteria               | % Similarity |
|----------------|-----------------------------------|--------------|
| Isolate 1      | <i>Brevibacillus agri</i>         | 96           |
| Isolate 2      | <i>Brevibacillus borstelensis</i> | 96           |
| Isolate 3      | <i>Brevibacillus borstelensis</i> | 95           |
| Isolate 4      | <i>Bacillus megaterium</i>        | 97           |
| Isolate 5      | <i>Brevibacillus borstelensis</i> | 95           |
| Isolate 6      | <i>Brevibacillus borstelensis</i> | 95           |

### ข้อมูลทางด้านการเจริญเติบโตของต้นพริกขี้หนู

ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสาร IAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกขี้หนู จนถึงระยะติดดอก พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 การใช้เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลทต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างระหว่างตำรับทดลอง ขณะที่ในสัปดาห์ที่ 3 พบว่าเชื้อ ไอโซเลท 1 มีผลต่อการเพิ่มจำนวนใบของต้นพริกขี้หนูสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 3, 4 และ 7 คือ 29, 53 และ 230 ใบ/ต้น โดยในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 การใช้เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท 1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ ไอโซเลท 2, 3, 4 และ ไอโซเลท 5 ขณะที่การใช้เชื้อ ไอโซเลท 6 ซึ่งมีความสามารถในการผลิต IAA ต่ำกว่า ไอโซเลท อื่น ๆ มีปริมาณจำนวนใบใกล้เคียงกับตำรับควบคุม ทั้งนี้ตำรับควบคุมยังคงเป็นตำรับที่มีจำนวนใบต่อต้นพริกขี้หนูน้อยที่สุดในทุกสัปดาห์ โดยในสัปดาห์ที่ 7 มีจำนวนใบอยู่ที่ 151 ใบ/ต้น ซึ่งใกล้เคียงกับงานทดลองของ Khan *et al.* (2014) ที่ศึกษาผลของปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมต่อความสูงและจำนวนใบของพริกขี้หนู พบว่าจำนวนใบมีค่าอยู่ในช่วง 201-294 ใบ/ต้น โดยตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ยพบจำนวนใบเพียง 201 ใบ/ต้น เท่านั้น (ตารางที่ 2) การตอบสนองในระดับเซลล์ของออกซิน ทำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์ (cell enlargement) เช่น ทำให้เกิดการขยายตัวของใบ ทำให้ผลเจริญเติบโต การใช้สารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติคล้าย ๆ

ออกซิน เช่น 2,4-dichlorophenoxyacetic acid บ้างกัน ผลส้มไม่ให้ร่วง หรือ naphthalene acetic acid สามารถป้องกันการร่วงของใบ นอกจากนี้ในบางกรณีออกซินยังสามารถทำให้สัดส่วนของดอกเพศเมียและเพศผู้เปลี่ยนไป โดยออกซินจะกระตุ้นให้มีดอกเพศเมียมากขึ้นอีกด้วย (दनัย, 2539)

สำหรับความสูงของต้นพริกขี้หนูในแต่ละสัปดาห์พบว่าการใช้เชื้อทุกไอโซเลท มีผลทำให้ความสูงของต้นพริกขี้หนูสูงกว่าตำรับควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนถึงสัปดาห์ที่ 7 โดยในสัปดาห์ที่ 1 เชื้อไอโซเลท 1 ทำให้ความสูงของต้นพริกขี้หนูสูงที่สุดคือ 5.0 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับ ไอโซเลท 2 ไอโซเลท 3 และ ไอโซเลท 4 ขณะที่สัปดาห์ที่ 2 พบความสูงของต้นพริกขี้หนูที่มีการใช้เชื้อทุกไอโซเลทอยู่ในช่วง 6.9-8.1 เซนติเมตร สำหรับความสูงของต้นพริกขี้หนูในสัปดาห์ที่ 3, 4, 5 และ 7 พบว่าการใช้เชื้อไอโซเลท 1 ส่งผลให้ความสูงของต้นพริกขี้หนูสูงที่สุดคือ 13.6, 20.5, 27.8 และ 42.9 เซนติเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 3) โดยเชื้อไอโซเลทดังกล่าวไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับ ไอโซเลท 2 ไอโซเลท 3 ไอโซเลท 4 และ ไอโซเลท 5 แต่พบความแตกต่างระหว่างใน ไอโซเลท 6 ที่ค่อนข้างมีแนวโน้มต่อการยืดตัวของต้นพริกน้อยกว่า Isolate อื่น ๆ โดยมีความสูงของต้นพริกขี้หนูใกล้เคียงกับตำรับควบคุมที่มีความสูงของต้น

Table 2. Effects of bacteria-producing indole-3-acetic acid (IAA) on number of bird chili leaves in 7 weeks

| Treatment  | Number of chili leaves (leaves/plant) |      |       |        |        |       |         |
|------------|---------------------------------------|------|-------|--------|--------|-------|---------|
|            | 1                                     | 2    | 3     | 4      | 5      | 6     | 7       |
| control    | 7.3                                   | 8.3  | 20 b  | 34 c   | 60 c   | 120   | 151 c   |
| Isolate 1  | 8.0                                   | 9.5  | 29 a  | 53 a   | 104 ab | 169   | 230 a   |
| Isolate 2  | 7.8                                   | 9.8  | 23 ab | 36 abc | 86 abc | 137   | 180 bc  |
| Isolate 3  | 8.0                                   | 9.3  | 24 ab | 43 abc | 87 abc | 144   | 174 bc  |
| Isolate 4  | 8.0                                   | 9.3  | 25 ab | 47 ab  | 111 a  | 157   | 209 ab  |
| Isolate 5  | 7.8                                   | 9.3  | 28 a  | 42 abc | 96 ab  | 141   | 195 abc |
| Isolate 6  | 7.5                                   | 9.0  | 20 b  | 35c    | 77 bc  | 135   | 194 abc |
| CV         | 8.56                                  | 7.80 | 18.56 | 18.81  | 22.04  | 17.01 | 16.61   |
| F-test     | ns                                    | ns   | *     | *      | *      | ns    | *       |
| Grand mean | 7.75                                  | 9.18 | 24.0  | 41.3   | 88.6   | 143.1 | 190.4   |

Note: Means in the same column followed by different letters were significantly different by LSD, \*=0.05, and ns= Non significant

Table 3. Effect of bacteria-producing indole-3-acetic acid (IAA) on shoot height in 7 weeks

| Treatment  | Shoot height (cm/week) |        |          |          |          |       |          |
|------------|------------------------|--------|----------|----------|----------|-------|----------|
|            | 1                      | 2      | 3        | 4        | 5        | 6     | 7        |
| Control    | 4.4 c                  | 5.7 b  | 8.2 c    | 13.0 c   | 19.8 c   | 26.5  | 36.6 c   |
| Isolate 1  | 5.0 a                  | 8.1 a  | 13.6 a   | 20.5 a   | 27.8 a   | 32.5  | 42.9 a   |
| Isolate 2  | 4.8 ab                 | 7.1 ab | 10.9 abc | 16.5 abc | 22.8 abc | 28.9  | 37.2 bc  |
| Isolate 3  | 4.7 abc                | 6.9 ab | 11.1 abc | 18.2 ab  | 25.0 ab  | 31.4  | 41.4 abc |
| Isolate 4  | 4.7 abc                | 8.1 a  | 11.5 abc | 19.2 ab  | 25.3 ab  | 31.0  | 41.4 abc |
| Isolate 5  | 4.6 bc                 | 7.9 a  | 12.0 ab  | 18.9 ab  | 25.1 ab  | 31.7  | 42.0 ab  |
| Isolate 6  | 4.5 bc                 | 7.5 a  | 9.6 bc   | 15.6 bc  | 21.2 bc  | 28.4  | 37.3 bc  |
| CV         | 3.80                   | 9.73   | 15.26    | 12.98    | 10.76    | 8.93  | 8.34     |
| F-test     | **                     | **     | **       | **       | **       | ns    | *        |
| Grand mean | 4.66                   | 7.31   | 10.99    | 17.40    | 23.86    | 30.06 | 39.83    |

Note: Means in the same column followed by different letters were significantly different by LSD, \*\*=0.01, \*=0.05, and ns= Non significant

พริกชี้หนูดำที่สุดอีกด้วย โดยความสูงของต้นพริกชี้หนูในงานทดลองครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับงานทดลองของ Datta *et al.* (2011) ที่ทำการแช่ต้นกล้าพริกในแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต IAA แล้วทำการย้ายปลูกลงในดินละเอียดร่วมกับทราย โดยพบว่าต้นพริกมีความสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 35.8-45.5 เซนติเมตร ขณะที่งานทดลองของ Khan *et al.* (2014) พบค่าความสูงของต้นพริกอยู่ในช่วง 44.5-68.3 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่างานทดลองในครั้งนี้ รวมทั้งงานทดลองของ Amaresan *et al.* (2012) โดยพบข้อสรุปว่าการใส่แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต IAA ได้สูง (*Bacillus pumilus* BETL13) ส่งผลให้ต้นกล้าพริกมีความสูง สูงกว่าในตำรับที่ใส่แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ IAA ได้ต่ำ ขณะที่ Bhandari *et al.* (2009) พบว่าปริมาณ IAA ในอัตราต่าง ๆ มีผลต่อความยาวราก ความสูงของต้น *Verbascum thapsus* โดยที่ความเข้มข้น 50 ppm IAA ช่วยให้พืชมีความยาวราก ความสูง จำนวนใบ จำนวนข้อ จำนวนกิ่งสูงกว่า ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ขณะที่ความเข้มข้นที่ 200 ppm ส่งเสริมในด้านของพื้นที่ใบ จำนวนดอกและผล นอกจากนี้ Kasula *et al.* (2008) ได้ทำการทดลองใช้ thidiazuron (9  $\mu$ M) ร่วมกับ IAA (2.8  $\mu$ M) พบว่ามีผลทำให้ต้นกล้าพริกยืดยาวขึ้น 3-4 เซนติเมตรเมื่อเทียบกับตำรับอื่น ๆ ทั้งนี้จากงานทดลอง

การคลุกเชื้อ *Azospirillum* ในเมล็ดพริก ใส่ทางดินและใส่ในระยะต้นกล้า ร่วมกับการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน และฮอร์โมน NAA 5 ppm พบว่าช่วยส่งเสริมในด้านของความสูงและจำนวนกิ่งของต้นพริก (Amirthalingam, 1988; Paramaguru and Natarajan, 1993)

### น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวราก

สำหรับอัตราส่วนของน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความยาวรากในระยะ 7 สัปดาห์พบว่าน้ำหนักสดของส่วนเหนือดินจากการใส่เชื้อไอโซเลท 6 ให้ค่าน้ำหนักเท่ากับตำรับควบคุมคือ 46.8 กรัม/ต้น ( $P<0.05$ ) ส่วนการใช้เชื้อไอโซเลท 1 ส่งผลให้น้ำหนักสดของต้นพริกสูงที่สุดคือ 68.3 กรัม/ต้น แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับการใช้เชื้อไอโซเลท 3 ไอโซเลท 4 และ ไอโซเลท 5 ขณะที่น้ำหนักสดของราก ไม่พบความแตกต่างในทางสถิติกับการใช้เชื้อชนิดต่าง ๆ โดยตำรับควบคุมทำให้น้ำหนักสดของรากน้อยที่สุดคือ 15.2 กรัม/ต้น และการใส่เชื้อไอโซเลท 1 ส่งผลให้น้ำหนักสดของรากสูงที่สุดคือ 27.2 กรัม/ต้น ในส่วนของน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินของต้นพริกเป็นไปในทิศทางเช่นเดียวกันกับน้ำหนักสดคือการใช้เชื้อไอโซเลท 1 ส่งผลทำให้น้ำหนักแห้งของต้นพริกสูงที่สุด คือ 14.1 กรัม/ต้น แต่ไม่มีความแตกต่างกับการใช้เชื้อไอโซเลท 3 ไอโซเลท 4 และ ไอโซเลท 5 ขณะที่เชื้อไอโซเลท 2

และ ไอโซเลท 6 มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 8.3 กรัม/ต้น แต่ไม่แตกต่างกับค่าควบคุม และการใช้เชื้อชนิดอื่นยกเว้นการใช้เชื้อไอโซเลท 1 เท่านั้น ในส่วนของน้ำหนักแห้งของรากพบว่าการใช้เชื้อไอโซเลท 1 ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับการใช้เชื้อ Isolate 3 ขณะที่การใช้เชื้อไอโซเลทอื่น ๆ มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของราก อยู่ในช่วง 1.7-2.5 กรัม/ต้น (ตารางที่ 4) ทั้งนี้ค่าควบคุมยังคงให้น้ำหนักแห้งของรากพริกต่ำที่สุดคือ 1.5 กรัม/ต้น จากงานทดลองในครั้งนี้มีความสอดคล้องกับ Egamberdiyeva (2007) ที่ศึกษาแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต IAA คือ *Pseudomonas alcaligenes* (PsA15), *Bacillus polymyxa* (BcP26) และ *M. phlei* (MbP18) พบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ส่งผลให้น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดเพิ่มขึ้น 17-30% และน้ำหนักแห้งของรากเพิ่มขึ้น 19-52% ในดิน Calcisol เมื่อเทียบกับค่าควบคุม สำหรับของความยาวรากของต้นพริกอายุ 7 สัปดาห์นั้นมีความผันแปรระหว่างค่ารับทดลองน้อยมากโดยใช้เชื้อไอโซเลท 1 ไม่มีความแตกต่างกับการใช้เชื้อไอโซเลทอื่น ๆ ยกเว้นการใช้เชื้อไอโซเลท 2 เท่านั้น ที่มีผลทำให้ความยาวของรากพริกแตกต่างในทางสถิติ โดยค่าควบคุมมีความยาวของรากพริกต่ำที่สุดคือ 25.7 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกับการใช้เชื้อไอโซเลท 2 ไอโซเลท 4 ไอโซเลท 5 และ ไอโซเลท 6 ( $P<0.05$ )

สอดคล้องกับงานทดลองของ Etesami *et al.* (2015) พบว่าความยาวของรากข้าวมีสหสัมพันธ์กับปริมาณ IAA โดยทำการวัดรากข้าวที่ระยะเวลา 20 วันหลังคลุกเชื้อแบคทีเรีย เมื่อใช้ตามที่มีปริมาณ IAA สูงขึ้นความยาวของรากก็จะเพิ่มขึ้น โดยพบค่าสหสัมพันธ์อยู่ที่  $R=0.89$

### ปริมาณธาตุอาหารพืช

ปริมาณธาตุอาหารที่วิเคราะห์ได้จากส่วนเหนือดินและรากของต้นพริกในระยะ 7 สัปดาห์ พบว่าส่วนเหนือดินของต้นพริกมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเฉลี่ยอยู่ที่ 3.19%N ปริมาณฟอสฟอรัส 0.28%P และปริมาณโพแทสเซียม 3.38%K ปริมาณธาตุอาหารหลักทั้ง 3 ธาตุอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานเล็กน้อยคือ 3.0%N, 0.3%P และ 5.0%K (Reuter and Robinson, 1986) โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของส่วนเหนือดินสูงที่สุดเมื่อมีการใช้เชื้อไอโซเลท 1 คือ 3.68%N แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับการใช้เชื้อไอโซเลท 3 และ ไอโซเลท 5 โดยค่าควบคุม ยังคงมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำที่สุดคือ 2.73%N ( $P<0.05$ ) ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติระหว่างค่ารับทดลอง โดยไอโซเลท 1 มีแนวโน้มของปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม สูงที่สุดใกล้เคียงกับไอโซเลท 5 มากกว่าการใช้เชื้อไอโซเลทอื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด (ตารางที่ 5)

**Table 4. Effect of bacteria-producing indole-3-acetic acid (IAA) on fresh weight, dry weight and root lenght of bird chili at 7 weeks**

| Treatment  | Fresh weight (g/plant) |       | Dry weight (g/plant) |         | Root length<br>cm |
|------------|------------------------|-------|----------------------|---------|-------------------|
|            | Shoot                  | Root  | Shoot                | Root    |                   |
| Control    | 46.8 c                 | 15.2  | 7.9 b                | 1.5 d   | 25.7 b            |
| Isolate 1  | 68.3 a                 | 27.2  | 14.1 a               | 3.6 a   | 28.8 a            |
| Isolate 2  | 51.6 bc                | 18.6  | 8.25 b               | 2.4 bcd | 26.1 b            |
| Isolate 3  | 58.8 abc               | 21.3  | 10.9 ab              | 2.9 ab  | 28.3 a            |
| Isolate 4  | 60.7 ab                | 19.5  | 11.4 ab              | 2.0 bcd | 27.2 ab           |
| Isolate 5  | 60.5 abc               | 21.4  | 11.9 ab              | 2.5 bc  | 27.1 ab           |
| Isolate 6  | 46.8 c                 | 16.9  | 8.3 b                | 1.7 cd  | 26.2 ab           |
| CV         | 16.68                  | 29.57 | 20.60                | 21.72   | 5.22              |
| F-test     | *                      | ns    | **                   | **      | *                 |
| Grand mean | 56.20                  | 19.99 | 10.40                | 2.35    | 27.02             |

Note: Means in the same column followed by different letters were significantly different by LSD, \*\*=0.01, \*=0.05, and ns= Non significant



Table 5. Effect of bacteria-producing indole-3-acetic acid (IAA) on nutrition of bird chili at 7 weeks

| Treatment  | Nitrogen(%) |       | Phosphorus(%) |           | Potassium(%) |         |
|------------|-------------|-------|---------------|-----------|--------------|---------|
|            | Shoot       | Root  | Shoot         | Root      | Shoot        | Root    |
| control    | 2.73 c      | 1.75  | 0.27          | 0.084 d   | 2.76         | 1.81 c  |
| Isolate 1  | 3.68 a      | 2.08  | 0.30          | 0.153 a   | 3.65         | 2.49 a  |
| Isolate 2  | 3.15 bc     | 1.93  | 0.28          | 0.112 bcd | 3.43         | 2.20 ab |
| Isolate 3  | 3.28 ab     | 1.88  | 0.29          | 0.133 ab  | 3.45         | 2.28 a  |
| Isolate 4  | 3.18 bc     | 1.95  | 0.28          | 0.121 abc | 3.48         | 2.22 ab |
| Isolate 5  | 3.25 ab     | 2.08  | 0.29          | 0.119 bc  | 3.64         | 2.24 ab |
| Isolate 6  | 3.04 bc     | 1.85  | 0.28          | 0.095 cd  | 3.27         | 1.92 bc |
| CV         | 9.88        | 11.54 | 6.84          | 14.31     | 14.20        | 11.15   |
| F-test     | *           | ns    | ns            | **        | ns           | *       |
| Grand mean | 3.19        | 1.93  | 0.28          | 0.117     | 3.38         | 2.16    |

Note: Means in the same column followed by different letters were significantly different by LSD, \*\*=0.01, \*=0.05, and ns= Non significant

ขณะที่ปริมาณธาตุอาหารหลักทั้ง 3 ธาตุในตัวอย่างรากพืชพบว่าไอโซเลท 1 ส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับไอโซเลท 5 คือ 2.08%N แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับทุกตัวรับ ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างรากพบว่าเชื้อไอโซเลท 1 ส่งผลให้มีปริมาณฟอสฟอรัสสูงที่สุดคือ 0.153%P แต่ไม่มีความแตกต่างกับไอโซเลท 3 และ ไอโซเลท 4 ทั้งนี้ตัวรับควบคุมยังคงมีปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่างรากต่ำที่สุดคือ 0.084%P สำหรับปริมาณโพแทสเซียม ในตัวอย่างรากนั้นพบว่าการใช้เชื้อไอโซเลท 1 ทำให้ปริมาณโพแทสเซียมสูงที่สุดคือ 2.49%K แต่ไม่มีความแตกต่าง จากการใส่เชื้อไอโซเลท 2 ไอโซเลท 3 ไอโซเลท 4 และ ไอโซเลท 5 ขณะที่เชื้อไอโซเลท 6 มีปริมาณโพแทสเซียมต่ำกว่าการใช้เชื้อไอโซเลทอื่น ๆ และ ไม่มีความแตกต่างกับตัวรับควบคุม ( $P<0.05$ ) จากงานทดลองของ Egamberdiyeva (2007) พบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต IAA ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณธาตุอาหารในข้าวโพดในระยะ 4 สัปดาห์ พบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในส่วนเหนือดินและรากของข้าวโพดเพิ่มขึ้น 16-85% ในดิน Calcisol เมื่อเทียบกับตัวรับควบคุมและเทียบกับดินร่วนปนทราย

## สรุป

การตอบสนองของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิต IAA ซึ่งคัดแยกได้จากพื้นที่ของศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จ.เชียงราย นั้นพบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถผลิต IAA มีทั้งหมด 15 ไอโซเลท จากจำนวนทั้งหมด 57 ไอโซเลทโดยมี 6 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ถูกนำมาศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเติบโต และปริมาณธาตุอาหารของพริกชี้หนู พบว่า เชื้อทั้ง 6 ไอโซเลท มีผลทำให้จำนวนใบ ความสูงของต้นพริก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และความยาวของรากของต้นกล้าพริกชี้หนู รวมทั้งปริมาณไนโตรเจนฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในตัวอย่างส่วนเหนือดิน และรากของต้นพริกชี้หนูสูงกว่าตัวรับควบคุม โดย ไอโซเลท 1 (126  $\mu\text{g/ml}$ ) คือเชื้อ *Brevibacillus agri* มีประสิทธิภาพสูงกว่าไอโซเลทอื่น โดยเชื้อไอโซเลทใดที่สามารถผลิต ฮอร์โมน IAA ได้ในปริมาณที่สูงมักจะส่งผลทำให้การเจริญเติบโตในด้านสรีระทุก ๆ ด้านสูงกว่าเชื้อกลุ่มที่สามารถผลิตฮอร์โมนได้ในปริมาณต่ำ รวมทั้งการดูใช้ธาตุอาหารพืชได้ดีอีกด้วย ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำแบคทีเรียกลุ่มนี้ไปต่อยอดโดยการนำไปใช้ประโยชน์กับการผลิตพริกชี้หนูในพื้นที่ของศูนย์ฯ เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต เพิ่มผลผลิต และลดโอกาสการเกิดโรคของพริกชี้หนู ทั้งนี้เนื่องจาก

แบคทีเรียที่คัดแยกได้นั้น เป็นแบคทีเรียที่ได้ในบริเวณพื้นที่ทำการเพาะปลูก จึงน่าจะมีสามารถในการอยู่รอดและเหมาะกับ สภาพพื้นที่เพาะปลูกมากกว่าจุลินทรีย์ที่มาจากพื้นที่อื่น อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมและเก็บข้อมูลจนถึงระยะเก็บเกี่ยว จากงานทดลองครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่น ๆ ได้ โดยเฉพาะพืชที่ต้องการสร้างความแข็งแรงของราก และการดูดใช้ธาตุอาหาร

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ ต.โป่งผา อ.แม่สาย จ.เชียงราย และ มูลนิธิชัยพัฒนา ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

- จิราภรณ์ อินทสาร ฉัตรปวิณ์ เดชจิรรัตนศิริ และ ประวิทย์ บุญมี. 2559. ผลของการใช้วัสดุปรับปรุงดิน ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดินได้ทรงพุ่มมะรุ่ม. วารสารเกษตร 32(3): 379-390.
- दनัย บุญยเกียรติ. 2539. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ธนากร แสงสง่า. 2557. พีจีพีอาร์: บทบาทในการส่งเสริมและป้องกันพืชภายใต้สภาวะเครียด. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22(4): 553-570.
- เนาวรัตน์ ศิวะศิลป์. 2527. คู่มือวิเคราะห์ดิน พืช และปุ๋ย. ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- พันธ์วิมา ไพรโรจน์. 2532. ฮอโมนและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช: บทแนะนำความรู้พื้นฐาน. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- พีรเดช ทองอำไพ. 2529. ฮอโมนพืชและสารสังเคราะห์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ลิลลี่ กาวิตะ มาลี ณ นคร ศรีสม สุวรรณวงศ์ และ สุรียา ตันติวิวัฒน์. 2549. สรีรวิทยาของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2548. สรีรวิทยาทั่วไป (General Physiology). โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- วิลาวรรณ เชื้อบุญ และ ดุสิต อธิณวิวัฒน์. 2557. ฮอโมนพืชผลิตจาก *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์. Thai Journal of Science and Technology 3(3): 196-205.
- อรรณณ ฉัตรสิริรุ่ง. 2545. การผลิตสาร Indole-3-acetic acid (IAA) และ Rhizobitoxine โดยเชื้อไรโซเปียม. ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- Acuña, J.J., M.A. Jorquera, O.A. Martínez, D. Menezes-Blackburn, M.T. Fernández, P. Marschner, R. Greiner and M.L. Mora. 2011. Indole acetic acid and phytase activity produced by rhizosphere bacilli as affected by pH and metals. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 11(3): 1-12.
- Amarešan, N., V. Jayakumar, K. Kumar and N. Thajuddin. 2012. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria and their effect on tomato (*Lycopersicon esculentum*) and chilli (*Capsicum annuum*) seedling growth. Annals of Microbiology 62: 805-810.
- Amirthalingam, S. 1988. Studies on effect of *Azospirillum*, nitrogen and NAA on growth and yield of chilli (*Capsicum annuum* L.) cv. K.1. South Indian Horticulture 36(4): 218.

- Arshad, M. and W.T. Frankenberger. 1992. Microbial production of plant growth regulators. pp. 307-347. In: F.B. Metting, Jr. (ed.). Soil Microbial Ecology. Marcel Dekker Inc., New York.
- Bhandari, S., M. Sajwan and N.S. Bisht. 2009. Physiological effect of auxins on growth characteristics and productive potential of *Verbascum thapsus* - a medicinal plant. Researcher 1(5): 47-51.
- Datta, C. and P.S. Basu. 2000. Indole acetic acid production by a *Rhizobium* species from root nodules of a leguminous shrub *Cajanus cajan*. Microbiological Research 155(2): 123-127.
- Datta, M., R. Palit, C. Sengupta, M.K. Pandit and S. Banerjee. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria enhance growth and yield of chilli (*Capsicum annuum* L.) under field conditions. Australian Journal of Crop Science 5(5): 531-536.
- Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. Applied Soil Ecology 36(2-3): 184-189.
- Ehmann, A. 1977. The van Urk-Salkowski reagent - a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indole derivatives. Journal of Chromatography 132(2): 267-276.
- Etesami, H., H.A. Alikhani and H.M. Hosseini. 2015. Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents. MethodsX 2: 72-78.
- Jackson, M.L. 1967. Soil Chemical Analysis. Prentice Hall of India Pvt. Ltd., New Delhi.
- Kasula, K., S. Prasad, P. Umate, K. Gadidasu and S. Abbagan. 2008. Efficient TDZ and IAA-assisted plant regeneration from cotyledon and leaf explants of *Capsicum annuum* L. one-step protocol for shoot bud differentiation and elongation. International Journal of Plant Developmental Biology 2(2): 114-117.
- Khan, A., S.N.M. Shah, A. Rab, M. Sajid, K. Ali, A. Ahmed and S. Faisal. 2014. Influence of nitrogen and potassium levels on growth and yield of chillies (*Capsicum annuum* L.). International Journal of Farming and Allied Sciences 3(3): 260-264.
- Lindsay, W.L. 1979. Chemical Equilibria in Soil. John Wiley & Sons, New York. 449 p.
- Loper J.E. and M.N. Schroth. 1986. Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. Phytopathology 76: 386-389.
- Lynch, J.M. 1985. Origin, nature and biological activity of aliphatic substances and growth hormones found in soil. pp. 151-174. In: D. Vaughan and R.E. Malcom (eds). Soil Organic Matter and Biological Activity. Martinus Nijhoff /Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Malhotra, M. and S. Srivastava. 2009. Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum brasilense* SM and its ability to modulate plant growth. European Journal of Soil Biology 45: 73-80.
- Mohite, B. 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant

- growth. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13(3): 638-649.
- Paramaguru, P. and S. Natarajan. 1993. Effect of *Azospirillum* on growth and yield of chilli (*Capsicum annuum* L.) grown under semi-dry condition. South Indian Horticulture 4(2): 80-83.
- Pilet, P.E. and M. Saugy. 1985. Effect of applied and endogenous indol-3yl-acetic acid on maize root growth. Planta 164(2): 254-258.
- Reuter, D.J. and J.B. Robinson. 1986. Plant Analysis: An Interpretation Manual. Inkata Press, Melbourne. 218 p.
- Shahab, S., N. Ahmed and N. S. Khan. 2009. Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PSBs. African Journal of Agriculture Research 4(11): 1312-1316.
-

# Characteristics of Indigenous *Azospirillum* spp. Associated with Peanut Nodules and Compatibility with *Bradyrhizobium* in Thailand

## คุณลักษณะของ *Azospirillum* spp. สายพันธุ์ท้องถิ่นในปมถั่วลิสงและการอยู่ร่วมกันได้กับ *Bradyrhizobium* ในประเทศไทย

Punpaporn Kongkaew<sup>1\*</sup>, Supamard Panichsakpatana<sup>1</sup>, Phatchayaphon Meunchang<sup>2</sup>  
and Achara Nuntagij<sup>2</sup>

พรณปพร กองแก้ว<sup>1\*</sup> ศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา<sup>1</sup> ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง<sup>2</sup> และ อัจฉรา นันทกิจ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Soils Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

<sup>1</sup>ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>2</sup>Soil Microbiology Research Group, Research Group of Soil Science, Research Division for Agricultural Production Development, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

<sup>2</sup>กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

\*Corresponding author: Email: Anusoil20@gmail.com

(Received: 26 April 2017; Accepted: 27 July 2017)

**บทคัดย่อ:** *Azospirillum* เป็นแบคทีเรียในบริเวณรอบรากพืชที่ตรึงไนโตรเจนได้โดยอิสระชนิดหนึ่ง ซึ่งสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืช ในการศึกษานี้ได้ค้นหาและแยกเชื้อ *Azospirillum* สายพันธุ์พื้นเมืองในปมถั่วลิสงจากพื้นที่ปลูกถั่ว 3 แห่งในประเทศไทย พบว่า ประชากรของเชื้อ *Azospirillum* ในปมถั่วที่หาโดยวิธี most probable number และใช้อาหารกึ่งเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนในดิน 3 ชนิดได้แก่ ดินทรายร่วน (เพชรบูรณ์) ดินร่วนปนทราย (เชียงใหม่) และดินร่วนปนเหนียว (กรุงเทพฯ) มี  $2.4 \times 10^4$ ,  $2.4 \times 10^3$  และ  $2.3 \times 10^2$  cfu/g ตามลำดับ แยกเชื้อแบคทีเรียได้ 6 ไอโซเลทซึ่งได้นำมาศึกษาลักษณะของเชื้อต่อไป จากลักษณะด้านสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมีของเชื้อทั้ง 6 ไอโซเลท พบว่า เป็นเชื้อ *Azospirillum* spp. เชื้อทุกไอโซเลทสร้างวงแหวนสีฟ้าได้ผิวหน้าของอาหารกึ่งเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน บนอาหารแข็งที่เติม Congo red โคโลนีของทุกไอโซเลทมีสีแดง ที่บดและแห้ง ทุกไอโซเลทมีรูปร่างเซลล์เป็นแท่ง ติดสีแกรมลบ จากความสามารถในการใช้กลูโคสและไตรโซเดียมซิเตรตเป็นแหล่งของคาร์บอน สามารถแบ่งเชื้อออกได้เป็น 3 กลุ่ม จากการวิเคราะห์ลำดับเบสของ 16S rDNA พบเชื้อ 3 ไอโซเลทจัดอยู่ในกลุ่มของ *A. oryzae* เชื้อ 2 ไอโซเลทจัดอยู่ในกลุ่ม *A. formosense* และเชื้อ 1 ไอโซเลทอยู่ในกลุ่ม *A. brasilense* สำหรับไอโซเลทของ *A. oryzae* และ *A. brasilense* มีความคล้ายคลึงกันในด้านมีความสามารถสูงในการรีดิวส์อะเซททีลีน แต่ต่างกันว่า *A. brasilense* มีความสามารถในการผลิต IAA ได้สูงกว่า ในขณะที่ *A. oryzae* มีความสามารถผลิต IAA ได้ต่ำที่สุด ในจำนวนเชื้อทั้ง 6 ไอโซเลท มีเพียง *A. oryzae* ที่สามารถละลายฟอสเฟตและสร้างซิเดอโรฟอรัส นอกจากนี้ยังพบว่า *A. formosense* ไอโซเลทมีความสามารถในการรีดิวส์อะเซททีลีนได้ต่ำที่สุด แต่มีความสามารถในการสร้าง IAA สูง และเป็นเชื้อชนิดเดียวที่แสดงความเป็นปฏิปักษ์ต่อ *Bradyrhizobium* สายพันธุ์ TAL 1000 ในการศึกษานี้จึงได้คัดเลือก *A. brasilense* เพื่อการศึกษาในขั้นตอนต่อไป ซึ่งเป็นการศึกษาการปลูกเชื้อร่วมกับเชื้อ *Bradyrhizobium* ในถั่วลิสง

**คำสำคัญ:** *Azospirillum* *Bradyrhizobium* ปมราก ถั่วลิสง

**Abstract:** *Azospirillum* is a free living  $N_2$  fixing rhizobacteria which can promote plant growth and plant productivity. This study was performed to investigate the occurrence and to isolate indigenous *Azospirillum* in the nodules of peanut (*Arachis hypogaea* L.) from three cultivated areas in Thailand. It was found that the population of *Azospirillum* in peanut nodules from three soil types by most probable number method with semisolid N free (Nf) medium were  $2.4 \times 10^4$ ,  $2.4 \times 10^3$  and  $2.3 \times 10^2$  cfu/g respectively. Six bacterial isolates were obtained and were characterized. Based on their morphological, physiological and biochemical characteristics they were putative *Azospirillum* spp. All of them formed the blue pellicles below the surface of semisolid Nf medium. Their colonies on Congo red agar were red, opaque with dry consistency. They were all Gram negative rods. Based on the ability for utilization of glucose and trisodium citrate as carbon sources, they could be divided into three groups. From 16SrDNA sequencing analysis, 3 isolates belonged to *A. oryzae*, 2 isolates belonged to *A. formosense* and 1 isolate belonged to *A. brasilense*. *A. oryzae* isolate was similar as *A. brasilense* isolates for their high acetylene reduction activity (ARA) but *A. brasilense* produced higher IAA production while the IAA production were low. Among the six isolates, only *A. oryzae* isolates could solubilize phosphate and produced siderophore. Meanwhile *A. formosense* isolates had the lowest ARA while the IAA production were high and they had positive antagonism against *Bradyrhizobium* strain TAL 1000. *A. brasilense* was selected for further study for co-inoculation with *Bradyrhizobium* strain TAL 1000 in peanut in the future.

**Keywords:** *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, root nodules, peanut

## Introduction

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is an important oilseed crop and better sources of protein, healthy fats, antioxidants and vitamins. It is used as vegetable and healthy food in the rain-fed area of Thailand. Nowadays, rice-peanut cropping system is normally practical under non-irrigated condition. However, peanut yield has been decreasing due to limitation of appropriate technology for production and efficient inoculation is not successful. Castro *et al.* (1999) reported that there were non-significantly in nodule dry weight, biomass, ARA and seed yield between inoculated and uninoculated peanut in Argentina.

In recent years, soil bacteria that benefit plant growth and yield are commonly referred as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). The studies about PGPR had increased in several

regions of the world and became important in developing countries that produce raw food (Hayat *et al.*, 2010). PGPR are beneficial soil bacteria which can fix nitrogen (Meunchang *et al.*, 2011), promote plant growth (Khongsorn and Boonreung, 2016), solubilize phosphate (Inthasan *et al.*, 2016) and can live associated with a host or be free living in soils.

*Azospirillum* represents the greatest characterized genus of PGPR (Steenhoudt and Vanderleyden, 2000). They are Gram-negative motile rods which can be free living bacteria or live associated with the roots of host plants, root colonizers but not a plant specific. There are 18 species of *Azospirillum*, according to biochemical and molecular characteristics: *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense*, *A. largimobile*, *A. dobereineriae*, *A. oryzae*, *A. melinis*, *A. canadense*, *A. zeae*, *A. rugosum*, *A. palatum*, *A. picis*, *A. thiophilum*, *A. formosense*, *A.*

*fermentarium* and *A. humicireducens*. They could be isolated from soil, leaves and roots of forage grasses, maize, wheat, rice, sorghum, and sugarcane, contaminate oil, tar, a sulfide spring, fermentative broth and humic substances (Cassán *et al.*, 2015).

*Azospirillum* has been the focus of applied research from the 1970s (Hartmann and Bashan 2009) due to their beneficial effects to promote plant growth of many crops in several varieties of plants and various soils and climatic condition around the world, mainly in tropical areas. Combined inoculation of *Azospirillum* and *Rhizobium* resulted in improvement plant growth, nutrient uptake, increasing of N fixing, biomass and yield of winged bean and soybean (Iruthayathas *et al.*, 1983). Several species of *Azospirillum* are able to metabolize phytohormones such as auxins, gibberellins and cytokinins. (Okon and Kapulnik 1986). Soybean root nodules were increased by mix inoculation with *Azospirillum* (Bashan and Levanony, 1990). Bashan *et al.* (1992) reported that inoculation of *Azospirillum* which was isolated from legumes could promote the growth and productivity of legumes. Bashan (1993) suggested that *Azospirillum* took a role as “helper” bacteria by increasing root development, root surface area, root hair and excretion of root exudates which subsequently increased the successful infection by major inoculants. *Azospirillum* can improve productivity of Gramineae and cereal in many countries. Since 2000, scientists described the isolation of *Azospirillum* not only from Gamineae but also from the roots of vegetables and legumes. At present, many reports in the world confirmed that *Azospirillum* could promote *Rhizobium* inoculant and could help legume either directly and indirectly (Bashan *et al.*, 2004). Many reports showed that *Azospirillum* could increase nitrogen fixation, nitrogen accumulation,

plant growth and yield of many legumes (Pereg *et al.*, 2016). In Thailand, *Azospirillum* has been studied and promoted by the Department of Agriculture. Choonluchanon *et al.* (2002) isolated *Azospirillum* spp. from agricultural soils in the northern, northeastern and central region of Thailand. Meunchang (2004) founded *A. brasilense* and *A. lipoferum* in the soils and rhizosphere of grass, sugar cane, pineapple and maize in all Thai regions. Koomnok *et al.* (2007) reported that *Azospirillum* spp. could be isolated from every part of rice at Chiang Mai province and Mejuice *et al.* (2012) founded *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum amazonense* in rice roots at Lampang province, in the northern region of Thailand. However *Azospirillum* isolation from legume in Thailand has not been reported yet.

From these reports, *Azospirillum* has proven to be helper of bacteria promoting root nodules in leguminous plants. Some efficient strains of *Azospirillum* associated with *Rhizobium* may be existed in root nodules. However, the report on *Azospirillum* from legume root nodules was rare but there are many reports on isolation of *Azospirillum* spp. from bulk soil, rhizosphere soil and root. It was worthwhile to study the occurrence of *Azospirillum* in peanut nodules and aimed to isolate and characterize the existing *Azospirillum* for further usage as inoculant for improving of peanut productivity.

## Materials and Methods

### Sample collection and soil analysis

Rhizosphere soils and peanut nodule samples were collected from the peanut cultivated areas with different soil types at blooming stage. Two soil types were from the cultivated areas in the north:

Chiang Mai and Phetchabun and one soil type was from the research field of Department of Agriculture, Bangkok, Thailand. The physical and chemical properties of each soil type such as soil texture, organic matter, pH, total N and the C/N ratio were determined by the standard soil analysis method (Attanandana and Chanchareonsook, 1999).

### Isolation of *Azospirillum*

*Azospirillum* isolates were isolated from the root nodules of peanut plants. One gram of root nodule samples were surface-sterilized by soaking in 95% (v/v) ethanol and 0.1% (w/v) acidified HgCl<sub>2</sub> for 1 min, followed by ten times washing with sterilized distilled water. The samples were macerated with a mortar and pestle in sterile phosphate-buffered saline and 1 ml of diluted sample from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-5</sup> dilutions was taken, and 0.1 ml of aliquot was inoculated into test tubes containing nitrogen free (Nf) semisolid medium (Bashan *et al.*, 1993) then incubated at 37 °C for 48 h to observe the growth by the formation of pellicles. The pellicles were streaked on Congo red agar medium and incubated at 37°C for 72 h (Caceres, 1982). After purified, all the isolates were preserved in glycerol 50%. The population of *Azospirillum* in peanut nodules were determined by the most probable number method (MPN), using a McCrady table with three replicate vials for each dilution on the basis of colony. The isolated bacterial isolates were characterized for morphology physiology and biochemistry. (Meunchang *et al.*, 2011).

### Phenotypic characterization of *Azospirillum* strains

Cell morphology and Gram stain were determined by microscope (Vincent, 1970). The strains were characterized as the following: color of colony, form, elevation, margin, surface and opacity.

Physiological and biochemical tests were carried out using API20 NE (bioMerieux, France) according to the manufacturer's instruction (Zhou *et al.*, 2009).

### 16S rDNA gene amplification and sequencing

Genomic DNAs of *Azospirillum* isolates were amplified by the method of Weisburg *et al.*, (1991). Strains were identified by 16S rDNA gene sequencing. Total genomic DNA was extracted using a DNA purification kit (Bio rad, Germany) as described by the manufacturer. The PCR was carried out by using universal primers fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and rP2 (3'-AAGGAGGTGATCCAGCC-5') using the following conditions: 95 °C for 2 min 30 denaturation cycles at 95 °C for 20 s annealing temperatures primer extension at 70 °C for 10 s followed by a final extension at 70 °C for 5 min. The PRC product was run on an 0.8% agarose gel. Purified using PCR purification kit (Bio rad, Germany). The DNA sequences were analysed with basic sequence alignment BLAST program and checked for misreading with alignment of Bioedit. Phylogenetic analysis was performed using MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013).

### Assays for characteristics associated with plant growth promotion potentials

#### - Nitrogen fixation activity

The ability of the *Azospirillum* isolates to fix atmospheric nitrogen was evaluated by acetylene reduction assays commonly used to measure nitrogenase activity. 0.1% of cell suspension was inoculated in semi-solid NFb medium (Döbereiner *et al.*, 1995) in 4 replications for each strain and incubated at 37 °C for 48 h. Then the headspace of the tube was replaced with acetylene (10% v/v) and incubated at 37 °C for 1 h. Ethylene production was



measured using a Hewlett Packard gas chromatograph (HP 5890 series II, USA) (Eckert *et al.*, 2001).

- Plant growth regulator: Indol-3-Acetic Acid (IAA)

IAA production was measured based on the colorimetric method described by Glickmann and Dessaux (1995) 15 ml of nutrient free broth (nfb) containing 0.1% DL tryptophan was inoculated with *Azospirillum* cultures and incubated in incubator shaker at  $37 \pm 0.1$  °C and 180 rpm for 48 h in the dark. Supernatants were centrifuged at 10,000 rpm for 10 min at 4 °C then 1 ml supernatant was mixed with 4 ml of Salkowski's reagent incubated for 20 min at room temperature then measured absorbance at 535 nm. The concentration of each sample was calculated from the regression equation of the standard curve.

- Phosphorous solubility

*Azospirillum* strains were tested by plate assay using SRSM agar (Franco-Correa *et al.*, 2010). Appropriate dilution was spread on agar plate containing insoluble tricalcium phosphate. Plates were incubated at 37 °C for 72 h. The ability to hydrolyse tricalcium phosphate was determined by the appearance of a clear halo zone around the colony on agar plates.

- Siderophore

This assay was based on iron in ferric complex of chrome azurol S (CAS). The iron was removed from CAS by siderophore and a positive reaction is indicated by a colour change from blue to

orange (Schwyn and Neilands, 1987). Drop 10 µl of *Azospirillum* aliquot onto a CAS agar plate in triplicate and incubated at 37 °C for 3-4 days.

The detection of antagonistic by cross-streak method

Cross streak method was used to rapidly screen for antagonism between *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* strain TAL 1000. Inoculant of *Bradyrhizobium* strain TAL 1000 was inoculated onto the center of a nutrient plate by line-inoculation and incubated at 37 °C for one week. All isolates of *Azospirillum* were inoculated by cross-streak method near *Bradyrhizobium*. Incubation was done at 37 °C for 72 h. The antimicrobial effect was determined by the inhibition zone on solid media. Inhibition zone was considered positive (+) when the zones were 1 mm or more in width (Lertcanawanichakul and Sawangnop, 2008).

## Results and Discussion

### Soil properties and population of *Azospirillum* in peanut root nodules

The highest population density of *Azospirillum* in peanut nodules from Phetchabun was observed though the soil from this cultivated site was very strong acid with pH 4.9 suggesting that soil pH had no effect on the number of *Azospirillum* in peanut nodules (Table 1). This experimental result supported Dobereiner *et al.* (1976) who found that the number of *Azospirillum* in root nodules did not correlate with soil pH due to the high number of

**Table 1.** Properties of the soil samples and population of *Azospirillum* of peanut nodules

| Location   | Soil series   | Texture    | O.M.<br>(%) | Total N<br>(%) | pH<br>(1:1) | MPN (in nodule)<br>(cfu/g) |
|------------|---------------|------------|-------------|----------------|-------------|----------------------------|
| Chiang Mai | San Sai       | sandy loam | 1.99        | 0.098          | 6.1         | $2.4 \times 10^3$          |
| Phetchabun | Slope complex | loamy sand | 2.37        | 0.112          | 4.9         | $2.4 \times 10^4$          |
| Bangkok    | Bang Khen     | clay loam  | 3.44        | 0.196          | 6.4         | $2.3 \times 10^2$          |

*Azospirillum* in root from the soils with various pH from 4.8-7.2. Kanimozhi and Panneerselvam (2010) reported that in sandy loam soil, the population density of *Azospirillum* was highest but in sandy clay loam, the population density was lowest. In this study, the population density of *Azospirillum* in the soils were not included but the resulted on the higher population density of *Azospirillum* in peanut nodules from light soil than those from the heavy soil seemed to be the same trend as the population of *Azospirillum* in soils reported by Kanimozhi and Panneerselvam (2010). According to Bashan and Gonzalez (1999), root exudates dominated bacterial mobility in the soil thus the number of microbial around the roots was up to root exudates of the plants. Sturz and Nowak (2000) reported also that

*Azospirillum* was mainly on the root surface but some strains were colonized the roots in the apoplast and intercellular space. It was therefore expected that the number of *Azospirillum* in peanut nodules depended on root exudates of peanut.

#### Characteristics of *Azospirillum* isolates

Six bacterial isolates were obtained as follows: PN-01 from Bangkok, PN-03, PN-04, PN-06 from Phetchabun and PN-07, PN-08 from Chiang Mai. Their morphological, physiological and biochemical characteristics were shown in Table 2. All of them formed the blue pellicle below the surface of semisolid Nf medium. Their colonies on Congo red agar were red, opaque with dry consistency. They were all Gram negative rod. Based on the ability for

**Table 2.** Morphological and biochemical tested of the selected *Azospirillum* strains

| Provinces                           | Bangkok   | Phetchabun      |       |       |       | Chiang Mai |  |
|-------------------------------------|-----------|-----------------|-------|-------|-------|------------|--|
| Soil series                         | Bang Khen | Slope complex 4 |       |       |       | San Sai    |  |
| Isolated No.                        | PN-01     | PN-03           | PN-04 | PN-06 | PN-07 | PN-08      |  |
| <b>Phenotypic feature</b>           |           |                 |       |       |       |            |  |
| Forming a pellicle in semi-Nfb      | +         | +               | +     | +     | +     | +          |  |
| Colony color in RC medium           | red       | red             | red   | red   | red   | red        |  |
| Cell-shape                          | rod       | rod             | rod   | rod   | rod   | rod        |  |
| Gram-strain                         | Neg.      | Neg.            | Neg.  | Neg.  | Neg.  | Neg.       |  |
| <b>Carbon utilization (API20NE)</b> |           |                 |       |       |       |            |  |
| D-glucose (GLU)                     |           | +               | +     | +     |       |            |  |
| L-arabinose (ARA)                   |           | +               | +     | +     | +     |            |  |
| D-mannose (MNE)                     |           | +               |       |       |       |            |  |
| D-mannitol (MAN)                    |           | +               | +     | +     |       |            |  |
| N-acetyl-glucosamine (NAG)          |           | +               | +     | +     |       |            |  |
| D-maltose (MAL)                     |           |                 |       |       |       |            |  |
| Potassium gluconate (GNT)           | +         | +               | +     | +     | +     | +          |  |
| Capric acid (CAP)                   |           |                 | +     | +     |       |            |  |
| Adipic acid (ADI)                   |           |                 |       |       |       |            |  |
| Malic acid (MLT)                    | +         | +               | +     | +     | +     | +          |  |
| Trisodium citrate (CIT)             |           |                 |       |       | +     |            |  |
| Phenylacetic acid (PAC)             |           |                 |       |       |       |            |  |

utilization of glucose and trisodium citrate, they could be divided into 3 groups. There were 2 isolate, PN-01 and PN-08 in the first group which could not use glucose (GLU) but used gluconate (GNT) and malic acid (MLT). PN-07 isolate was in the second group which used GNT, MLT, arabinose (ARA) and trisodium citrate (CIT) as carbon sources. The rest were in the third group which used GLU, ARA, GNT, MLT, manitol (MAN), N-acetyl-glucosamine (NAG) and capric acid (CAP). This result agreed with Okon (1994) who reported that *Azospirillum* could utilize a variety of sugar, alcohols and organic acids as

carbon sources for growth and reviewed that most *Azospirillum* strain used glucose but *A. brasilense* could not use it.

The phylogenetic tree of *Azospirillum* from peanut nodules was shown in Figure 1. The six *Azospirillum* isolates were classified into three clusters. The cluster I consisted of three isolates as follows PN-03, PN-04 and PN-06 (slope complex soil) was closely related to *A. oryzae*. Cluster II consisted of two isolates PN-01 (Bang Khen soil) and PN-08 (Sansai soil) belonged to *A. formosense* and cluster III consisted of one isolate PN-07 (Sansai soil)

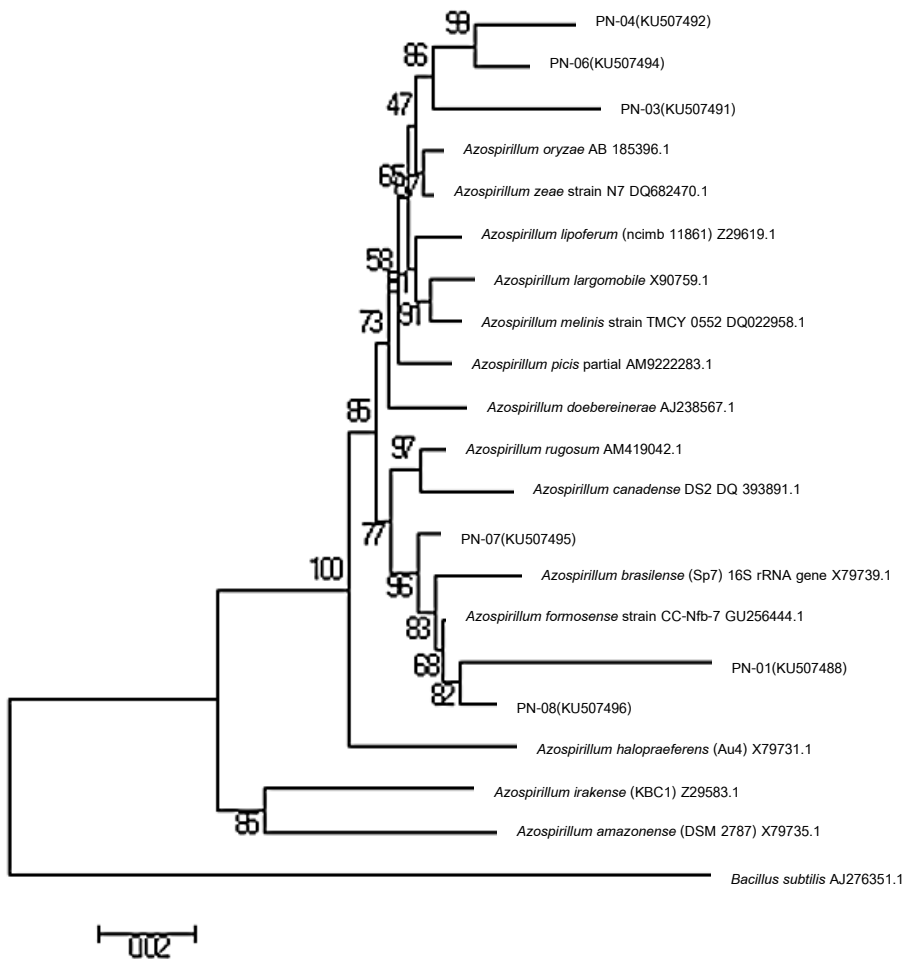


Figure 1. Neighbour-joining tree of 16S rRNA gene sequence similarity, showing the phylogenetic tree of *Azospirillum* from peanut nodules

belonged to *A. brasilense*. According to Attitalla *et al.* (2010), *A. brasilense* was isolated from the roots of legumes in Libya. *A. brasilense* was also isolated from several non-gramineous crop in Japan (Gamo and Ahn, 1991). The finding suggested that *Azospirillum* more than one species could be found in the same place. In this study grouping of bacteria by biochemical testing with API test kit provided the similar results as those by 16S rDNA gene sequencing and supported Virunanon *et al.* (2011).

#### Beneficial properties of *Azospirillum* spp. isolated from peanut root nodules

The abilities of 6 isolates of *Azospirillum* on acetylene reduction activity (ARA) or nitrogenase activity, IAA production, phosphate solubilizing, siderophore production and antagonistic with *Bradyrhizobium* were shown in Table 3. All isolates were able to fix nitrogen. The maximum ARA (76.25 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/ml/h) was from *A. brasilense* (PN-07) and the minimum (3.78 nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/ml/h) was from *A. formosense* (PN-08) These two *Azospirillum* isolates were from San Sai soil series at Chiang Mai province. The IAA production from isolates PN-01, PN-07 and PN-08 were high with the values of IAA values at 100.53, 83.56 and 77.70 µg/ml respectively, while

those from isolates PN-03 and PN-04 had the lowest values of IAA values at 1.71 and 0.41 µg/ml respectively. The isolate PN-06 could not produce IAA. Phosphate solubilization and siderophore production were found in isolates PN-03, PN-04 and PN-06. Only two isolates of *A. formosense* (PN-01, PN-08) were positive antagonistic against *Bradyrhizobium* strain TAL 1000 while *A. oryzae* (PN-03, PN-04, PN-06) and *A. brasilense* (PN-07) could compatible with this strain of *Bradyrhizobium*.

#### Conclusion

In this study, the *Azospirillum* were found in peanut root nodules. Six bacterial isolates were obtained. Based on their morphology, physiology and biochemistry, they were putative *Azospirillum* spp. From 16S rDNA sequencing analysis, three isolates belonged to *A. oryzae*, 2 isolates belonged to *A. formosense* and 1 isolate belonged to *A. brasilense*. *A. brasilense* and *A. oryzae* were similar for their high ARA but *A. brasilense* produced higher IAA production than *A. oryzae*. Only *A. oryzae* could solubilize phosphate and produced siderophore. *A. formosense* isolates were positive antagonistic against *Bradyrhizobium* strain TAL 1000 while the

**Table 3. Determination of characteristics associated with plant growth promotion of *Azospirillum* strains**

| <i>Azospirillum</i><br>No. | <i>Azospirillum</i><br>species | Nitrogenase<br>activity<br>(nmol<br>C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> /ml/hr) | IAA<br>production<br>(µg/ml) | Phosphate<br>solubilization | Siderophores<br>production | Antagonistic<br><i>Bradyrhizobium</i> |
|----------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------------------|
| PN-01                      | <i>A. formosense</i>           | 6.24a                                                                     | 100.53e                      | -                           | -                          | +                                     |
| PN-03                      | <i>A. oryzae</i>               | 59.95b                                                                    | 1.71b                        | +                           | +                          | -                                     |
| PN-04                      | <i>A. oryzae</i>               | 73.77b                                                                    | 0.41ab                       | +                           | +                          | -                                     |
| PN-06                      | <i>A. oryzae</i>               | 59.67b                                                                    | 0.00a                        | +                           | +                          | -                                     |
| PN-07                      | <i>A. brasilense</i>           | 76.25b                                                                    | 83.56d                       | -                           | -                          | -                                     |
| PN-08                      | <i>A. formosense</i>           | 3.78a                                                                     | 77.70c                       | -                           | -                          | +                                     |

+ = have siderophores and antagonistic

Means within the same column followed by different letters are significantly different according to DMRT ( $P < 0.05$ )

rest were compatible with this *Bradyrhizobium* strain TAL1000. *A. brasilense* was selected for further study for co-inoculation with *Bradyrhizobium* strain TAL1000 in peanut in the future.

### Acknowledgement

This research was kindly supported by Soil Microbiology Research Group, Division of Soil Science, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand. We also thank researchers and technical assistance of Soil Microbiology Research Group and Soil Science Laboratory.

### References

- Attanandana, T. and J. Chanchareonsook. 1999. Soil and Plant Analysis. Kasetsart University, Bangkok. 108 p.
- Attitalla, I.H., L.K.T. Al-Ani, M.A. Nasib, I.A.A. Balal, M. Zakaria, S.S.M. El-Maraghy and S.M.R. Karim. 2010. Screening of fungi associated with commercial grains and animal feeds in Al-Bayda governorate, Libya. World Applied Sciences Journal 9(7): 746-756.
- Bashan, Y. 1993. Potential use of *Azospirillum* as biofertilizer. Turrialba 43(4): 286-291.
- Bashan, Y. and H. Levanony. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. Canadian Journal of Microbiology 36(4): 591-608.
- Bashan, Y. and L.E. Gonzalez. 1999. Long-term survival of the plant-growth promoting bacteria *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* in dry algininate inoculant. Applied Microbiology and Biotechnology 51(2): 262-266.
- Bashan, Y., G. Holguin and L.E. de-Bashan. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Canadian Journal of Microbiology 50(8): 521-577.
- Bashan, Y., G. Holguin and R. Lifshitz. 1993. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria. pp. 331-345. In: B.R. Glick and J.E. Thompson (eds.). Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology. CRC Press, Boca Raton, Fla.
- Bashan, Y., L. Alcaraz-Melendez and G. Toledo. 1992. Responses of soybean and cowpea root membranes to inoculation with *Azospirillum brasilense*. Symbiosis 13: 217-228.
- Caceres, E.A.R. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. Applied and Environmental Microbiology 44(4): 990-991.
- Cassán, F.D., Y. Okon and C.M. Creus. 2015. Handbook for *Azospirillum*: Technical Issues and Protocols. Springer International Publishing, Chem. 514 p.
- Castro, S., M. Permigiani, M. Vinocur and A. Fabra. 1999. Nodulation in peanut (*Arachis hypogaea* L.) roots in the presence of native and inoculated rhizobia strains. Applied Soil Ecology 19: 39-44.
- Choonluchanon, S., A. Kanacharoenphong, A. Bhromsiri and A. Shutsrirung. 2002. Production of bio-organic fertilizer for increasing plant. Final Report. The Thailand Research Fund, Bangkok.

- Döbereiner, J., I.E. Marriel and M. Nery. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. Canadian Journal of Microbiology 22(10): 1464-1473.
- Döbereiner, J., V. Baldani and J. Baldani. 1995. How isolate and identify diazotrophic bacteria from non-legumes plants. Embrapa-CNPAB, Seropédica, RJ, Brazil (in Portuguese).
- Eckert, B., O.B. Weber, G. Kirchhof, A. Halbritter, M. Stoffels and A. Hartmann. 2001. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology 51: 17-26.
- Franco-Correa, M., A. Quintana, C. Duque, C. Suarez, M.X. Rodríguez and J.M. Barea. 2010. Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. Applied Soil Ecology 45: 209-217.
- Gamo, T. and S.B. Ahn. 1991. Growth-promoting *Azospirillum* spp. isolated from the roots of several non-gramineous crops in Japan. Soil Science and Plant Nutrition 37(3): 455-461.
- Glickmann, E. and Y. Dessaux. 1995. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and Environmental Microbiology 61(2): 793-796.
- Hartmann, A. and Y. Bashan. 2009. Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth-promoting bacteria (PGPB) - special Issue. European Journal of Soil Biology 45: 1-2.
- 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.
- Inthasan, J., C. Dechjirattanasiri and P. Boonmee. 2016. Effect of soil amendments combined with phosphate solubilizing bacteria on soil chemical properties under moringa canopy. Journal of Agriculture 32: 379-390.
- Iruthayathas, E.E., S. Gunasekaran and K. Vlassak. 1983. Effect of combined inoculation of *Azospirillum* and *Rhizobium* on nodulation and N<sub>2</sub>-fixation of winged bean and soybean. Scientia Horticulturae 20: 231-240.
- Kanimozhi, K. and A. Panneerselvam. 2010. Studies on isolation and nitrogen fixation ability of *Azospirillum* spp. isolated from Thanjavur district. Der Chemica Sinica 1(3): 138-145.
- Khongsorn, A. and C. Boonreung. 2016. Selection of *Azotobacter* and *Azospirillum* from paddy soil of Phra Nakhon Si Ayutthaya fields with potential in nitrogen fixation, auxin production and phosphate solubility. pp. 506-518. In: The 1<sup>st</sup> Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi National Conference: The 1<sup>st</sup> RUSNC. June 22, 2016. Phra Nakhon Si Ayutthaya.
- Koomnok, C., N. Teaumroong, B. Rerkasem and S. Lumyong. 2007. Diazotroph endophytic bacteria in cultivated and wild rice in Thailand. ScienceAsia 33: 429-435.
- Lertcanawanichakul, M. and S. Sawangnop. 2008. A comparison of two methods used for measuring the antagonistic activity of *Bacillus* species. Walailak Journal of Science and Technology 5(2): 161-171.

- Mejuice, J., N. Uthakur and S. Mejuice. 2012. Isolation and characterization of *Azospirillum* associated with rice root. pp. 228-231. *In*: Proceedings of the 2<sup>nd</sup> National Rice Research Conference, Bangkok.
- Meunchang, S. 2004. Utilization of sugar mill by-products, N<sub>2</sub>-fixing bacteria and rhizobacteria in plant production. Ph.D. Thesis. Kasetsart University, Bangkok.
- Meunchang S., S. Panichsakpatana, S. Ando and T. Yokoyama. 2011. Phylogenetic and physiological characterization of indigenous *Azospirillum* isolates in Thailand. *Soil Science and Plant Nutrition* 50(3): 413-421.
- Okon, Y. 1994. *Azospirillum*/Plant Associations. CRC Press, Inc, Boca Raton, Fla. 167 p.
- Okon, Y. and Y. Kapulnik. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant and Soil* 90: 3-16.
- Pereg, L., L.E. de-Bashan and Y. Bashan. 2016. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plant. *Plant and Soil* 399: 356-414.
- Schwyn, B., J.B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry* 160(1): 47-56.
- Steenhoudt, O. and J. Vanderleyden. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews* 24(4): 487-506.
- Sturz, A.V. and J. Nowak. 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecology* 15(2): 183-190.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30(12): 2725-2729.
- Vincent, J.M. 1970. A Manual for the Practical Study of Root-nodule Bacteria. IBP Handbook No. 15. Blackwell Scientific, Oxford. 164 p.
- Virunanon, C., J. Puangkaew and W. Chulalaksananukul. 2011. Denitrifying bacteria and the roles in problem solving of environmental pollution. *Journal of Agriculture* 27: 305-315.
- Weisburg, W.G., S.M. Barns, D.A. Pelletier and D.J. Lane. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology* 173(2): 697-703.
- Zhou, Y., W. Wei, X. Wang and R. Lai. 2009. Proposal of *Sinomonas flava* gen. nov., sp. nov., and description of *Sinomonas atrocyanea* comb. nov. to accommodate *Arthrobacter atrocyaneus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary and Microbiology* 59: 259-263.





# การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ cutinase และ endopolygalacturonase ของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ในช่วงการเข้าทำลายบนผลพริก

## Expression Profiling of Cutinase and Endopolygalacturonic-related Genes in *Colletotrichum capsici* During Chili Fruit Infection

สวิตา สุวรรณรัตน์<sup>1</sup> ปัทวิภา สงกุมาร<sup>1</sup> Siegrid Steinkellner<sup>2</sup> และ สมศิริ แสงโชติ<sup>1\*</sup>  
Sawita Suwannarat<sup>1</sup>, Pattavipha Songkumarn<sup>1</sup>, Siegrid Steinkellner<sup>2</sup> and Somsiri Sangchote<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

<sup>1</sup>Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

<sup>2</sup>Division of Plant Protection, Department of Crop Sciences, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna,

Austria

\*Corresponding author: Email: agrsrs@ku.ac.th

(Received: 26 April 2017; Accepted: 28 July 2017)

**Abstract:** This study determined the expression level of cutinase (*CUT*) and endopolygalacturonase (endo-PG) genes of *Colletotrichum capsici* after inoculating on green and red chili fruit stages of Bang Chang variety by real-time PCR technique. The inoculated green chili fruits were sampled at 0, 24, 48, 72, 96, 120, 192 and 240 hours after inoculation (HAI) and red chili fruits were sampled at 0, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 HAI. It showed that *CUT* was the greatest up-regulated at 72 hours after inoculation (HAI) on red fruit stage and at 240 HAI on green fruit stage. The maximum expression of endo-PG was observed at 144 and 192 HAI on red and green fruits, respectively. Disease symptom started to produce at 144 HAI on red chili fruit and 240 HAI on green fruit.

**Keywords:** *Colletotrichum capsici*, anthracnose, gene expression, cutinase, endopolygalacturonase, qPCR

**บทคัดย่อ:** การศึกษาการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน cutinase (*CUT*) และ endopolygalacturonase (endo-PG) ของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในผลพริก บนผลพริกพันธุ์บางช้างในระยะสีเขียวและสีแดง ด้วยเทคนิค real-time PCR โดยเก็บผลพริกระยะสีเขียวที่ 0, 24, 48, 72, 96, 120, 192 และ 240 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อ และเก็บผลพริกระยะสีแดงที่ 0, 24, 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อ พบว่า การแสดงออกของยีน *CUT* บนผลพริกระยะสีแดงสูงสุดที่ 72 และ บนผลพริกระยะสีเขียวที่ 240 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อ และการแสดงออกของยีน endo-PG สูงสุดในระยะผลสีแดงที่ 144 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อและบนผลพริกระยะสีเขียวที่ 192 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อ โดยผลพริกเริ่มแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสที่ 144 และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อบนผลพริกระยะสีแดงและสีเขียวตามลำดับ

**คำสำคัญ:** *Colletotrichum capsici* โรคแอนแทรคโนส การแสดงออกของยีน เอนไซม์คิวทิเนส เอนไซม์เอนโดโพลิกลาคทูโรเนส qPCR

## คำนำ

พริกเป็นพืชผักที่มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจและสังคม เป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการอุตสาหกรรมอาหารยา สามารถปลูกทั่วไปในทุกภาคของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2556 มีพื้นที่ในการเพาะปลูกพริก 348,453 ไร่ ซึ่งมีพื้นที่การปลูกมากที่สุดเมื่อเทียบกับพืชผักชนิดอื่น ๆ (กรมวิชาการเกษตร, 2560) สำหรับปัญหาที่พบในการผลิตพริกเกิดจากโรคและแมลง ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตและส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตที่ไม่สม่ำเสมอ โดยโรคที่มีการระบาดและเกิดปัญหากับการผลิตพริกได้แก่ โรคแอนแทรคโนส ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทยพบเชื้อราสาเหตุนี้ 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum siamense* และ *Colletotrichum capsici* ที่สามารถเข้าทำลายได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวพบทั้งบนพริกผลแดงและผลสีเขียว ลักษณะอาการที่ปรากฏบนผลพริกจะแสดงอาการเป็นจุดแผลสีน้ำตาลดำ เนื้อเยื่อยุบตัวแห้งและอาจพบส่วนโครงสร้างของเชื้อรา (fruiting body) ลักษณะเป็นจุดเรียงซ้อนกันเป็นวง และส่วน conidial mass สีส้ม ปรากฏอยู่บนแผล นอกจากนี้เชื้อยังเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) ในผลพริกโดยไม่มีการแสดงอาการของเชื้อรา (บุญญวดี, 2540) อาการของโรคจะปรากฏเมื่อผลถึงระยะสุก สำหรับปัจจัยการเข้าทำลายแบบแฝงของโรคหลังการเก็บเกี่ยวมีความเกี่ยวข้องกับ 1) การยับยั้งการพัฒนาของ

เชื้อเนื่องจากปัจจัยทางด้านสรีรวิทยาของพืช 2) สารประกอบในพืชที่มีคุณสมบัติต่อต้านเชื้อรา และ 3) การชักนำสารประกอบต่อต้านที่เป็นพิษต่อเชื้อรา (Prusky, 1996) โดยระหว่างที่เชื้อราอยู่ภายในเนื้อพืช เชื้อจะสามารถใช้อาหารจากเซลล์พืช 2 รูปแบบคือ แบบ biotrophy คือเชื้อใช้สารอาหารจากเซลล์ที่มีชีวิต และแบบ necrotrophy ที่ใช้สารอาหารจากเซลล์ที่ไม่มีชีวิตหรือเซลล์ที่ตายแล้ว ซึ่งเชื้อรา *Colletotrichum* spp. มีรูปแบบการใช้สารอาหารจากสิ่งมีชีวิตทั้งสองรูปแบบที่เรียกว่า hemibiotrophy (Perfect et al., 1999; Münch et al., 2008)

ในการศึกษาการเข้าทำลายของเชื้อราพบว่าเชื้อรามีการแสดงออกของยีนต่าง ๆ ในแต่ละช่วงของการเข้าทำลายพืชอาศัย เช่น ยีน *CUTA* ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ cutinase ของเชื้อรา *Botrytis cinerea* (van Kan et al., 1997) ยีน *CLPG2* ควบคุมการสร้างเอนไซม์ endopolygalacturonase ในเชื้อรา *Colletotrichum lindemuthianum* (Dumas et al., 1999) ยีน *PG1* และ *PL1* (Di Pietro and Roncero, 1998; Huertas-Maceira et al., 1999) ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ endopolygalacturonase และ pectate lyase ตามลำดับ

จากความสามารถในการเข้าทำลายแบบแฝงของเชื้อรา *Colletotrichum* โดยเฉพาะ *C. capsici* สามารถสร้างความเสียหายในระยะผลพริกสุกได้มาก (Nayaka et al., 2009) ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้านี้ มี

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *CUT* และ *endo-PG* ของเชื้อรา *C. capsici* ที่แสดงในระยะเวลาต่าง ๆ ด้วยวิธี real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) หรือที่เรียกว่า quantitative PCR (qPCR) เพื่อเป็นพื้นฐานในการศึกษากลไกการเข้าทำลายของเชื้อรานี้ ตลอดจนการปรับปรุงพันธุ์พริกที่ต้านทานต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

แยกเชื้อราจากผลพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสด้วยวิธี tissue transplanting โดยตัดชิ้นพืชจากบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อแสดงอาการโรคขนาดประมาณ 0.5×0.5 เซนติเมตร ใส่เชื้อที่ผิวภายนอกด้วย 1% sodium hypochlorite เวลา 5 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ และนำเนื้อเยื่อเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน เมื่อเชื้อราเริ่มปรากฏ conidial mass จึงแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolation โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA (Difco, France) ภายใต้แสง near ultra violet เวลา 12 ชั่วโมงสลับบีด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นตรวจสอบลักษณะโคไคโนของเชื้อรา ลักษณะของโคไคโนเดี่ยวของเชื้อราสาเหตุเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุ และทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในผลพริก โดยเตรียม spore suspension ความเข้มข้น  $2 \times 10^6$  สปอร์/มิลลิลิตร เพื่อพ่นลงบนผลพริกพันธุ์บางช้างระยะผลสีแดงบนต้นพริกด้วย airbrush sprayer และคลุมผลพริกที่ปลูกเชื้อด้วยถุงพลาสติกขึ้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำถุงพลาสติกออก และสังเกตการเกิดโรค เชื้อราที่บริสุทธิ์และเมล็ดจากผลพริกที่แสดงอาการของโรคจะถูกเก็บรักษาเพื่อใช้เป็น stock culture ในการทดลองลำดับต่อไป

### 2. การเตรียมตัวอย่างและการเก็บตัวอย่างสำหรับตรวจสอบ

#### 2.1 การเตรียมเชื้อรา

เตรียม spore suspension ให้มีความเข้มข้น  $2 \times 10^6$  สปอร์/มิลลิลิตร จากเชื้อรา *C. capsici* ไอโซเลท CC9.4 ที่ถูกเก็บรักษานบนเมล็ดพริกที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เชื้อไอโซเลทดังกล่าวแยกจากผลพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสซึ่งปลูก ณ โรงเรือนปลูกพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน โดยนำเมล็ดมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 1% sodium hypochlorite เวลา 5 นาที หลังจากนั้นทำเช่นเดียวกับวิธีการแยกเชื้อราจากพืช เลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 7 วัน

#### 2.2 การปลูกเชื้อทดสอบ

เตรียมผลพริกพันธุ์บางช้าง ระยะผลสีแดง (30-35 วันหลังติดผล) และระยะผลสีแดง (50-55 วันหลังติดผล) (ภาพที่ 1) จากนั้นปลูกเชื้อราในข้อ 2.1 ลงบนผลโดยวิธีหยด spore suspension (drop-inoculation) ความเข้มข้น  $2 \times 10^6$  สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวผล ปิดทับด้วยกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่อบฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อป้องกันไม่ให้ spore suspension ไหลจากผิวผล จากนั้นคลุมผลพริกแต่ละผลด้วยถุงพลาสติกขึ้น บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำถุงพลาสติกออก นำต้นพริกไปไว้ในตู้ growth chamber (Tomy, Japan) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมงสลับบีด 12 ชั่วโมง

#### 2.3 การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างพริกแบ่งออกเป็น 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงก่อนแสดงอาการของโรค และช่วงที่ผลพริกเริ่มแสดงอาการของโรค สำหรับผลพริกระยะสีแดงเก็บผลที่ 0, 24, 48, 72, 96, 120 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อ และที่เวลา 144 ชั่วโมง (6 วัน) หลังปลูกเชื้อเมื่อผลพริกเริ่มแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส สำหรับพริกระยะสีเขียวเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 24, 48, 72, 96, 120, 194 และ 240 ชั่วโมง (10 วัน) หลังจากปลูกเชื้อ เมื่อผลพริกเริ่มแสดงอาการของโรค ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดตัวอย่างพืชที่ตำแหน่งปลูกเชื้อ นำตัวอย่างพืช (tissue disc) บรรจุลงในหลอด micro tube จากนั้น

จุ่มลงในไนโตรเจนเหลว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปสกัด RNA

### 3. การสกัด RNA และการสังเคราะห์ cDNA

นำตัวอย่างพืชน้ำหนัก 0.1 กรัม บรรจุภายในหลอด micro tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่องบดชิ้นส่วนพืช (Retsch, Germany) โดยนำลูกเหล็กจำนวน 2 ลูกใส่ลงในหลอด micro tube บดตัวอย่างจนละเอียด จากนั้นสกัด RNA จากตัวอย่างด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป RNeasy Plant mini kit (QIAGEN Sciences, Hilden, Germany) ตามขั้นตอนในเอกสารคู่มือจากบริษัท ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของ total RNA ที่ได้ด้วยเครื่อง Nano Drop-1000 spectrophotometer (Thermoscientific, USA) นำ RNA ที่สกัดจากตัวอย่างเปลี่ยนจาก mRNA เป็น cDNA ด้วยชุดสำเร็จรูป RevertAid First Strand cDNA synthesis kit M-MuLV (Thermo Scientific, USA)

### 4. การออกแบบไพรเมอร์

การออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อ cutinase gene (*CUT*) endopolygalacturonase gene (endo-PG) และ actin gene (*ACT*) ได้รวบรวมลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ต้องการตรวจสอบจากเชื้อรา *Colletotrichum* สปีชีส์ต่าง ๆ ซึ่งปรากฏในฐานข้อมูล GENBANK (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ดังนั้น cutinase gene ได้แก่ accession HQ406775.1 และ M180331, polygalacturonase gene ได้แก่ accession EF094978.1 และ EXF76753\_1, actin gene ได้แก่

accession LC170499, LC170500, LC170501, LC170505, LC170511, LC170518 และ LC170537 จากนั้นวิเคราะห์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้โดยใช้โปรแกรม CLUSTAL W (Thomson *et al.*, 1994) ออกแบบไพรเมอร์ โดยใช้โปรแกรม Primer3 Input program (Untergasser *et al.*, 2007) โดยไพรเมอร์ที่ออกแบบ (ตารางที่ 1) จะให้ผลผลิตบางส่วนที่ยีน *CUT*, *PG* และ *ACT* ที่มีขนาด 200, 160 และ 96 คู่เบส ตามลำดับ ตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product) โดยส่งไปวิเคราะห์ที่บริษัท MacroGen (Korea) และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่รายงานในฐานข้อมูล GENBANK (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

### 5. การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

วิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีนด้วยวิธี qPCR โดยทำงานด้วยเครื่อง Eco PCR max 48 machine (PCR Max, UK) ในหลอดปฏิกิริยามีปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วย HOT FIREPol EvaGreen qPCR Mix Plus no ROX (Solis BioDyne, Slovenia) 2 ไมโครลิตร primer (10 มิลลิโมลาร์) 0.15 ไมโครลิตร cDNA 2 ไมโครลิตร และ PCR-water 5.7 ไมโครลิตร กำหนดโปรแกรมในปฏิกิริยา PCR ในการตรวจสอบการแสดงออกของแต่ละยีนดังนี้ มีอุณหภูมิในขั้นตอน pre-denaturation คือ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วย 40 รอบของขั้นตอน denaturation 95 องศาเซลเซียส 15 วินาที ขั้นตอน annealing อุณหภูมิ (ตารางที่ 1) 20 วินาที และขั้นตอน extension อุณหภูมิ



Figure 1. *Capsicum annuum* Bang Chang variety (A), chili green fruit stage (B), chili red fruit stage (C)

Table 1. PCR primers and annealing temperature used in the study

| Gene                                        | Primer name | Sequences                   | Annealing temp (°C) |
|---------------------------------------------|-------------|-----------------------------|---------------------|
| Cutinase ( <i>CUT</i> )                     | CUT200F     | 5'-GACCTGGCCTCCAACTTC-3'    | 62                  |
|                                             | CUT200R     | 5'-ACGACGCCCTTGATCTGGTT-3'  |                     |
| Endopolygalacturonase<br>( <i>endo-PG</i> ) | PG1F        | 5'-ACCTTCGGCTACAAGGAGTGG-3' | 63                  |
|                                             | PG1R        | 5'-CGTAGAAGAACTTGGGCTTGG-3' |                     |
| Actin ( <i>ACT</i> )                        | ACTFA       | 5'-TCTACCACCCACACACAGAC-3'  | 62                  |
|                                             | ACTFA1      | 5'-GCGAGATGGTTAGCATTGA-3'   |                     |

72 องศาเซลเซียส 20 วินาที และ final-extension อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 5 นาที ซึ่งในการวิเคราะห์ใช้ ยีน ACT เป็นยีนอ้างอิง (reference gene) และวิเคราะห์ ผลการแสดงออกของยีนจากค่า CT value ด้วยวิธีการ คำนวณแบบ  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak and Schmittgen, 2001) เพื่อให้ได้ค่า Relative quantification และการวิเคราะห์ melting curve เพื่อยืนยันว่า PCR product ที่ได้จาก ปฏิกริยา real-time PCR เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ซึ่ง ผลิตภัณฑ์ที่ถูกต้องมักจะแสดง peak เดียวที่อุณหภูมิสูง

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. การแยกเชื้อราแอนแทรคโนสพริก

จากการแยกเชื้อราจากผลพริกที่แสดงอาการโรค แอนแทรคโนส (ภาพที่ 2A) ด้วยวิธี tissue transplanting พบว่าเชื้อราสามารถเจริญบนอาหาร PDA โคโลนีมีสีเทา ปนน้ำตาล พบการสร้าง conidial mass สีส้ม (ภาพที่ 2B) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบลักษณะของโคนี เดียมรูปร่างแบบเสี้ยวพระจันทร์ (falcate shape) ไม่มีผนังกันภายใน ไม่มีสี (ภาพที่ 2C) ซึ่งเชื้อราที่แยกได้มี ลักษณะตรงกับเชื้อรา *C. capsici* (Sutton, 1992) และ เมื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนผลพริก พันธุ์บางช้าง โดยการพ่น spore suspension ลงบนผิวผล พริกระยะผลสีแดงที่ยูบต้น (intact fruits) พบว่าผลพริก แสดงอาการของโรคหลังจากปลูกเชื้อ 6 วัน แผลมี ลักษณะยุบตัว สีเข้ม และสังเกตเห็นกลุ่มของ fruiting body เป็นวงซ้อนสีดำเมื่อแผลมีอายุมากขึ้น (ภาพที่ 2D)

### 2. การเตรียมตัวอย่างและการเก็บตัวอย่างสำหรับ ตรวจสอบ

จากการปลูกเชื้อรา *C. capsici* ลงบนผลพริก สีเขียวและสีแดง และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อในแต่ละ ช่วงเวลาหลังการปลูกเชื้อรา ในผลพริกระยะสีแดง หลังจากปลูกเชื้อที่เวลา 0, 24, 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมง และพบว่าผลพริกระยะสีแดงเริ่มแสดง อาการของโรคแอนแทรคโนสที่ 144 ชั่วโมงหลังจากปลูก เชื้อ (ภาพที่ 3A) สำหรับผลพริกระยะสีเขียวได้เก็บ ตัวอย่างหลังจากปลูกเชื้อที่เวลา 0, 24, 48, 72, 96, 120, 192 และ 240 ชั่วโมง โดยพบว่าผลพริกเริ่มแสดง อาการของโรคที่ 240 ชั่วโมง (10 วัน) ภายหลังจากปลูก เชื้อ ซึ่งระยะของผลพริกที่เริ่มแสดงอาการของโรคนั้นผล เข้าสู่ระยะการเปลี่ยนสีผล (turning stage) (ภาพที่ 3B)

### 3. ผลการออกแบบไพรเมอร์

จากการออกแบบคู่ไพรเมอร์ ได้แก่ CUT200F/CUT200R PG1F/PG1R และ ACTFA/ACTFA1 เพื่อใช้เพิ่มปริมาณตำแหน่งยีน *CUT*, *endo-PG* และ *ACT* ตามลำดับ พบว่าไพรเมอร์ที่ ออกแบบนั้นสามารถเพิ่มปริมาณ DNAเป้าหมายได้ โดยมี ขนาด PCR product เท่ากับ 200, 160 และ 96 คู่เบส ตามลำดับ และเมื่อนำ PCR product ของแต่ละคู่ไพร เมอร์ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และเทียบใน ฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม Blastn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) พบว่าลำดับ นิวคลีโอไทด์ที่ได้จากคู่ไพรเมอร์ CUT200F/CUT200R

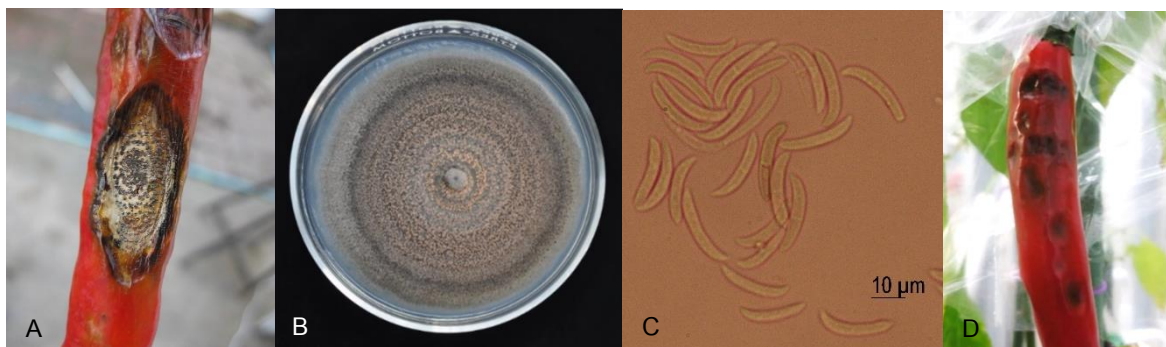


Figure 2. Anthracnose disease on chili fruit (A), *Colletotrichum capsici* colony on PDA at 7 days (B), conidial shape of *C. capsici* (C), pathogenicity test of *C. capsici* on red fruits (D)



Figure 3. Disease symptoms on red chili fruit 144 hours after inoculation (A), 240 hours after inoculation on green chili fruit and disease expressed the symptom at turning color stage (B)

มีความเหมือนกับบางส่วนของยีน cutinase ของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* (accession HQ406775.1) เท่ากับ 99% และ ยีน cutinase ของเชื้อรา *C. capsici* (accession M180331) เท่ากับ 98% สำหรับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากคู่ไพรเมอร์ PG1F/PG1R มีความเหมือนกับบางส่วนของยีน endopolygalacturonase ของเชื้อรา *Colletotrichum fiorinae* (accession XM\_007599435.1) *C. gloeosporioides* Nara gc5 (accession XM\_007286512) ที่แยกจากสตรอร์เบอวรี และ *Glommorella magna* (accession AF114157.1) เท่ากับ 87%, 86% และ 79% ตามลำดับ และ ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากคู่ไพรเมอร์ ACTFA/ACTFA1 มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน actin ของเชื้อรา *C. truncatum* (accession KX702275.1) และ

*C. capsici* (accession JX870645) เท่ากับ 100 และ 99% ตามลำดับ

#### 4. การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

จากการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน *CUT* และ *PG* ของเชื้อราภายหลังการปลูกเชื้อลงบนผลพริก ระยะสีเขียวและสีแดงในระยะเวลาต่าง ๆ ด้วยวิธีการ quantitative PCR พบการแสดงออกของยีนทั้งสองชนิด ภายหลังจากการปลูกเชื้อบนพริก โดยระดับการแสดงออกของยีน *CUT* ของเชื้อราบนผลพริกสีเขียวที่ 24-120 ชั่วโมง มีการแสดงออกของยีนในระดับต่ำ การแสดงออกเริ่มสูงขึ้นที่ 192 ชั่วโมง และสูงสุดที่เวลา 240 ชั่วโมง ซึ่งในระยะเวลาที่มีการแสดงออกของยีนสูงสุดนี้ จะเริ่มปรากฏอาการของโรคบนผิวผล สำหรับการแสดงออกของ



ยีน *CUT* ของเชื้อราบนพริกระยะสีแดงพบว่ายีนมีการแสดงออกตลอดเวลาภายหลังจากการปลูกเชื้อ โดยที่ 72 ชั่วโมงมีการแสดงออกของยีนสูงกว่าในช่วงเวลาอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในเชื้อรา *Zymoseptoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) บนข้าวสาลีที่พบว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอนไซม์ cutinase สามารถแสดงออกได้ในช่วงที่พืชยังไม่แสดงอาการของโรค (Rudd *et al.*, 2015) โดยการศึกษาการแสดงออกของยีน *CUTA* และ *CUTB* ของเชื้อรา *Botrytis cinerea* พบตั้งแต่สปอร์ของเชื้อรางอกบนผิวของผลแอปเปิ้ลและจะถูกยับยั้งการทำงานเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสและ cutin monomer สูงขึ้น (Leroch *et al.*, 2013)

ระดับการแสดงออกของยีน *PG* พบว่าที่ 24-120 ชั่วโมงเชื้อมีการแสดงออกของยีนในระดับต่ำ การแสดงออกของยีนสูงสุดที่ 192 ชั่วโมงหลังจากการปลูกเชื้อ และลดลงเมื่อเริ่มปรากฏอาการของโรคบนผิวผลที่ปลูก

เชื้อในระยะผลสีเขียว ในการแสดงออกของยีน *PG* บนระยะสีแดงพบว่า ที่ 72 และ 120 ชั่วโมง ยีนมีการแสดงออกที่สูงขึ้นและมีระดับสูงสุดที่ 144 ชั่วโมงหลังเชื้อถูกปลูกบนผลจากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เอนไซม์ polygalacturonase ของเชื้อรา *Fusarium graminearum* พบว่า ยีน *FgPg1* ที่ 24 ชั่วโมง และ *FgPg2* 12 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ *F. graminearum* มีระดับการแสดงออกของยีนสูงสุด (Tomassini *et al.*, 2009) และจากการศึกษาของ Herbert *et al.* (2004) พบว่าในเชื้อรา *Colletotrichum lindemuthianum* มีการแสดงออกของยีน *CLPG2* ที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ endopolygalacturonase ในช่วงแรกของขั้นตอน penetration เพื่อผ่านชั้นเซลล์ epidermis ของพืชอาศัย ซึ่งแตกต่างกับการแสดงออกของยีน *CLPG1* ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ endopolygalacturonase ซึ่งแสดงออกในช่วงที่พืชเริ่มแสดงอาการของโรคหรือระยะ necrotrophic stage

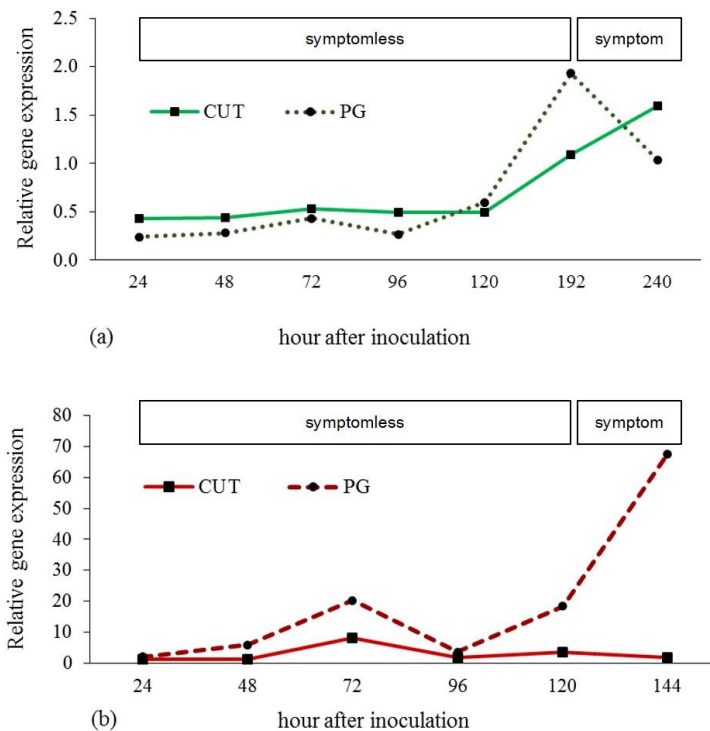


Figure 4. *CUT* and *PG* gene expression profiles of *Colletotrichum capsici* on green fruit (a) and red fruit (b). After inoculation chili plants were incubated at 25°C. The gene expression was determined using real-time PCR technique. There were three replications on each treatment and the data from a representative replication is shown

ในกระบวนการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บน cowpea (*Vigna unguiculata*) พบว่า ภายหลังจากสปอร์ของเชื้อราออกและสร้าง appressoria บนผิวพืช เชื้อราจะแทงผ่านชั้น cuticle ที่ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ โดยพบการสลายของ cuticle และเอนไซม์ที่ใช้ในการสลาย (Pring *et al.*, 1995) หลังจากนั้นเส้นใยของเชื้อราจะขยายไปตามชั้นผนังเซลล์พืชซึ่งในช่วงนี้พืชยังไม่แสดงอาการของโรค และในช่วงท้ายของการเข้าทำลาย เส้นใยของเชื้อราจะแทงผ่านเข้าไปยังส่วน epidermal cell และ mesophyll cell ส่งผลให้เกิดเซลล์ตายและเชื้อแสดงอาการของโรคบนพืชนั้น (Perfect *et al.*, 1999) โดยจากการศึกษาของ Ettinger *et al.* (1987) ตรวจพบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ cutinase gene จาก mRNA ที่สกัดได้จากเส้นใยของเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารผสม cutin hydrolysate

## สรุป

จากการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *CUT* และ *endo-PG* ที่ระยะเวลาต่าง ๆ โดยการปลูกเชื้อบนผลพริกสองระยะ สังเกตอาการของโรคที่แสดงออก และตรวจสอบการแสดงออกของยีนทั้งสองชนิดด้วยวิธีการ real-time PCR พบว่าที่ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ ผลพริกระยะสีเขียวแสดงอาการของโรค และที่ 144 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ ผลพริกระยะสีแดงแสดงอาการของโรค โดยพบว่าการแสดงออกของยีน *CUT* และ *endo-PG* ในทุกช่วงเวลา แต่ระดับและรูปแบบการแสดงออกของยีนทั้งสองชนิดระหว่างผลพริกสีเขียวและสีแดงมีความแตกต่างกัน โดยพบว่าการแสดงออกของยีน *CUT* บนผลพริกเขียวแสดงออกได้สูงขึ้นสอดคล้องกับช่วงเวลาหลังการปลูกเชื้อ ขณะที่การแสดงออกของยีน *CUT* บนพริกระยะสีแดงสูงสุดในช่วงก่อนแสดงอาการของโรคบนผลที่ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ สำหรับการแสดงออกของยีน *endo-PG* บนผลพริกสีเขียวถูกกระตุ้นสูงสุดที่ 192 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อโดยอยู่ในระยะก่อนแสดงอาการของโรค และการแสดงออกของยีน *endo-PG* บนผลพริกสีแดงสูงสุดเมื่อผลพริกเริ่มแสดงอาการของโรคหรือ 144 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ ทั้งนี้จากผลการศึกษาการแสดงออกของยีน

ทั้งสองชนิดเป็นข้อมูลขั้นต้นในการศึกษาถึงยีนที่เกี่ยวข้องต่อการแสดงอาการของโรคบนผลพริกแต่ละระยะ แต่ยังไม่อาจสามารถสรุปว่ายีนชนิดใดเป็นปัจจัยหลักที่สำคัญในการทำให้เกิดโรคในผลพริกได้

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) รหัสโครงการ (PHD/0158/2551)

## เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2560. ยุทธศาสตร์การพัฒนางานวิจัยพริก พ.ศ. 2556-2562. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [www.doa.go.th/hortold/images/stories/strategyplanhort/strategychili.doc](http://www.doa.go.th/hortold/images/stories/strategyplanhort/strategychili.doc) (25 พฤษภาคม 2560).
- บุญญาวดี จิระวุฒิ. 2540. การทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 66 หน้า.
- Di Pietro, A. and M.I. Roncero. 1998. Cloning, expression, and role in pathogenicity of pg1 encoding the major extracellular endopolygalacturonase of the vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Microbe Interactions* 11(2): 91-98.
- Dumas, B., S. Centis, N. Sarrazin and M.T. Esquerré-Tugayé. 1999. Use of green fluorescent protein to detect expression of an endopolygalacturonase gene of *Colletotrichum lindemuthianum* during bean infection. *Applied and Environmental Microbiology* 65(4): 1769-1771.
- Ettinger, W.F., S.K. Thukral and P.E. Kolattukudy. 1987. Structure of cutinase gene, cDNA



- and the derived amino acid sequence from phytopathogenic fungi. *Biochemistry* 26(24): 7883-7892.
- Herbert, C., R. O'Connell, E. Gaulin, V. Saleuses, M.T. Esquerré-Tugayé and B. Dumas. 2004. Production of a cell wall-associated endopolygalacturonase by *Colletotrichum lindemuthianum* and pectin degradation during bean infection. *Fungal Genetics and Biology* 41(2): 140-147.
- Huertas-Gonzalez, M.D., M.C. Ruiz-Roldan, F.I. Garcia-Maceira, M.I. Roncero and A. Di Pietro. 1999. Cloning and characterization of p11 encoding and in planta-secreted pectate lyase of *Fusarium oxysporum*. *Current Genetics* 35(1): 36-40.
- Leroch, M., A. Kleber, E. Silva, T. Coenen, D. Koppenhöfer, A. Shmayahu, P.D.T. Valenzuela and M. Hahn. 2013. Transcriptome profiling of *Botrytis cinerea* conidial germination reveals upregulation of infection-related genes during the prepenetration stage. *Eukaryotic Cell* 12(4): 614-626.
- Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method. *Methods* 25: 402-408.
- Münch, S., U. Lingner, D.S. Floss, N. Ludwig, N. Sauer and H.B. Deising. 2008. The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. *Journal of Plant Physiology* 168(1): 41-51.
- Nayaka, C.S., A.C.U. Shankar, S.R. Niranjana, H.S. Prakash and C.N. Mortensen. 2009. Anthracnose disease of chili pepper, Technical Bulletin. Asian Seed Health Centre, Karnataka, India.
- Perfect, S.E., H.B. Hughes and R.J. O'Connell. 1999. *Colletotrichum*: A model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. *Fungal Genetics and Biology* 27(2-3): 186-198.
- Pring, R.J., C. Nash, M. Zakaria and J.A. Bailey. 1999. Infection process and host range of *Colletotrichum capsici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46: 137-152.
- Prusky, D. 1996. Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Annual Review of Phytopathology* 34: 413-434.
- Rudd, J.J., K. Kanyuka, K. Hassani-Pak, M. Derbyshire, A. Andongabo, J. Devonshire, A. Lysenko, M. Sagi, N.M. Desai, S.J. Powers, J. Hooper, L. Ambroso, A. Bharti, A. Farmer, K.E. Hammond-Kosack, R.A. Dietrich and M. Courbot. 2015. Transcriptome and metabolite profiling the infection cycle of *Zymoseptoria tritici* on wheat (*Triticum aestivum*) reveals a biphasic interaction with plant immunity involving differential pathogen chromosomal contributions, and a variation on the hemi-biotrophic lifestyle definition. *Plant Physiology* 167: 1158-1185.
- Sutton, B. C. 1992. The genus *Glomorella* and its anamorph *Colletotrichum*. pp. 1-26. In: J.A. Bailey and M.J. Jeger (eds.). *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. CAB International, Wallingford.
- Thompson, J.D., D.G. Higgins and T.J. Gibson. 1994. CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.

- Tomassini, A., L. Sella, A. Raiola, R. D'Ovidio and F. Favaron. 2009. Characterization and expression of *Fusarium graminearum* endopolygalacturonases *in vitro* and during wheat infection. *Plant Pathology* 58(3): 556-564.
- Untergasser, A., H. Nijveen, X. Rao, T. Bisseling, R. Geurts and J.A. Leunissen. 2007. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Research* 35: 71-74.
- van Kan, J.A., J.W. van't Klooster, C.A. Wagemakers, D.C. Dees and C.J. van der Vlugt-Bergmans. 1997. Cutinase A of *Botrytis cinerea* is expressed, but not essential, during penetration of gerbera and tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 10(1): 30-38.
-

# ประสิทธิภาพเศษใบและก้านใบยาสูบในการควบคุมแมลงศัตรูผักบางชนิด

## Efficacy of Fine Tobacco Leaf Scrap and Stem for Controlling Some Insect Pests of Vegetables

ศุภกร วงศ์สุข เยาวลักษณ์ จันทรบาง\* และ จิราพร กุลสาริน  
Supakorn Wongsuk, Yaowaluk Chanbang\* and Jiraporn Kulsarin

<sup>1</sup>สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup>Division of Plant Pathology, Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

\*Corresponding author: Email: lukksu@hotmail.com

(Received: 26 April 2017; Accepted: 19 July 2017)

**Abstract:** Tobacco fine leaf scrap and tobacco stem from Burley and Virginia were used to extract as the insecticide to control cabbage aphid (*Lipaphis erysimi*), cotton aphid (*Aphis gossypii*) and diamondback moth (*Plutella xylostella*). The extraction method of those tobacco was based on water at 24, 48 and 72 hours. The tobacco extracts derived from tobacco fine leaf scrap and tobacco stem of Burley and Virginia were effective to control cabbage aphid at 100% mortality, excepted Virginia tobacco stem extracted for 24 hours (95.83%). Burley fine leaf scrap extracted for 24, 48 and 72 hours was able to control the second instar larvae of diamondback moth for 90.00, 72.50 and 55.00% respectively, in laboratory condition. There were no significant difference among the extract from Burley stem at different time which caused mortality at 25.00, 25.00 and 40.00%. For the screen house experiment, the fine leaf scrap extracted from Burley and Virginia at 10% w/v was able to completely control cabbage aphid and cotton aphid for 1 day after spraying and there were no insect present on cabbage or chili for 72 hours. Nicotine which is the key component as insecticidal effect was analyzed for all treatments and the range of nicotine was as followed; fine leaf scrap of Burley (1.32%) tobacco stem of Burley (0.56%), fine leaf scrap of Virginia (0.55%) and tobacco stem of Virginia (0.20%).

**Keywords:** Fine tobacco leaf scrap, tobacco stem, Burley tobacco, Virginia tobacco, insect pests of vegetables

**บทคัดย่อ:** เศษใบและก้านใบยาสูบเบอร์เลย์และเวอร์จินเนียได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพในควบคุมแมลงศัตรูพืชผัก ได้แก่ เพลี้ยอ่อนผักกาด (*Lipaphis erysimi*) เพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii*) และหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) สารสกัดเศษใบและก้านใบยาสูบจากทั้ง 2 พันธุ์ ที่สกัดด้วยน้ำ เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก บน เพลี้ยอ่อนผักกาด พบว่า ทั้งสารสกัดจากเศษใบและก้านใบยาสูบเบอร์เลย์และเวอร์จินเนีย ให้ผลในการตาย 100% ในเวลา 24 ชั่วโมง ยกเว้นสารสกัดก้านใบเวอร์จินเนียแช่นาน 24 ชั่วโมง ให้ผลการตาย 95.83% เมื่อทดสอบกับหนอนใยผักวัย 2 สารสกัดเศษใบเบอร์เลย์แช่ในเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลอัตราการตาย 90.00, 72.50 และ 55.00% ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในสารสกัดก้านใบยาสูบเบอร์เลย์ด้วยระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลอัตราการตายไม่แตกต่างทางสถิติ 25.00, 25.00 และ 40.00% ตามลำดับ ผลทดสอบในโรงเรือนโดยการพ่นโดยตรงลงบน พืชที่มีแมลง สารสกัดเศษใบยาสูบเบอร์เลย์และเวอร์จินเนียสามารถกำจัดเพลี้ยอ่อนผักกาด และเพลี้ยอ่อนฝ้าย ได้อย่าง สมบูรณ์ ในเวลา 1 วัน และพบว่าแมลงไม่กลับเข้าทำลายพืชในเวลา 3 วัน จากการวิเคราะห์ปริมาณสารนิโคตินในการสกัด ยาสูบจากเศษใบและก้านใบยาสูบ 100 กรัม มีปริมาณนิโคตินที่พบตามลำดับดังนี้ เศษใบเบอร์เลย์ (1.32%) ก้านใบเบอร์เลย์ (0.56%) เศษใบเวอร์จินเนีย (0.55%) และก้านใบเวอร์จินเนีย (0.20%)

**คำสำคัญ:** เศษใบยาสูบ ก้านใบยาสูบ ยาสูบเบอร์เลย์ ยาสูบเวอร์จินเนีย แมลงศัตรูผัก

## คำนำ

ยาสูบเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญในประเทศไทยมายาวนาน และยังมีราคาผลผลิตที่สูงสร้างรายได้ให้เกษตรกรหลายร้อยล้านบาท ยาสูบที่นิยมปลูก คือ เบอร์เลย์ (Burley tobacco) และยาสูบเวอร์จินเนีย (Virginia tobacco) สำหรับประเทศไทยนั้นมีการปลูกยาสูบในแถบภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ธรรมบุญ, 2526) รวมพื้นที่ประมาณ 53,620 ไร่ และ 69,656 ไร่ ตามลำดับ และมีปริมาณการรับซื้อผลผลิต 16,282.29 ตัน (ศิริวรรณ และคณะ, 2555) ในยาสูบมีนิโคติน เป็นสารประเภทอัลคาลอยด์หลักพบ 98 เปอร์เซ็นต์จากสารทั้งหมด (Lu and Ralapati, 1998) ขั้นตอนการผลิตใบยาสูบก่อนนำมาเป็นวัตถุดิบของการผลิตบุหรี่นั้น มีเศษเหลือทิ้งจากการใช้งานมากมาย ได้แก่ ก้านใบยาสูบ (tobacco stem) หรือเศษใบยาสูบ (fine leaf scrap) ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้ทำให้เกิดต้นทุนในการกำจัดทิ้งหรือทำลายทิ้ง ส่งผลเสียแก่สิ่งแวดล้อม จึงเกิดแนวคิดนำเศษเหลือ ซึ่งมีปริมาณนิโคตินอยู่ มาใช้

ประโยชน์ทางการเกษตรผลิตนิโคตินควบคุม สารนิโคตินเป็นสารที่มีพิษต่อระบบประสาทของสิ่งมีชีวิต (Akehurst, 1981) ในปัจจุบันเกษตรกรได้ประสบปัญหาในด้านความเสียหายของผลผลิตทั้งพืชไร่ พืชสวน รวมถึงพืชเศรษฐกิจ จากแมลงศัตรูพืชเป็นจำนวนมากและยังสูญเสียต้นทุนการผลิตจากการใช้สารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งอุปสรรคในการเพาะปลูกพืชนั้นคือ การเข้าทำลายของแมลง ซึ่งแมลงที่เข้าทำลายพืชเศรษฐกิจสำคัญในระบบพืชสวน ได้แก่ แมลงศัตรูผัก เช่น หนอนใยผัก เป็นแมลงศัตรูสำคัญที่สุด และสามารถต้านทานสารกำจัดแมลงได้หลายชนิด (กฤษณา และเยาวลักษณ์, 2557) เพลี้ยอ่อนผักกาด ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชวงศ์กะหล่ำ เพลี้ยอ่อนฝ้าย ซึ่งเป็นศัตรูพริก มะเขือเทศ เศษใบและก้านใบยาสูบที่เหลือจากอุตสาหกรรม สามารถนำไปคลุมดินและย่อยสลายเป็นปุ๋ยหรือแช่น้ำแล้วนำมาพ่น เพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ ในการศึกษาครั้งนี้มีความสนใจนำเศษเหลือยาสูบมาผลิตเป็นสารกำจัดแมลงอย่างง่าย เพื่อลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง นำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชผักบางชนิด

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเตรียมสารสกัดยาสูบ

นำเศษใบและก้านใบยาสูบ ทั้ง 2 พันธุ์ แยกปั่นให้มีขนาดเป็นชิ้นเล็กขนาดไม่เกิน 1x1 เซนติเมตร แล้วนำไปใส่ในถุงผ้า เติมน้ำเปล่าในอัตราส่วน 9:1 มิลลิลิตรต่อกรัม (น้ำเปล่า:ยาสูบ) สกัดด้วยน้ำนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง จากนั้นกรองเพื่อแยกกากด้วยผ้าขาวบาง พร้อมสำหรับใช้ในการทดลอง โดยสารสกัดยาสูบลี้น้ำตาลเข้ม มีกลิ่นฉุน มีความเข้มข้น 10%

### 2. การศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูผักของสารสกัดยาสูบในห้องปฏิบัติการ

ทำการเลี้ยงเพลี้ยอ่อนผักกาด (*Lipaphis erysimi*) และหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) ด้วยกะหล่ำปลี ในห้องปฏิบัติการ นำเพลี้ยอ่อนและวัยที่อยู่บนใบกะหล่ำปลี มาทดลองโดยการพ่นสารสกัดลงบนตัวแมลงโดยตรง จำนวน จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว ส่วนหนอนใยผัก นำหนอนวัยที่ 2 มาทดสอบด้วยวิธีเดียวกัน โดยสารสกัดจากยาสูบด้วยกรรมวิธีที่สกัดด้วยน้ำเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เตรียมที่ระดับความเข้มข้น 10% หรืออัตราส่วน 9:1 (น้ำเปล่า:ยาสูบ) พ่นด้วยเครื่องพ่นแบบปั๊มลม (air brush sprayer) ปรับตำแหน่งหัวฉีดให้ห่างแมลงที่อยู่บนพืชอาหารประมาณ 15 เซนติเมตร ละอองสารสกัดกระจายทั่วไปพืชอาหาร ปริมาตรในการพ่นโดยตรง 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำใส่ใส่ลิ้นจุ่มน้ำพ่นก้านใบกะหล่ำปลีและหุ้มด้วยพลาสติกเพื่อให้ความชื้นพืชอาหารระหว่างการทดลอง ตรวจสอบแมลงที่ตายหลังพ่นสาร 1, 3, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ในสภาพห้องปฏิบัติการ ที่มีการให้แสงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสงประมาณ 3,000 lux เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน เพียงพอให้พืชสังเคราะห์แสงได้

สารสกัดเศษใบยาสูบและก้านใบยาสูบเบอร์เลย์ และเวอร์บีเนีย สามารถจัดเป็นกรรมวิธีที่เหมือนกันได้ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารสกัดจากเศษใบยาสูบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 2 สารสกัดจากเศษใบยาสูบที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 3 สารสกัดจากเศษใบยาสูบที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 4 สารสกัดจากก้านใบยาสูบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 5 สารสกัดจากก้านใบยาสูบที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 6 สารสกัดจากก้านใบยาสูบที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม (น้ำเปล่า)

หากพบการตายของแมลงในชุดควบคุม ให้ปรับค่าการตายของแมลงในแต่ละกรรมวิธีด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยการตายด้วยวิธี least significant difference (LSD)

### 3. ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูผักของสารสกัดยาสูบในสภาพโรงเรือน

ทำการเลือกสารสกัดในกรรมวิธีที่เหมาะสมในการกำจัดแมลงจากการทดลองในข้อ 2 ทดสอบด้วยวิธีเดียวกันกับเพลี้ยอ่อนฝ้าย (*Aphis gossypii*) บนต้นพริก จำนวน 15 ต้น และเพลี้ยอ่อนผักกาดบนกะหล่ำปลี จำนวน 15 ต้น นับจำนวนก่อนและหลังพ่นสารสกัด 1, 2 และ 3 วัน

### 4. การตรวจสอบปริมาณนิโคตินในสารสกัดจากเศษใบและก้านใบยาสูบ

ตรวจสอบปริมาณสารนิโคตินในยาสูบด้วยเครื่อง continuous flow analyzer โดยมีขั้นตอนการเตรียมสารสกัดยาสูบเพื่อวิเคราะห์นิโคติน ทำการเตรียมเศษใบยาสูบและก้านใบยาสูบขนาดไม่เกิน 1x1 เซนติเมตร นำหนัก 100 กรัม สกัดด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ตั้งไว้เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง จากนั้นคั้นน้ำจากเศษใบยาสูบหรือก้านใบยาสูบขนาดสั้นที่แช่ กรองแยกกากและน้ำโดยใช้กระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 และบรรจุในขวดแก้วปริมาตร

20 มิลลิลิตรต่อซ้ำ จำนวน 2 ซ้ำ เพื่อใช้ทดสอบวิเคราะห์ปริมาณของนิโคตินที่วัดได้ หน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%)

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูชนิดต่าง ๆ ของสารสกัดยาสูบในห้องปฏิบัติการ

#### เพลี้ยอ่อนผักกาด

สารสกัดเศษใบและก้านใบยาสูบเบอร์เลย์และเวอร์ยิเนียที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10% พ่นเพลี้ยอ่อนผักกาดบนกะหล่ำปลี หลังจากแมลงได้รับสารสกัดโดยตรง และเมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงพบว่าสารสกัดจากเศษใบและก้านใบยาสูบ เข้มข้น 10% ให้ผลในการกำจัดเพลี้ยอ่อนผักกาดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

สารสกัดเศษใบและก้านใบยาสูบเวอร์ยิเนียให้ผลการกำจัดในทำนองเดียวกันกับสารสกัดที่ได้จากเบอร์เลย์ หลังการพ่น 1 ชั่วโมง สารสกัดจากเศษใบยาสูบเวอร์ยิเนีย ให้ผลในการกำจัดแตกต่างจากก้านใบยาสูบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เพลี้ยอ่อนตาย 100% ในทุกกรรมวิธีใช้เศษใบยาสูบ ส่วนในก้านใบยาสูบ ที่ความเข้มข้น 10% มีแนวโน้มให้ผลน้อยกว่าเศษใบยาสูบ ซึ่งให้ผลการตาย 89.17, 100 และ 95.83% ในกรรมวิธีที่ใช้ก้านใบยาสูบสกัดด้วยน้ำเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง หลังการพ่นสารทุกกรรมวิธีของสารสกัดเศษใบและก้านใบยาสูบให้ผลกำจัดแมลง 100% ยกเว้นสารสกัดก้านใบยาสูบเวอร์ยิเนีย สกัดที่ 24 ชั่วโมง และให้ผลการกำจัดแมลงยังคงเท่าเดิมต่อเนื่องไปถึง 72 ชั่วโมง

ผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าสารสกัดเศษใบยาสูบที่ใช้ระดับความเข้มข้น 10% ของสารสกัด มีแนวโน้มให้ผลในการกำจัดเพลี้ยอ่อนดีกว่าก้านใบยาสูบ ในยาสูบชนิดเดียวกัน และการสกัดนานขึ้นให้ผลในการกำจัดเพิ่มขึ้น

ระยะเวลาในการใช้สารสกัดยาสูบ ขนาดพื้นที่และจักรกฤษณ์ (2550) ได้ศึกษาในลักษณะเดียวกัน โดยใช้ น้ำกลั่นสกัดใบยาสูบที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า LC<sub>50</sub> ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายเท่ากับ 1,076.30, 635.18 และ 1,618.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นการสกัดที่ 24 ชั่วโมง นั้นเพียงพอในการใช้กำจัดแมลงขนาดเล็กได้

#### หนอนใยผัก

สารสกัดเศษใบและก้านใบยาสูบเบอร์เลย์ที่ระยะเวลาแตกต่างกันให้ผลการกำจัดหนอนใยผักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) หลังจากสารลงบนตัวแมลงโดยตรง 1 ชั่วโมง หนอนใยผักมีอัตราการตายแตกต่างกัน เศษใบยาสูบที่สกัดนาน 72 ชั่วโมง ให้ผลการ

**Table 1.** Mortality rate of *Lipaphis erysimi* after spraying with Burley tobacco extract at 10% by air brush sprayer

| Treatment <sup>3</sup> | Mortality rate of <i>Lipaphis erysimi</i> (%) <sup>1,2</sup> |          |         |          |          |          |          |
|------------------------|--------------------------------------------------------------|----------|---------|----------|----------|----------|----------|
|                        | 1 hour                                                       | 3 hours  | 6 hours | 12 hours | 24 hours | 48 hours | 72 hours |
| FL 24                  | 97.50 ab                                                     | 100 a    | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| FL 48                  | 96.67 ab                                                     | 95.00 b  | 95.00 b | 96.67 a  | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| FL 72                  | 100 a                                                        | 100 a    | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| TS 24                  | 90.84 b                                                      | 98.33 ab | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| TS 48                  | 100 a                                                        | 100 a    | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| TS 72                  | 96.67 ab                                                     | 100 a    | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |

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

<sup>2</sup> Number of insects were adjusted by Abbott's formula

<sup>3</sup> FL 24: extracted tobacco fine leaf scrap for 24 hours, FL 48: extracted tobacco fine leaf scrap for 48 hours, FL 72: extracted tobacco fine leaf scrap for 72 hours, TS 24: extracted tobacco stem for 24 hours, TS 48: extracted tobacco stem for 48 hours, TS 72: extracted tobacco stem for 72 hours

Table 2. Mortality rate of *Lipaphis erysimi* after spraying with Virginia tobacco extract at 10% by air brush sprayer

| Treatment <sup>3</sup> | Mortality rate of <i>Lipaphis erysimi</i> (%) <sup>1,2</sup> |         |         |          |          |          |          |
|------------------------|--------------------------------------------------------------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|
|                        | 1 hour                                                       | 3 hours | 6 hours | 12 hours | 24 hours | 48 hours | 72 hours |
| FL 24                  | 100 a                                                        | 100 a   | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| FL 48                  | 95.00 ab                                                     | 96.67 a | 99.17 a | 99.17 a  | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| FL 72                  | 100 a                                                        | 100 a   | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| TS 24                  | 89.17 b                                                      | 90.84 b | 93.33 b | 95.83 b  | 95.83 b  | 98.34 b  | 98.34 b  |
| TS 48                  | 100 a                                                        | 100 a   | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |
| TS 72                  | 95.83 a                                                      | 98.33 a | 100 a   | 100 a    | 100 a    | 100 a    | 100 a    |

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

<sup>2</sup> Number of insects were adjusted by Abbott's formula

<sup>3</sup> FL 24: extracted tobacco fine leaf scrap for 24 hours, FL 48: extracted tobacco fine leaf scrap for 48 hours, FL 72: extracted tobacco fine leaf scrap for 72 hours, TS 24: extracted tobacco stem for 24 hours, TS 48: extracted tobacco stem for 48 hours, TS 72: extracted tobacco stem for 72 hours

กำจัดหนอนใยผัก 90% มากกว่าการสกัดเศษใบยาสูบนาน 48 ชั่วโมง (72.50%) และสกัดนาน 24 ชั่วโมง (55.00%) (ตารางที่ 3) ส่วนในกรรมวิธีที่ใช้ก้านใบยาสูบสกัดที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลการตายไม่แตกต่างทางสถิติ 25.00, 25.00 และ 40.00% ตามลำดับ สารสกัดจากเศษใบยาสูบที่ระยะเวลาต่าง ๆ ให้ผลการตายมากกว่าก้านใบยาสูบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากหนอนใยผักได้รับได้รับสารสกัดเป็นเวลาเพิ่มขึ้น พบว่าการตายของแมลงมีแนวโน้มคงเดิม และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนกระทั่งเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง การตายของหนอนใยผักที่เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาที่ได้รับสารสกัดเป็นเวลาเพิ่มมากขึ้น

สารสกัดเศษใบและก้านใบยาสูบเวอร์จิเนียที่ระยะเวลาแตกต่างกัน ให้ผลในการกำจัดหนอนใยผักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เช่นเดียวกับสารสกัดจากยาสูบเบอร์เลย์ หลังจากได้รับสารสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารสกัดจากเศษใบยาสูบสกัดนาน 72 ชั่วโมง ให้ผลการกำจัด 95% มากกว่าสารสกัดจากเศษใบยาสูบ สกัดนาน 48 และ 24 ชั่วโมง (80.00 และ 52.00%) (ตารางที่ 4) ส่วนสารสกัดก้านใบยาสูบใช้เวลาสกัด 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลการตายไม่

แตกต่างทางสถิติ โดยให้ผลการตาย 35.00, 32.50 และ 62.50% ตามลำดับ แสดงว่าสารสกัดเศษใบเวอร์จิเนียที่ระยะเวลาแตกต่างกันให้ผลการกำจัดหนอนใยผักมากกว่าสารสกัดจากก้านใบยาสูบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามหลังจากได้รับสารเป็นเวลาเพิ่มขึ้น พบการตายของหนอนใยผักในชุดควบคุม ทำให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละกรรมวิธีมีแนวโน้มที่ลดลง

อย่างไรก็ตาม เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงที่ตรวจนับ พบว่า บางช่วงเวลาเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงลดลงเล็กน้อย เนื่องจากชุดควบคุมมีการตายเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจึงทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การตายจากการปรับด้วย Abbott's formula ทำให้เปอร์เซ็นต์การตายลดลงในเวลาที่เพิ่มขึ้น

ผลการวิจัยเป็นไปในทำนองเดียวกันกับบัทนรี (2559) ซึ่งได้ทดสอบการใช้สารสกัดจากเศษเหลือของพืชในกลุ่มอัลคาลอยด์ ชนิดอื่น ๆ ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกวานหางจะชี้ที่เหลือจากอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์วานหางจะชี้เพื่อการบริโภค พบว่า ที่ความเข้มข้น 5% ให้ผลการยับยั้งการกิน 82.60% ที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังจากแมลงรับสารสกัด

**Table 3. Mortality rate of *Plutella xylostella* after spraying with Burley tobacco extract at 10% by Potter spray tower**

| Treatment <sup>3</sup> | Mortality rate of <i>Plutella xylostella</i> (%) <sup>1,2</sup> |          |          |          |          |          |          |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                        | 1 hour                                                          | 3 hours  | 6 hours  | 12 hours | 24 hours | 48 hours | 72 hours |
| FL 24                  | 55.00 bc                                                        | 53.84 bc | 46.89 bc | 40.71 bc | 45.71 b  | 42.35 b  | 47.35 bc |
| FL 48                  | 72.50 ab                                                        | 71.79 ab | 64.39 ab | 58.21 ab | 65.71 a  | 62.35 a  | 65.71 ab |
| FL 72                  | 90.00 a                                                         | 89.74 a  | 81.89 a  | 75.71 a  | 75.71 a  | 72.35 a  | 72.35 a  |
| TS 24                  | 25.00 d                                                         | 23.08 d  | 16.89 d  | 10.71 d  | 23.21 c  | 19.85 c  | 19.85 d  |
| TS 48                  | 25.00 d                                                         | 23.08 d  | 16.89 d  | 10.71 d  | 30.71 bc | 32.35 bc | 37.35 cd |
| TS 72                  | 40.00 cd                                                        | 38.46 cd | 31.89 cd | 25.71 cd | 25.71 c  | 27.35 bc | 32.35 cd |

<sup>1</sup> Means within column followed by the same letters are not significantly different according to LSD test ( $P < 0.05$ )<sup>2</sup> Number of insects were adjusted by Abbott's formula<sup>3</sup> FL 24: extracted tobacco fine leaf scrap for 24 hours, FL 48: extracted tobacco fine leaf scrap for 48 hours, FL 72: extracted tobacco fine leaf scrap for 72 hours, TS 24: extracted tobacco stem for 24 hours, TS 48: extracted tobacco stem for 48 hours, TS 72: extracted tobacco stem for 72 hours**Table 4. Mortality rate of *Plutella xylostella* after spraying with Virginia tobacco extract at 10% by Potter spray tower**

| Treatment <sup>3</sup> | Mortality rate of <i>Plutella xylostella</i> (%) <sup>1,2</sup> |          |          |          |          |          |          |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                        | 1 hour                                                          | 3 hours  | 6 hours  | 12 hours | 24 hours | 48 hours | 72 hours |
| FL 24                  | 52.50 cd                                                        | 51.28 cd | 44.39 cd | 38.21 cd | 40.71 cd | 37.35 cd | 47.35 bc |
| FL 48                  | 80.00 ab                                                        | 79.48 ab | 71.89 ab | 65.71 ab | 65.71 ab | 64.85 ab | 64.85 ab |
| FL 72                  | 95.00 a                                                         | 94.87 a  | 86.89 a  | 80.71 a  | 83.21 a  | 79.85 a  | 79.85 a  |
| TS 24                  | 35.00 d                                                         | 33.33 d  | 26.89 d  | 20.71 d  | 23.21 d  | 22.35 d  | 22.35 c  |
| TS 48                  | 32.50 d                                                         | 30.77 d  | 24.39 d  | 18.21 d  | 23.21 d  | 24.85 d  | 27.35 c  |
| TS 72                  | 62.50 bc                                                        | 61.54 bc | 54.39 bc | 48.21 bc | 53.21 cd | 49.85 bc | 64.85 ab |

<sup>1</sup> Means within column followed by the same letters are not significantly different according to LSD test ( $P < 0.05$ )<sup>2</sup> Number of insects were adjusted by Abbott's formula<sup>3</sup> FL 24: extracted tobacco fine leaf scrap for 24 hours, FL 48: extracted tobacco fine leaf scrap for 48 hours, FL 72: extracted tobacco fine leaf scrap for 72 hours, TS 24: extracted tobacco stem for 24 hours, TS 48: extracted tobacco stem for 48 hours, TS 72: extracted tobacco stem for 72 hours

## 2. การศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูผักของสารสกัดยาสูบในสภาพโรงเรือน

ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการขั้นต้น สารสกัดเศษใบและก้านใบยาสูบให้ผลในการกำจัดแมลงกลุ่มปากดูดได้ดี จึงได้คัดเลือกสารสกัดจากเศษใบยาสูบเวอร์จิเนียและเศษใบยาสูบเบอร์เลย์ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้ายในฟริก และเพลี้ยอ่อนผักกาด ในสภาพโรงเรือน

### เพลี้ยอ่อนฝ้าย

จำนวนเพลี้ยอ่อนฝ้ายบนต้นฟริกก่อนการพ่นสารสกัดเศษใบยาสูบเวอร์จิเนียและเบอร์เลย์ และชุดควบคุม พบแมลงเฉลี่ย 36.53, 64.60 และ 49.00 ตัวตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดเศษใบยาสูบความเข้มข้น 10% ไปพ่นลงบนเพลี้ยอ่อนฝ้ายในสภาพโรงเรือน พบว่า เพลี้ยอ่อนฝ้ายตายหมดหลังจากพ่นสารสกัดจากเศษใบยาสูบทั้ง 2 พันธุ์ ที่ 24 ชั่วโมง ในขณะที่ชุดควบคุมยังคงพบ



แมลงอาศัยอยู่บนต้นพริกเจี๊ยบ 45.40, 46.80, 49.67 ตัว เมื่อเวลาผ่านไป 24, 48 และ 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 5) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่น ๆ โดย Bayhan *et al.* (2006) ศึกษาการใช้สารสกัดจากสะเดาทดสอบกับเพลี้ยอ่อนฝ้ายให้ผลอัตราการรอดเป็นศูนย์ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการใช้สารสกัดจากเศษใบยาสูบ

### เพลี้ยอ่อนผักกาด

จำนวนเพลี้ยอ่อนผักกาดบนต้นกะหล่ำปลีก่อนการพ่นสารสกัดยาสูบ พบแมลง 193.60, 214.40 และ 89.20 ตัว ในกรรมวิธีที่ใช้สารสกัดจากเศษใบยาสูบเบอร์เลย์และเวอร์ยิเนีย และหาค่าควบคุม ตามลำดับ หลังพ่นสารสกัดจากเศษใบยาสูบเวอร์ยิเนียและเบอร์เลย์ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10% พบว่า แมลงในชุดควบคุมยังคงอยู่บนต้นกะหล่ำปลีเฉลี่ย 84.80, 91.80 และ 98.00 ตัว เมื่อเวลาผ่านไป 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่วนทุกกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารสกัดจากเศษใบยาสูบไม่พบแมลงอาศัยอยู่ได้ (ตารางที่ 6) เช่นเดียวกับ Mishra *et al.* (2006) ทำการทดสอบโดยสกัดใช้น้ำมันจากเมล็ดพืช 4 ชนิด ได้แก่ มะระขี้นก มะระขี้นกจีน น้ำเต้า และ

บวบเหลี่ยม ให้ผลในการกำจัดเพลี้ยอ่อนผักกาดบนต้นมัสตาร์ดในสภาพแปลง 100% ที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลเป็นเช่นเดียวกับสารสกัดจากเศษใบยาสูบ

เมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดยาสูบในการทดลองนี้สรุปได้ว่า สารสกัดเศษใบยาสูบเวอร์ยิเนียและเบอร์เลย์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10% มีประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย และเพลี้ยอ่อนผักกาด ในสภาพโรงเรือนได้อย่างสมบูรณ์ โดยทำการพ่นสารสกัดยาสูบโดยตรงบนเพลี้ยอ่อนในสภาพแปลงปลูก และจากการนับจำนวนแมลงในแปลง พบว่าแปลงที่ทำการพ่นด้วยสารสกัดยาสูบ ปริมาณแมลงลดลงเป็นศูนย์ และยังคงไม่มีแมลงกลับเข้ามาบนต้น เป็นเวลา 3 วัน

### 3. การตรวจสอบปริมาณนิโคตินในสารสกัดจากเศษใบและก้านใบยาสูบ

ปริมาณนิโคตินที่มีสารตั้งต้น 10% จากการสกัดยาสูบในอัตราส่วนน้ำต่อยาสูบเท่ากับ 9:1 ที่เตรียมจากสารสกัดโดยการเติมน้ำเปล่า 900 มิลลิลิตร และยาสูบ 100 กรัม พบว่า ในสารสกัดจากยาสูบเบอร์เลย์มีปริมาณนิโคตินสูงกว่าในเวอร์ยิเนีย เมื่อสกัดเศษใบยาสูบ

Table 5. Number of *Aphis gossypii* on chili plant after spraying with tobacco extract for 24 hours at 10% by air brush sprayer

| Treatment                                  | Average number of <i>Aphis gossypii</i> <sup>1</sup> |                |          |          |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------|----------|----------|
|                                            | Before spraying                                      | After spraying |          |          |
|                                            |                                                      | 24 hours       | 48 hours | 72 hours |
| Extracted Virginia fine scrap for 24 hours | 36.53                                                | 0.00           | 0.00     | 0.00     |
| Extracted Burley fine scrap for 24 hours   | 64.60                                                | 0.00           | 0.00     | 0.00     |
| Control (water)                            | 49.00                                                | 45.40          | 46.80    | 49.67    |

<sup>1</sup> Average from 15 replications

Table 6. Number of *Lipaphis erysimi* on cabbage after spraying with tobacco extract for 24 hours at 10% by air brush sprayer

| Treatment                                  | Average number of <i>Lipaphis erysimi</i> <sup>1</sup> |                |          |          |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------|----------|----------|
|                                            | Before spraying                                        | After spraying |          |          |
|                                            |                                                        | 24 hours       | 48 hours | 72 hours |
| Extracted Virginia fine scrap for 24 hours | 193.60                                                 | 0.00           | 0.00     | 0.00     |
| Extracted Burley fine scrap for 24 hours   | 214.40                                                 | 0.00           | 0.00     | 0.00     |
| Control (water)                            | 89.20                                                  | 84.80          | 91.80    | 98.00    |

<sup>1</sup> Average from 15 replications

เบอร์เลย์ด้วยน้ำเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณนิโคตินสูงที่สุด 1.83% รองลงมาสกัดนาน 24 ชั่วโมง มีปริมาณนิโคติน 1.32% ในทำนองเดียวกันปริมาณนิโคตินในเศษใบมีนิโคตินมากกว่าในก้านใบยาสูบ ส่วนยาสูบที่มีสารตั้งต้น 100% เมื่อนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ พบว่าปริมาณนิโคตินที่พบ เป็นลำดับดังนี้ เศษใบเบอร์เลย์ (14.49%) เศษใบเวอร์จิเนีย (8.14%) ก้านใบยาสูบเบอร์เลย์ (4.55%) และก้านใบยาสูบเวอร์จิเนีย (3.12%) พบว่าปริมาณสารนิโคติน ให้ผลในทำนองเดียวกันกับสารสกัดความเข้มข้น 10% ผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินจากสารสกัดยาสูบ 10% โดยน้ำหนัก พบปริมาณนิโคตินตามลำดับดังนี้ เศษใบเบอร์เลย์ (1.32%) ก้านใบยาสูบเบอร์เลย์ (0.56%) เศษใบเวอร์จิเนีย (0.55%) และก้านใบยาสูบเวอร์จิเนีย (0.20%) (ตารางที่ 7) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Akehurst (1981) ยาสูบเบอร์เลย์มีปริมาณนิโคตินมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับยาสูบ

เวอร์จิเนีย และยาสูบเตอร์กิช เช่นเดียวกับ Leffingwell (1999) ยาสูบ flue-cured type หรือยาสูบเวอร์จิเนียมีปริมาณ นิโคติน 1.93% ในขณะที่ยาสูบเบอร์เลย์มี 2.91%

จากการสกัดเศษใบและก้านใบยาสูบที่ระยะเวลาต่างกัน เมื่อทดสอบกับแมลงปากดูดและแมลงปากกัด ให้ผลการตายของแมลงแตกต่างกัน ในการทดสอบกับเพลี้ยอ่อนผักกาดและเพลี้ยอ่อนฝ้าย พบว่าสารสกัดยาสูบเวอร์จิเนียและเบอร์เลย์ให้ผลการกำจัดอย่างสมบูรณ์ ส่วนในการกำจัดหนอนใยผัก สารสกัดยาสูบจากใบยาสูบทั้งสองชนิดให้ผลการกำจัดได้ในระดับปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณนิโคตินที่ได้จากการวิเคราะห์นิโคตินจากสารสกัดยาสูบ ความเข้มข้น 10%

ประเด็นของสารนิโคตินที่มีความกังวลอาจจะตกค้างในผลผลิต จากการสำรวจข้อมูลเบื้องต้นในปี พ.ศ. 2560 ที่ผ่านมา ไม่พบการตกค้างของสารนิโคติน

**Table 7. Percentage of nicotine contents extracted from Virginia and Burley tobacco**

| No. | Samples                                       | Nicotine (%) |
|-----|-----------------------------------------------|--------------|
| 1   | Extracted Virginia fine leaf scrap for 24 hrs | 0.55         |
| 2   | Extracted Virginia fine leaf scrap for 48 hrs | 0.47         |
| 3   | Extracted Virginia fine leaf scrap for 72 hrs | 0.91         |
| 4   | Extracted Virginia stem for 24 hrs            | 0.20         |
| 5   | Extracted Virginia stem for 48 hrs            | 0.21         |
| 6   | Extracted Virginia stem for 72 hrs            | 0.31         |
| 7   | Extracted Burley fine leaf scrap for 24 hrs   | 1.32         |
| 8   | Extracted Burley fine leaf scrap for 48 hrs   | 1.83         |
| 9   | Extracted Burley fine leaf scrap for 72 hrs   | 0.90         |
| 10  | Extracted Burley stem for 24 hrs              | 0.56         |
| 11  | Extracted Burley stem for 48 hrs              | 0.42         |
| 12  | Extracted Burley stem for 72 hrs              | 0.40         |
| 13  | Virginia fine leaf scrap                      | 8.14         |
| 14  | Virginia stem                                 | 3.12         |
| 15  | Burley fine leaf scrap                        | 14.49        |
| 16  | Burley stem                                   | 4.55         |

## สรุป

สารสกัดยาสูบเบอร์เลย์และเวอร์รียเนี่ยที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมกำจัด เพลี้ยอ่อนผักกาดมีอัตราการตาย 95.83-100% ภายใน 1 วัน ในขณะที่เดียวกันเมื่อทดสอบกับเพลี้ยอ่อนฝ้ายและเพลี้ยอ่อนผักกาดในแปลงปลูกสภาพโรงเรือน สารสกัดเศษใบยาสูบเบอร์เลย์และเวอร์รียเนี่ยสกัดที่ 24 ชั่วโมง ให้ผลการตายของเพลี้ยอ่อนสมบูรณ์ภายใน 24 ชั่วโมงหลังการพ่น และแมลงยังคงไม่กลับเข้ามาบนต้น เป็นเวลา 3 วัน ในการใช้สารสกัดยาสูบกำจัดหนอนใยผัก ผลการใช้สารสกัดจากเศษใบยาสูบให้ผลการกำจัดหนอนใยผักดีกว่าสารสกัดจากก้านใบยาสูบ ในยาสูบชนิดเดียวกัน และสารสกัดจากยาสูบเบอร์เลย์ให้ผลในการกำจัดหนอนใยผักดีกว่าสารสกัดจากยาสูบเวอร์รียเนี่ย ระยะเวลาการสกัดที่ 48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลการตายไม่แตกต่างจาก การแช่ที่ 24 ชั่วโมง ผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินจากสารสกัดยาสูบ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก พบปริมาณนิโคตินตามลำดับดังนี้ เศษใบเบอร์เลย์ (1.32%) ก้านใบเบอร์เลย์ (0.56%) เศษใบเวอร์รียเนี่ย (0.55%) และก้านใบเวอร์รียเนี่ย (0.20%)

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโรงงานยาสูบ กระทรวงการคลัง และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการศึกษาครั้งนี้ และศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง และแม่สะป๊อก อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ประสานงานเกษตรกรเพื่อใช้พื้นที่ในการทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

กฤษณา สุเมธะ และ ยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2557. พิสูจน์สคอส์ของความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไดอะไมด์ในหนอนใยผัก. วารสารเกษตร 30(1): 29-37.

ชนานันท์ แพงไทย และ จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์. 2550. การคัดเลือกและผลิตสารสกัดจากพืชในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย. สาขาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 6 หน้า.

ธรรมนูญ ฤทธิมณี. 2526. ยาสูบ. วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา, กรุงเทพฯ. 202 หน้า.

ปิ่นรส สุศิริรัตน์. 2559. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกว่านทางจะเข้ในการควบคุมหนอนใยผัก. วารสารเกษตร 32(3): 369-378.

ศิริวรรณ พิชัยรังษะภูฏี ประภาพรณ เอี่ยมอนันต์ ปวีณา ปันกระจำ และ กุมภการ สมมิตร. 2555. สรุปสถานการณ์การควบคุมการบริโภคยาสูบของประเทศไทย พ.ศ. 2555. ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 137 หน้า.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology 18(2): 265-267.

Akehurst, B.C. 1981. Tobacco. 2<sup>nd</sup> ed. Longman, London. 764 p.

Bayhan, S.O., E. Bayhan and M.R. Ulusoy. 2006. Impact of neem and extracts of some plants on development and fecundity of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). Bulgarian Journal of Agricultural Science 12: 781-787.

Mishra, D., A.K. Shukla, A.K. Dixit and K. Singh. 2006. Insecticidal activity of vegetable oils against Mustard aphid, *Lipaphis erysimi* Kalt. under field condition. Journal of Oleo Science 55(5): 227-231.

Leffingwell, J.C. 1999. Leaf chemistry: 8A basic chemical constituents of tobacco leaf and differences among tobacco types. pp. 265-284. In: D.L. Davis and M.T. Nielsen (eds.). Tobacco: Production, Chemistry and

Technology. Blackwell Science Ltd.,  
Oxford.

Lu, G.H. and S. Ralapati. 1998. Application of high-performance capillary electrophoresis to the quantitative analysis of nicotine and profiling of other alkaloids in ATF-regulated tobacco products. *Electrophoresis* 19(1): 19-26.

---

# ประสิทธิภาพของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการกำจัดมอดหนวดยาว (*Cryptolestes pusillus*) ในข้าวและสัณฐานวิทยาของไข่มอดหนวดยาว

## Efficacy of Carbon Dioxide for Controlling Flat Grain Beetle (*Cryptolestes pusillus*) in Rice and Its Egg Morphology

พุฒิพัฒน์ คุณะปัญญาดิลก<sup>1</sup> ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์<sup>1</sup> และ เยาวลักษณ์ จันทรบ่าง<sup>1\*, 2</sup>  
Putipat Kunapanyadilok<sup>1</sup>, Piyawan Suttiprapan<sup>1</sup> and Yaowaluk Chانبang<sup>1\*, 2</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup>Division of Plant Pathology, Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>2</sup>ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400

<sup>2</sup>Postharvest Technology Innovation Center Office of the Higher Education Commission, Bangkok 10400, Thailand

\*Corresponding author: Email: lukksu@hotmail.com

(Received: 3 April 2017; Accepted: 9 June 2017)

**Abstract:** All developmental stages of flat grain beetles (*Cryptolestes pusillus*) coexisting with rice grains in LDPE packaging bag (16x18 cm) were exposed to 50% CO<sub>2</sub> and found that the mortality rate of larval and adult stages were 100% and significantly different to those of pupal stage (90.11 ± 2.46%) and egg stage (78.95 ± 8.58%) ( $P \leq 0.05$ ). For using 70% CO<sub>2</sub> treated on the tolerant stages, pupal and egg stages, the mortality rate were 80.00 ± 8.43 and 87.91 ± 10.57%, respectively, and not significantly different to those treated with 50% CO<sub>2</sub> ( $P > 0.05$ ). Eggs of flat grain beetle were studied using scanning electron microscope. The results revealed that average length and width of the eggs were 541.73 ± 12.25 and 155.25 ± 6.24 µm, respectively. The eggs were smooth surface, and aeropyle and micropyle were not found at 12,000x.

**Keywords:** *Cryptolestes pusillus*, carbon dioxide, rice, flat grain beetle egg

**บทคัดย่อ:** การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 รมมอดหนวดยาวทุกระยะการเจริญเติบโตที่อยู่ในข้าวบรรจุถุงชนิด LDPE ขนาด 16x18 เซนติเมตร พบว่าระยะหนอนและตัวเต็มวัยมีการตายสูงสุดที่ร้อยละ 100 ระยะดักแด้และระยะไข่มีอัตราการตายร้อยละ  $90.11 \pm 2.46$  และร้อยละ  $78.95 \pm 8.58$  ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) สำหรับการใช้ก๊าซ  $\text{CO}_2$  ที่ความเข้มข้นอัตรา 70 รมมอดหนวดยาวในระยะที่ทนทานคือระยะไข่และระยะดักแด้ พบว่าทั้ง 2 ระยะ มีร้อยละการตายร้อยละ  $80.00 \pm 8.43$  และ  $87.91 \pm 10.57$  ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กับการใช้ก๊าซ  $\text{CO}_2$  ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของไข่มอดหนวดยาวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่ามีความยาวเฉลี่ย  $541.73 \pm 12.25 \mu\text{m}$  และมีความกว้างเฉลี่ย  $155.25 \pm 6.24 \mu\text{m}$  พื้นผิวเปลือกไข่มีลักษณะเรียบ ไม่พบรูเปิดของ aeropyle และ micropyle ที่กำลังขยาย 12,000 เท่า

**คำสำคัญ:** มอดหนวดยาว ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ข้าว ไข่มอดหนวดยาว

## คำนำ

ข้าวเป็นพืชอาหารและเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญสำหรับในการพัฒนาด้านเศรษฐกิจและด้านสังคม ในปี พ.ศ. 2558-2559 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวประมาณ 58 ล้านไร่ ผลผลิตคิดโดยรวมประมาณ 24.311 ล้านตัน และผลผลิตเฉลี่ย 419 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) การผลิตข้าวมีปัญหาที่สำคัญหลายประการทั้งระหว่างการผลิตและการเก็บรักษาโดยเฉพาะอย่างยิ่งหลังการเก็บเกี่ยวเนื่องจากได้รับความเสียหายจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรูโรงเก็บหลายชนิด เช่น ตัวงวงข้าวโพด และมอดหัวบ่อม เป็นต้น อีกทั้งแมลงที่เป็นปัญหาสำคัญไปไม่น้อยกว่าอีกชนิดคือ มอดหนวดยาว (*Cryptolestes* spp.) ซึ่งเป็นแมลงที่ไม่เข้าทำลายเมล็ดข้าวโดยตรง แต่กัดกินส่วนที่เป็นฝุ่น ผง หรือเข้าทำลายหลังจากแมลงชนิดอื่น ๆ เข้าทำลายมาก่อน มอดหนวดยาวสามารถเข้าทำลายระหว่างการเก็บข้าวที่ผ่านการแปรรูป เช่น ข้าวขาว ข้าวกล้อง ข้าวที่รอการนำไปผ่านกระบวนการขัด หรือติดไปกับข้าวสารบรรจุถุง มีรายงานพบการปนเปื้อนของแมลงชนิดนี้ติดไปกับผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีการส่งออกไปยังประเทศจีน (ศูนย์ข้อมูลเพื่อธุรกิจไทยในจีน, 2555) ลงทำลายข้าวโพดซึ่งเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตอาหารสัตว์ เมล็ดข้าวเปลือกที่ใช้ทำพันธุ์และธัญพืชอื่น ๆ เสียหาย (กัญญา และคณะ, 2550; ภรณ์ธิดา, 2553)

การรวมผลผลิตทางการเกษตรด้วยสารเคมีเป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการกำจัดแมลงระหว่างการเก็บรักษาและก่อนการส่งออก ปัจจุบันผู้ประกอบการที่เก็บรักษาข้าวสาร และข้าวโพดให้ข้อสังเกตว่าการรมข้าวสารข้าวโพดและเมล็ดธัญพืชต่าง ๆ ด้วยฟอสฟีนเพื่อกำจัดแมลงมักประสบปัญหาย่างคงเหลือมอดหนวดยาวที่มีชีวิต ในสภาพโรงเก็บหรือไซโลเก็บผลผลิตไม่ได้มีเฉพาะตัวเต็มวัยของมอดหนวดยาวที่สร้างความเสียหายให้กับผลผลิตเพียงเท่านั้น ยังมีมอดหนวดยาวในระยะไข่ที่สามารถติดไปกับผลผลิตได้ และพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์ปรากฏอยู่ในผลผลิตในเวลาต่อมา ในสถานการณ์ปัจจุบันคาดว่าแนวโน้มที่มอดหนวดยาวโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะไข่ที่ติดไปกับผลผลิต อาจสร้างความต้านทานต่อการรมสารฟอสฟีนทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มเพื่อจัดการแมลงดังกล่าวและผลของสารรมอาจมีสารตกค้างในผลผลิตได้ ซึ่งปัจจุบันข้อมูลของมอดหนวดยาวเกี่ยวกับชีววิทยา การเข้าทำลาย และการป้องกันกำจัดในประเทศไทยยังมีไม่เพียงพอจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงชีววิทยาของมอดหนวดยาวในผลผลิตต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งชีววิทยาของผลผลิตข้าวรูปแบบต่าง ๆ และทางเลือกในการป้องกันกำจัดเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี ในการศึกษาครั้งนี้ได้นำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นก๊าซที่มีผลในการกำจัดแมลงและยังสามารถใช้กำจัดแมลงในระบบเกษตรอินทรีย์ได้ (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2552) มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลผลิตต่ำ และไม่มีพิษตกค้างหลังการรม

โดยนำมาใช้กับผลผลิตข้าวชนิดต่าง ๆ เพื่อเป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดมอดหนวดยาวต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การประเมินความทนทานของมอดหนวดยาวทุกระยะการเจริญเติบโตเมื่อได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความทนทานของมอดหนวดยาวในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ที่ได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในข้าวสารปริมาณ 200 กรัม ที่บรรจุในถุงบรรจุข้าวชนิด LDPE (low-density poly ethylene) ซึ่งมีคุณสมบัติที่มีความเหนียว ความคงทน ลักษณะค่อนข้างใส ยืดหยุ่นได้พอสมควร (ขนาด 16x18 เซนติเมตร) ปลอมมอดหนวดยาวทุกระยะการเจริญเติบโตที่ได้จากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณจำนวน 20 ตัว ลงในถุง แล้วปิดผนึกปากถุงด้วยเครื่องปิดปากถุงบรรจุข้าวโดยใช้ความร้อน ซึ่งวิธีการปล่อยก๊าซ  $\text{CO}_2$  เข้าภายในถุงบรรจุข้าวจะใช้หัวเข็มฉีดยาเบอร์ 16 ความยาว 1 นิ้ว ต่อเข้ากับสายก๊าซแรงดันสูงแล้วใช้พาราฟิล์มพันทับ

บริเวณรอยต่อระหว่างเข็มฉีดยากับสายก๊าซให้แน่น จากนั้นใช้เซปตัม (septum) ติดกับถุงบรรจุข้าวตรงบริเวณกลางถุง แล้วใช้เข็มฉีดยาจิ้มเข้าถุงบรรจุข้าว ตรงบริเวณที่ติดเซปตัมไว้แล้วก่อนหน้านี้ (ภาพที่ 1b) หลังจากนั้นปล่อยก๊าซ  $\text{CO}_2$  จากถังบรรจุก๊าซ  $\text{CO}_2$  บริสุทธิ์ (ภาพที่ 1a) ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาณ (ถุงบรรจุข้าว) นำถุงที่ได้รับก๊าซแล้ว (ภาพที่ 1c) ใส่ในกล่องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ 75 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจนับการตายของมอดหนวดยาวในแต่ละระยะโดยประเมินจากแมลงที่สามารถรอดและพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยได้ วัดความเข้มข้นของก๊าซ  $\text{CO}_2$  ด้วยเครื่อง Headspace Gas Analyzer (Bridge Analyzers, Inc.) ที่ 45, 30, 21 และ 14 วัน ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งภายในเป็นสภาพบรรยากาศปกติ (ปริมาณก๊าซ  $\text{CO}_2$  เท่ากับ 0.03 ) ทำ 5 ซ้ำ

#### ตรวจนับการตายของมอดหนวดยาว

ตรวจนับจำนวนแมลงที่สามารถพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยหลังจากการรมก๊าซ และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตาย ทำการปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality) ด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

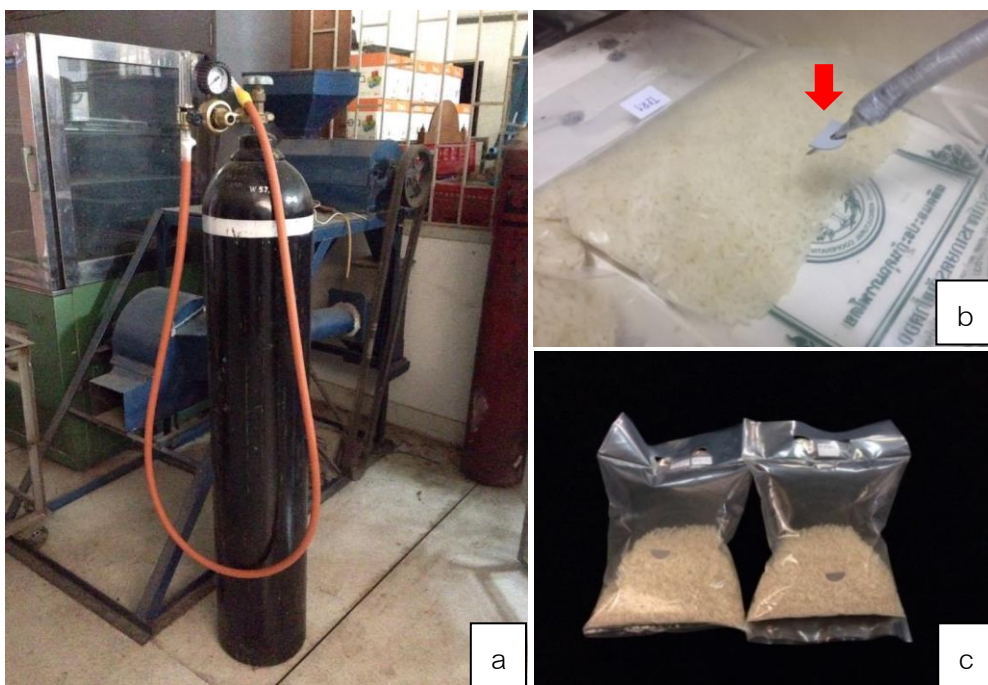


Figure 1. (a)  $\text{CO}_2$  tank, (b) entering  $\text{CO}_2$  through septum sheet indicated by arrow, and (c) LDPE bags after filling with  $\text{CO}_2$

ในกรณีที่พบจำนวนแมลงตายในชุดควบคุม (ไม่ผ่านการรมก๊าซ) วิเคราะห์ความแปรปรวนแล้วเปรียบเทียบความแตกต่างเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงโดยใช้วิธี least significant difference (LSD)

## 2. การประเมินความทนทานของมอดหนวดยาวในระยะที่ทนทาน เมื่อได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) ที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์

นำมอดหนวดยาวในระยะที่ทนทานที่สุด ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการทดลองก่อนหน้านี้คือระยะไข่ และระยะดักแด้ จำนวน 20 ตัว ใส่ลงในข้าวสาร 200 กรัม ที่บรรจุในถุงบรรจุข้าวชนิด LDPE ปล่องก๊าซจากถังบรรจุก๊าซ  $\text{CO}_2$  บริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 70 ต่อปริมาตร (ถุงบรรจุข้าว) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของก๊าซ  $\text{CO}_2$  สูงสุด ที่ถุงบรรจุข้าวสามารถบรรจุก๊าซ  $\text{CO}_2$  ได้ ทำการทดสอบระยะละ 5 ชั่วโมง ตรวจนับแมลงในเวลา 21 และ 45 วัน ซึ่งแมลงพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัย ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งภายในเป็นสภาพบรรยากาศปกติ และคำนวณหาอัตราการตาย และวิเคราะห์ความแปรปรวนแล้วเปรียบเทียบความแตกต่างเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงโดยใช้วิธี least significant difference (LSD)

## 3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไข่มอดหนวดยาว

จากการทดสอบก่อนหน้านี้พบว่าไข่มอดหนวดยาวเป็นระยะที่ทนต่อการรมก๊าซ  $\text{CO}_2$  จึงมีสมมติฐานว่าลักษณะไข่ของมอดหนวดยาวอาจมีผลต่อการรมก๊าซ จึงตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ภาพที่ 2) เพื่อตรวจสอบรู aeropyles และ micropyles และวัดขนาดไข่ของมอดหนวดยาวโดยใช้โปรแกรม Image J ตามวิธีการของ Gautam *et al.* (2014)

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 1. การประเมินความทนทานของมอดหนวดยาวเมื่อได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดสอบมอดหนวดยาวทุกระยะการเจริญเติบโตด้วยก๊าซ  $\text{CO}_2$  ความเข้มข้นร้อยละ 50 ในถุงบรรจุข้าวชนิด LDPE ตรวจนับที่เวลา 45, 30, 21 และ 14 วัน ตามลำดับ พบว่าในระยะหนอนและตัวเต็มวัยมีอัตราการตายร้อยละ 100.00 รองลงมา คือระยะดักแด้ ร้อยละ  $90.11 \pm 2.46$  ระยะไข่ร้อยละ  $78.95 \pm 8.58$  (ตารางที่ 1) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) สามารถสรุปได้ว่าระยะไข่ของมอดหนวดยาวมีความทนทานต่อก๊าซ  $\text{CO}_2$  มากที่สุดสอดคล้องกับ

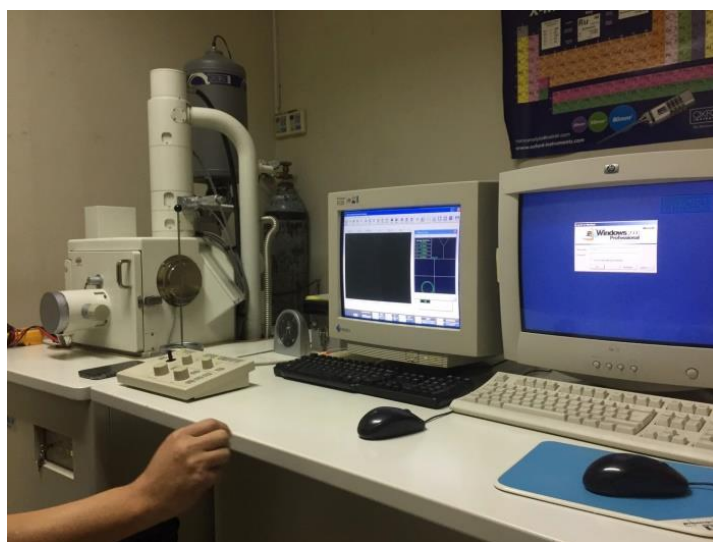


Figure 2. Scanning electron microscope (SEM)



Table 1. Average percent mortality of all stages of flat grain beetle at 45, 30, 21 and 14 days after fumigation with 50% CO<sub>2</sub>

| Developmental stages | Days after fumigation (days) | Percent mortality $\pm$ SD <sup>1</sup> |
|----------------------|------------------------------|-----------------------------------------|
| Egg                  | 45                           | 78.95 $\pm$ 8.58 c                      |
| Larva                | 30                           | 100.00 $\pm$ 0.00 a                     |
| Pupa                 | 21                           | 90.11 $\pm$ 2.46 b                      |
| Adult                | 14                           | 100.00 $\pm$ 0.00 a                     |

<sup>1</sup> Means within a column followed by same letters are not significantly different (95% CI)

การศึกษาของรัตนพร และปิยะวรรณ (2558) ที่รายงานว่าการใช้ก๊าซ CO<sub>2</sub> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 35 รวดวงเมลิติกาแฟ (*Areacerus fasciculatus*) ทุกระยะการเจริญเติบโตในขวดแก้วรูปทรงชมพู (ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าระยะไข่มีความทนทานต่อก๊าซ CO<sub>2</sub> มากที่สุด มีอัตราการตายร้อยละ 0.50 และ Gbaye and Odeyemi (2005) ซึ่งทดสอบการใช้ก๊าซ CO<sub>2</sub> รวดวงผลไม้แห้ง (*Carpophilus hemipterus*) กับทุกระยะการเจริญเติบโต พบว่า หลัง 8 ชั่วโมง ระยะไข่มีความทนทานต่อก๊าซ CO<sub>2</sub> มากที่สุด มีอัตราการตายร้อยละ 26.70

## 2. การประเมินความทนทานของมอดหนวดยาวในระยะที่ทนทาน เมื่อได้รับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์

จากการนำมอดหนวดยาวในระยะที่ทนทานคือในระยะไข่ และระยะดักแด้ ผลทดสอบรมไข่และดักแด้มอดหนวดยาวซึ่งทนทานต่อก๊าซ CO<sub>2</sub> สูงสุด ด้วยก๊าซ CO<sub>2</sub> ความเข้มข้นร้อยละ 70 พบว่าระยะไข่และระยะดักแด้มีอัตราการตายร้อยละ 80.00  $\pm$  8.43 และ 87.9  $\pm$  10.57 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Riudavets *et al.* (2010) ที่ทดลองใช้ก๊าซ CO<sub>2</sub> ความเข้มข้นร้อยละ 100 ระดับความดัน 15 และ 20 บาร์ ที่ระยะเวลา 15, 30 และ 60 นาที เพื่อกำจัดมอดพื้นเลื้อย (*Oryzaephilus surinamensis*) มอดตัวแบน (*Cryptolestes ferrugineus*) มอดยาสูบ (*Lasioderma serricorne*) ตัวงวงข้าว (*Sitophilus oryzae*) มอดหัวป้อม (*Rhyzopertha dominica*)

ตัวงวงแดง (*Acanthoscelides obtectus*) ฝั่เลื้อยข้าวโพด (*Ephestia kuehniella*) เหาหนังสือ (*Liposcelis bostrychophila*) และไรศัตรูในโรงเก็บ (*Tyrophagus putrescentiae*) ทดสอบทุกระยะการเจริญเติบโต พบว่าไข่ของเหานหนังสือ และมอดยาสูบสามารถทนทานต่อก๊าซ CO<sub>2</sub> ที่ระดับความดัน 15 บาร์ และการทดลองของ Gunasekaran and Rajendran (2005) ศึกษาความเป็นพิษของก๊าซ CO<sub>2</sub> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 80 ในการรมมอดสมุนไพรรวม (*Stegobium paniceum*) และมอดยาสูบ (*L. serricorne*) ทุกระยะการเจริญเติบโตของแมลงทั้ง 2 ชนิด พบว่าระยะดักแด้ทนทานต่อก๊าซ CO<sub>2</sub> มากที่สุด

## 3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไข่มอดหนวดยาว

ไข่มอดหนวดยาวมีความยาวเฉลี่ย 541.73  $\pm$  12.25  $\mu$ m และความกว้างเฉลี่ย 155.25  $\pm$  6.24  $\mu$ m และพบพื้นผิวของเปลือกไข่มีลักษณะเรียบ (ภาพที่ 4a, b, c) โดยพบแผ่นบางอย่างเคลือบเปลือกไข่ไว้ (ภาพที่ 4d, e) มีเศษแบ่งและเศษของอาหารเกาะติดเคลือบอยู่บนเปลือกไข่ (ภาพที่ 3a, b) และไม่พบรู aeropyle และ micropyle (ภาพที่ 4f) Scheff (2016) รายงานว่าเมื่อมอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) เพศเมียสร้างสารเหนียวหุ้มไข่หลังจากวางไข่เสร็จแล้ว ซึ่งสารนี้ส่งผลทำให้เศษแบ่งเศษอาหารติดเคลือบอยู่กับไข่ของมอดแป้ง และติดอยู่กับภาชนะ หรือถุงบรรจุภัณฑ์ของอาหารได้ และจากการรายงานของ Gautam *et al.* (2015) ไม่พบรู aeropyle และ micropyle บนบริเวณเปลือกไข่ของมอดแป้งไข่ของแมลง ได้แก่ มอดยาสูบ ฝั่เลื้อยยาสูบ ตัวงวงผลไม้แห้ง มีรูที่เรียกว่า micropyle ซึ่งเป็นรูเปิดเป็นทางเข้าของสเปิร์ม และ aeropyle ซึ่งเป็นอวัยวะที่ใช้ในการแลกเปลี่ยน

Table 2. Average percent mortality of egg and pupal stages of flat grain beetles at 45 and 21 days after fumigation with 70% CO<sub>2</sub>

| Developmental stages | Days after fumigation (Days) | Percent mortality $\pm$ SD <sup>1</sup> |
|----------------------|------------------------------|-----------------------------------------|
| Egg                  | 45                           | 80.00 $\pm$ 8.43 a                      |
| Pupa                 | 21                           | 87.91 $\pm$ 10.57 a                     |

<sup>1</sup> Means within a column followed by same letters are not significantly different (95% CI)

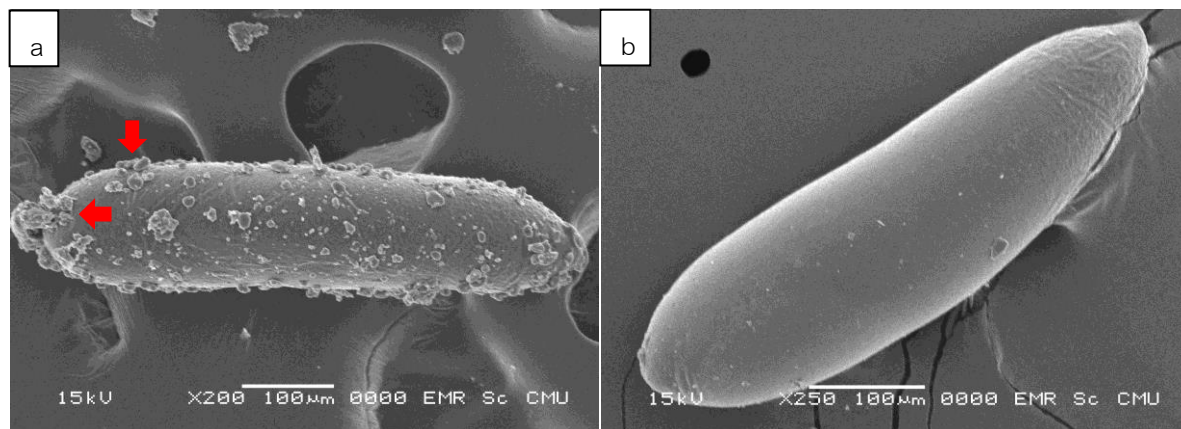


Figure 3. (a) SEM of flat grain beetle egg with flour fragments indicated by arrows, and (b) egg after removing flour fragments

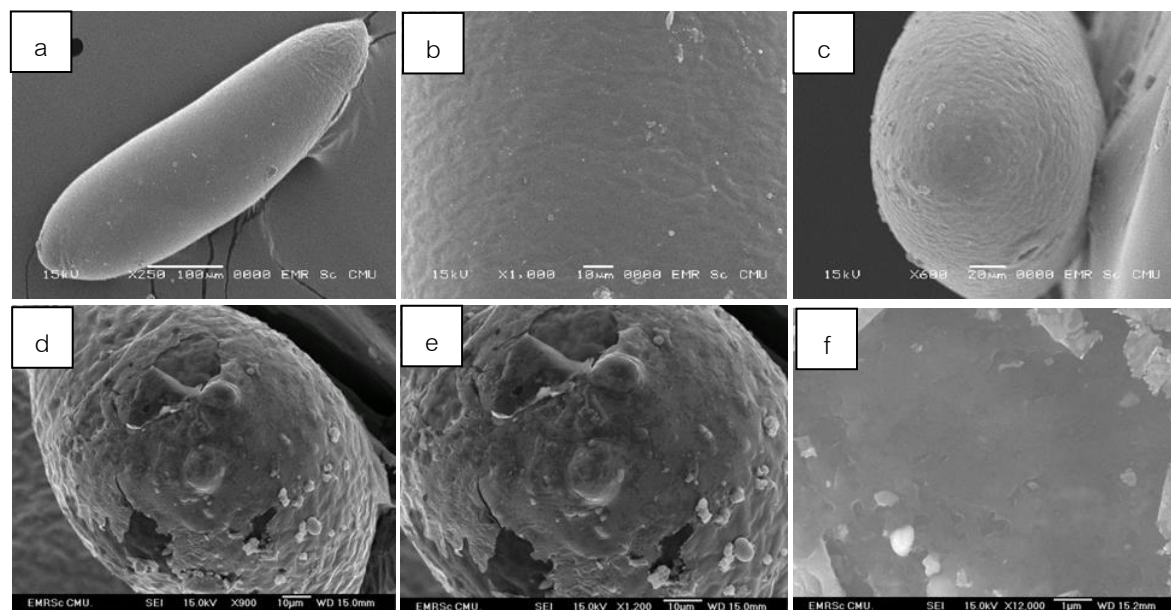


Figure 4. (a) SEM of flat grain beetle egg (250x), (b) smooth surface of the egg chorion (1,000x), (c) anterior end of the egg (600x), (d) anterior end of the egg with chorionic plate indicated by arrows (900x), (e) and at 1200x, and (f) magnified anterior end of the egg (12,000x)

ก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ในไข่แต่ละชนิดของแมลงเหล่านั้นมีจำนวนรูแตกต่างกัน ซึ่งรู micropyle และ aeropyle มีผลต่อการรวมและการดูดซึมของสารรวมเมื่อมีการใช้ในการเก็บรักษาผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว (Gautam *et al.*, 2014)

โดยทั่วไปแมลงในระยะที่มีการเคลื่อนไหว เช่น ตัวเต็มวัยและระยะหนอน จะมีอัตราการหายใจเพื่อแลกเปลี่ยนก๊าซมากกว่าระยะที่ไม่เคลื่อนไหว เช่น ระยะดักแด้และไข่ (Wigglesworth, 1942) ทำให้รับสารเคมีในรูปของก๊าซเข้าไปทางการหายใจได้มากกว่า Emekci *et al.* (2004) ทำการวัดอัตราการหายใจของมอดหัวป้อมพบว่าอัตราการหายใจต่อน้ำหนักตัวของระยะไข่ หนอนวัยอ่อน หนอนวัยแก่ ดักแด้ และตัวเต็มวัย เท่ากับ 0.14, 4.83, 1.98, 0.64 และ 2.58  $\mu\text{l CO}_2/\text{mg}$  ระยะไข่มีอัตราการหายใจในน้อยที่สุด รองลงมาคือระยะดักแด้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ 1 ระยะหนอนและตัวเต็มวัยมีการเคลื่อนที่ และอัตราการหายใจมากกว่าระยะไข่และดักแด้จึงทำให้ก๊าซเข้าทำลายได้อย่างรวดเร็ว ในขณะที่ระยะไข่และดักแด้สามารถทนทานได้มากกว่าเช่นเดียวกับการรายงานของรัตนพร และปิยะวรรณ (2558) ใช้ก๊าซ  $\text{CO}_2$  รมด้วงเมลิ็ดกาแฟ (*A. fasciculatus*) และพบว่าระยะไข่เป็นระยะที่ทนทานที่สุด Hole *et al.* (1976) ใช้สารฟอสฟีนซึ่งเป็นสารฆ่าแมลงในรูปของก๊าซกับแมลงศัตรูโรงเก็บประเภทด้วงจำนวน 13 ชนิด พบว่า ระยะไข่และดักแด้ของแมลงเกือบทุกชนิดที่ทนทานต่อสารมากที่สุด และ Bell (1976) พบว่าระยะไข่และดักแด้ของผีเสื้อซึ่งเป็นศัตรูในโรงเก็บ 4 ชนิดทนทานต่อสารฟอสฟีนมากที่สุด

Gautam *et al.* (2014) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาไข่ของแมลงศัตรูโรงเก็บ ได้แก่ มอดยาสูบ (*L. serricorne*) ผีเสื้อยาสูบ (*Ephestia elutella*) และด้วงผลไม้แห้ง (*C. hemipterus*) ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าไข่มอดยาสูบและไข่ผีเสื้อยาสูบพบรู aeropyle จำนวนมาก ( $291,200 \pm 13,145$  และ  $17.4 \pm 0.79$  รูตามลำดับ) และมีพื้นที่แลกเปลี่ยนของอากาศมาก ( $990.10 \pm 180.4$  และ  $20.71 \pm 1.39$  ตารางไมครอน ตามลำดับ) ทำให้อ่อนแอต่อการรวมด้วยก๊าซ sulfuryl fluoride ในขณะที่ไข่ของด้วงผลไม้แห้งพบรู aeropyle เพียง  $2 \pm 0.0$  รูเท่านั้น และมีพื้นที่แลกเปลี่ยน

ของก๊าซ เท่ากับ  $2.16 \pm 0.19$  ตารางไมครอน ซึ่งน้อยกว่าจึงต้องใช้ก๊าซ sulfuryl fluoride ที่เข้มข้นมากกว่าในการป้องกันและกำจัด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ 3 ที่ไม่พบรู micropyle และ aeropyle บริเวณผิวของเปลือกไข่ ส่งผลให้ระยะไข่ของมอดหนวดยาวได้รับก๊าซ  $\text{CO}_2$  น้อยกว่าระยะอื่น ๆ และมีอัตราการตายน้อยที่สุด เมื่อรมด้วย  $\text{CO}_2$

Davidson and Peairs (1966) รายงานว่า ก๊าซ  $\text{CO}_2$  มีผลไปกระตุ้นทำให้รูหายใจ (spiracle) ของแมลงเปิดกว้างและเกิดการแลกเปลี่ยนก๊าซเพิ่มมากขึ้นทำให้ก๊าซ  $\text{CO}_2$  ที่สามารถเข้าไปแทนที่ก๊าซออกซิเจนทำให้ในร่างกายของแมลงมีก๊าซ  $\text{CO}_2$  สูง แมลงขาดก๊าซออกซิเจนและตายในที่สุด กุลวิชญ์ (2553) รายงานการใช้ก๊าซ  $\text{CO}_2$  ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 และ 30 สามารถกำจัดด้วงงวงข้าวในระยะตัวเต็มวัยได้ร้อยละ 100 ที่ระยะเวลา 5 และ 7 วัน ตามลำดับ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของก๊าซ  $\text{CO}_2$  ให้สูงขึ้นจนถึงที่ร้อยละ 40 พบว่าสามารถกำจัดด้วงงวงข้าวในระยะตัวเต็มวัยได้รวดเร็วขึ้น ส่งผลให้ด้วงงวงข้าวตายร้อยละ 100 ภายในระยะเวลาเพียง 2 วัน

อย่างไรก็ตามก๊าซ  $\text{CO}_2$  อาจมีผลต่อคุณภาพการเก็บรักษาข้าวในระยะยาวจึงควรมีการศึกษาระดับก๊าซ  $\text{CO}_2$  ที่เหมาะสมในการกำจัดแมลงและส่งผลต่อคุณภาพของข้าวให้น้อยที่สุด

## สรุป

มอดหนวดยาวในระยะไข่มีความทนทานต่อก๊าซ  $\text{CO}_2$  ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 มากที่สุดเนื่องจากระยะไข่มีอัตราการตายเพียงร้อยละ  $78.95 \pm 5.58$  รองลงมาคือระยะดักแด้มีอัตราการตายร้อยละ  $90.11 \pm 2.46$  ในขณะที่ระยะ หนอนและตัวเต็มวัยมีการตายอย่างสมบูรณ์ร้อยละ 100.00 ส่วนการใช้ก๊าซ  $\text{CO}_2$  ที่ความเข้มข้นร้อยละ 70 รมมอดหนวดยาวในระยะที่ทนทาน คือ ระยะไข่ และระยะดักแด้ พบว่าทั้ง 2 ระยะ มีอัตราการตายร้อยละ  $80.00 \pm 8.43$  และ  $87.91 \pm 10.57$  ตามลำดับ และจากการนำไข่มอดหนวดยาวไปถ้ำยรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ไม่พบรูเปิดของ aeropyle และ micropyle ที่กำลังขยาย 12,000 เท่า

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้และขอขอบคุณศูนย์วิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ในความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์การศึกษาก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2552. กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [www.fisheries.go.th/organic/GAP\\_organic\\_1\\_mกษ%209000-2552.pdf](http://www.fisheries.go.th/organic/GAP_organic_1_mกษ%209000-2552.pdf) (20 กันยายน 2557).
- กัญญา เชื้อพันธุ์ สุพันธ์ วงศ์ปิยชน วาสนา พันธุ์เพ็ง วชิร สุขวิวัฒน์ รุจี กุลประสูติ และ สุรินทร์ ห่มนวล. 2550. คุณภาพข้าวปทุมธานี 1 เมื่อเก็บรักษาในสภาพข้าวเปลือกและข้าวสาร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [www.tnrr.in.th/rir/index.php?page=researching&nid=221716](http://www.tnrr.in.th/rir/index.php?page=researching&nid=221716) (11 กันยายน 2557).
- กุลวิฑูรย์ พานิชกุล เยาวลักษณ์ จันทร์บาง และ พรชัย ราชตนะพันธุ์. 2553. ผลของชนิดวัสดุบรรจุภัณฑ์ และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโต และการทำลายของด้วงวงข้าว (*Sitophilus oryzae* L.) ในข้าวสารพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 41(1) (พิเศษ): 215-218.
- ภรณ์ธิดา ปิงน้ำทิ้ง เยาวลักษณ์ จันทร์บาง และ วิเชียร เสงส์สวัสดิ์. 2553. ผลของการทำลายข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของมอดหนวดยาว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 41(1)(พิเศษ): 337-340.
- รัตนาวร ไชยศรี และ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์. 2558. ชีววิทยาของด้วงเมล็ดกาแฟ *Araecerus fasciculatus* (De Geer) (Coleoptera: Anthribidae) ในกระเทียมและการควบคุมโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์. วารสารเกษตร 31(1): 11-19.
- ศูนย์ข้อมูลเพื่อธุรกิจไทยในจีน. 2555. เกษตรกรรม. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [http://www.thaibizchina.com/thaibizchina/th/china-economic-business/result.php?SECTION\\_ID=469&ID=10381](http://www.thaibizchina.com/thaibizchina/th/china-economic-business/result.php?SECTION_ID=469&ID=10381) (27 กรกฎาคม 2557).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. ผลผลิตข้าว. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/economicdata/majorrice58-59.html> (29 มีนาคม 2560).
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18(2): 265-267.
- Bell, C.H. 1976. The tolerance of developmental stages of four stored product moths to phosphine. *Journal of Stored Products Research* 12(2): 77-86.
- Davidson, R.H. and L.M. Peairs. 1966. *Insect Pests of Farm Garden and Orchard*. John Wiley & Son, Inc., New York. 675 p.
- Emekci, M., S. Navarro, E. Donahaye, M. Rindner and A. Azrieli. 2004. Respiration of *Rhyzopertha dominica* (F.) at reduced oxygen concentrations. *Journal of Stored Products Research* 40(1): 27-38.
- Gautam, S.G., G.P. Opit, J.S. Tebbets, D. Margosan and S. Walse. 2014. Egg morphology of key stored-product insect pests of the United States. *Annals of the Entomological Society of America* 107: 1-10.
- Gautam, S.G., G.P. Opit, D. Margosan, D. Hoffmann, J.S. Tebbets and S. Walse. 2015. Comparative egg morphology and chorionic ultrastructure of key stored-product insect pests. *Annals of the Entomological Society of America* 108(1): 43-56.

- Gbaye, O.A. and O.O. Odeyemi. 2005. Evaluation of hypercarbia atmosphere on the mortality of dried-fruit beetle, *Carpophilus hemipterus* (Linnaeus). Journal of Food, Agriculture & Environment 34: 43-46.
- Gunasekaran, N. and S. Rajendran. 2005. Toxicity of carbon dioxide to drugstore beetle *Stegobium paniceum* and cigarette beetle *Lasioderma serricorne*. Journal of Stored Products Research 41(3): 283-294.
- Hole, B.D., C.H. Bell, K.A. Miller and G. Goodship. 1976. The toxicity of phosphine to all developmental stages of thirteen species of stored product beetles. Journal of Stored Products Research 12(4): 235-244.
- Riudavets, J., C. Castane, O. Alomar, M.J. Pons and R. Gabarra. 2010. The use of carbon dioxide at high pressure to control nine stored-product pests. Journal of Stored Products Research 46: 228-233.
- Scheff, D.S. 2016. Packaging technologies for the control of stored-product insects. Department of Grain Science and Industry, College of Agriculture, Kansas State University, Kansas. 141 p.
- Wigglesworth, V.B. 1942. The Principles of Insect Physiology. Metheun & Co. Ltd., London. 444 p.
-



ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกร ตำบลแม่หอพระ  
อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

Factors Affecting Farmers' Adoption of Organic Agricultural Practices, Mae Ho Phra  
Subdistrict, Mae Taeng District, Chiang Mai Province

นราศิณี แก้วไหลมา สุรพล เศรษฐบุตร์ บุศรา ลิมน์รัตนกุล และ ประทานทิพย์ กระมล  
Narasinee Kaewlaima, Suraphol Sreshthaputra, Budsara Limnirankul and Prathanthip Kramol

ภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

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

(Received: 10 January 2017; Accepted: 19 July 2017)

**Abstract:** The purposes of this research were to study 1) General background of personal, economic, social, knowledge and attitude towards organic farmers of farmers 2) factors affecting the farmer's adoption of organic agriculture and 3) problems and recommendations of farmers in organic agriculture practice. The target population for the research was 368 farmers in Mae Ho Phra subdistrict, Mae Taeng district, Chiang Mai province divided into 91 members who did the organic agriculture practice and 277 members who didn't applied the organic agriculture practice. The sample size was determined using the Taro Yamane formula of 192 members of farmers was divided into 2 groups. The first group consisted of 47 members who did the organic agriculture practice and the second group consisted of 145 members who didn't applied the organic agriculture practice. Data were collected by using interview schedule, and analyzed using statistical methods including descriptive statistics while farmers' adoption was performed upon the results of logistic regression analysis. It was found that factors affecting farmers' adoption in organic agriculture practice are statistically significant including 1) training on organic farming 2) knowledge of organic farming 3) attitudes towards organic farming 4) age 5) Agricultural Area 6) Number of agricultural labors and 7) time span of farming. Problems and constraints reported by farmers in organic agriculture practice include the issue of organic farming is difficult, lack of knowledge in organic agriculture practice, difficult in pest control, sources of organic produce are limited, Organic farming requires more time to taking care for plants, uncontrolled or follow organic farming procedure.

**Keywords:** Adoption, organic agriculture, farmer

**บทคัดย่อ:** การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา 1) ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ สังคม ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์ และทัศนคติของเกษตรกรที่มีต่อการทำเกษตรอินทรีย์ 2) ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ 3) ปัญหา อุปสรรคและข้อเสนอแนะ ของเกษตรกรในการทำเกษตรอินทรีย์ตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ประชากรเป้าหมายที่ใช้ในการวิจัยคือเกษตรกรในตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ขึ้นทะเบียนเกษตรกร จำนวน 368 ราย ซึ่งแบ่งได้เป็นกลุ่มที่ทำเกษตรอินทรีย์ 91 ราย และกลุ่มที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์ 277 ราย กำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สูตรของ Taro Yamane ได้จำนวนตัวอย่าง 192 ราย จากประชากรทั้งหมด 368 ราย ทำการสุ่มโดยใช้วิธี proportional stratified sampling ได้กลุ่มตัวอย่างที่ทำเกษตรอินทรีย์จำนวน 47 ราย และกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์จำนวน 145 ราย ใช้แบบสัมภาษณ์เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติพรรณนาและการวิเคราะห์ถดถอยลอจิสติก เพื่อทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม ผลการศึกษาพบว่า ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่เชียงใหม่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ 1) การได้รับการฝึกอบรม 2) ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์ 3) ทัศนคติของเกษตรกรในการทำเกษตรอินทรีย์ 4) อายุของเกษตรกร 5) ขนาดของพื้นที่ผลิตพืช 6) จำนวนแรงงานที่ใช้ในการทำเกษตร และ 7) ระยะเวลาประกอบอาชีพการเกษตร ในด้านปัญหาและอุปสรรคของเกษตรกรพบว่า การทำเกษตรอินทรีย์เป็นเรื่องที่ยาก เกษตรกรมีความรู้น้อย การควบคุมศัตรูพืชทำได้ยาก แหล่งจำหน่ายผลผลิตเกษตรอินทรีย์มีจำกัด ต้องใช้เวลามากในการดูแลพืชที่ปลูก และไม่สามารถควบคุมหรือทำตามขั้นตอนการทำเกษตรอินทรีย์ได้ทั้งหมด

**คำสำคัญ:** การยอมรับ เกษตรอินทรีย์ เกษตรกร

## คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่สามารถผลิตพืชอาหารเพื่อใช้บริโภคได้ทั้งภายในประเทศและภายนอกประเทศ การทำการเกษตรในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีที่ค่อนข้างสูง ทำให้เกษตรกรและผู้บริโภคประสบปัญหาต่าง ๆ ตามมา การทำเกษตรอินทรีย์น่าจะเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยลดและแก้ไขปัญหที่เกิดขึ้นจากการทำเกษตรเคมีได้ (ชนวน, 2550)

ตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ เป็นตำบลหนึ่งที่ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรม เนื่องจากพื้นที่มีความเหมาะสมต่อการทำเกษตรกรรม และประสบปัญหาทรัพยากรดินและน้ำเริ่มเสื่อมโทรมเนื่องจากการใช้สารเคมีเพื่อการเกษตรค่อนข้างสูง และจากการตรวจสอบราคาพืชผักในเลือดพบว่าประชากรส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงซึ่งคิดเป็นร้อยละ

62.3 และกลุ่มไม่ปลอดภัยคิดเป็นร้อยละ 3.5 ปัจจุบันตำบลแม่หอพระได้รับการส่งเสริมการทำเกษตรอินทรีย์โดยวิธีต่าง ๆ เช่น มีการจัดตั้งกลุ่มเกษตรอินทรีย์และสนับสนุนการปลูกพืชผักอินทรีย์เพื่อจำหน่าย จากการสอบถามผู้นำกลุ่มเกษตรอินทรีย์ในแต่ละหมู่บ้านของตำบลแม่หอพระ พบว่ามีเกษตรกรที่สนใจและทำเกษตรอินทรีย์ 91 ราย และยังคงมีเกษตรกรอีกหลายรายที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์ ซึ่งมีหลายสาเหตุที่ทำให้เกษตรกรเหล่านั้นยังคงทำการเกษตรแบบเดิม การทำเกษตรอินทรีย์ให้ประสบความสำเร็จมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้องกับเกษตรกรที่ผลิตในรูปแบบเกษตรอินทรีย์ได้แก่ ความพอเพียงด้านจิตใจ สังคม เศรษฐกิจ สิ่งแวดล้อม และเทคโนโลยีในระดับที่สูง (ตะวัน และคณะ, 2557) จึงทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่ศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่



## อุปกรณ์และวิธีการ

### ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาคือ เกษตรกรที่ขึ้นทะเบียนเป็นเกษตรกร ตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ทำเกษตรอินทรีย์และไม่ทำเกษตรอินทรีย์ ซึ่งมีทั้งหมด 7 หมู่บ้าน จำนวน 368 ราย โดยจำแนกเป็น 2 กลุ่ม คือเกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์จำนวน 91 ราย และเกษตรกรที่ไม่ได้ทำเกษตรอินทรีย์จำนวน 277 ราย

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาค้างครั้งนี้คือ เกษตรกรที่ขึ้นทะเบียนเป็นเกษตรกร ตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ กำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สูตรของ Taro Yamane (Yamane, 1973) ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่าง 192 ราย ทำการสุ่มตัวอย่างโดยใช้วิธี proportional stratified sampling (กัลยา, 2542) ได้กลุ่มตัวอย่างที่ทำเกษตรอินทรีย์ 47 ราย และกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์ 145 ราย จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างในแต่ละกลุ่มให้ได้จำนวนตามต้องการ

### เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ผู้วิจัยใช้แบบสัมภาษณ์เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล โดยสัมภาษณ์กลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่ม ได้แก่เกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์และเกษตรกรที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์ มีการตรวจสอบความเที่ยงตรงของแบบสัมภาษณ์ (content validity) และทดสอบความน่าเชื่อถือของแบบสัมภาษณ์ (reliability) โดยนำไปทดสอบกับเกษตรกร จำนวน 40 ราย ที่มีลักษณะคล้ายประชากรแต่ไม่ใช่ประชากรที่ใช้ศึกษา แล้วนำคำตอบที่ได้จากแบบสัมภาษณ์ตอนที่ 2 (ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกร) และตอนที่ 3 (ทัศนคติของเกษตรกรที่มีต่อการทำเกษตรอินทรีย์) มาวิเคราะห์ค่า Cronbach's alpha โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ ผลปรากฏว่า แบบสัมภาษณ์ที่มีค่า Cronbach's alpha ตอนที่ 2 เท่ากับ 0.820 ตอนที่ 3 เท่ากับ 0.825

## การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนา และการวิเคราะห์ถดถอยลอจิสติก (logistic regression) (Hill et al., 2007) เพื่อทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม

## ผลการศึกษา

### ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคม

ผลการวิจัยพบว่า กลุ่มตัวอย่างเกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์ ร้อยละ 68.0 เป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ย 52.57 ปี ส่วนใหญ่จบการศึกษาในระดับประถมศึกษาปีที่ 4 มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนระหว่าง 3-4 คน มีระยะเวลาประกอบอาชีพการเกษตรเฉลี่ย 22.28 ปี มีขนาดของพื้นที่ผลิตพืชเฉลี่ย 8.71 ไร่ มีจำนวนแรงงานน้อยกว่า 3 คน มีต้นทุนในการผลิตทางการเกษตรเฉลี่ย 36,676.81 บาทต่อปี ร้อยละ 61.7 มีหนี้สิน มีค่าใช้จ่ายภายในครัวเรือนเฉลี่ย 84,502.51 บาทต่อปี ร้อยละ 61.7 มีแหล่งเงินทุน ร้อยละ 29.3 มีตลาดจำหน่ายผลผลิตที่แน่นอน ได้รับข้อมูลข่าวสารในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์ 4-6 ครั้งต่อปี ร้อยละ 93.6 ได้รับการฝึกอบรมด้านเกษตรอินทรีย์ ร้อยละ 91.4 เคยติดต่อสื่อสารกับเกษตรกรรายอื่นในการทำเกษตรอินทรีย์ และร้อยละ 55.3 เคยติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์

สำหรับกลุ่มตัวอย่างเกษตรกรที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์ ร้อยละ 73.1 เป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ย 57.10 ปี ส่วนใหญ่จบการศึกษาในระดับประถมศึกษาปีที่ 4 มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนระหว่าง 3-4 คน มีระยะเวลาประกอบอาชีพการเกษตรเฉลี่ย 16.02 ปี มีขนาดของพื้นที่ผลิตพืชทั้งหมดเฉลี่ย 6.55 ไร่ มีจำนวนแรงงานน้อยกว่า 3 คน มีต้นทุนในการผลิตทางการเกษตรเฉลี่ย 29,136.21 บาทต่อปี ร้อยละ 61.3 มีหนี้สิน มีค่าใช้จ่ายภายในครัวเรือนเฉลี่ย 60,717.28 บาทต่อปี ร้อยละ 60.6 มีแหล่งเงินทุน ร้อยละ 66.2 มีตลาดจำหน่ายผลผลิตที่แน่นอน ได้รับข้อมูลข่าวสารในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์ 1-3 ครั้งต่อปี ร้อยละ 20.6 เคยได้รับการ

ฝึกอบรมด้านเกษตรอินทรีย์ ร้อยละ 20.0 เคยติดต่อสื่อสารกับเกษตรกรรายอื่นในการทำเกษตรอินทรีย์ ร้อยละ 13.1 เคยติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์

### ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์

เกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์มีคะแนนความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์เฉลี่ย 8.36 คะแนน จากคะแนนเต็ม 10 คะแนน ซึ่งอยู่ในระดับความรู้มาก ส่วนเกษตรกรที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์มีคะแนนความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์เฉลี่ย 5.90 คะแนน จากคะแนนเต็ม 10 คะแนน ซึ่งอยู่ในระดับความรู้ปานกลาง

### ทัศนคติของเกษตรกรที่มีต่อการทำเกษตรอินทรีย์

เกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์มีคะแนนทัศนคติเฉลี่ยรวม 4.02 คะแนน ซึ่งอยู่ในระดับเห็นด้วยมาก ส่วนเกษตรกรที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์มีคะแนนทัศนคติเฉลี่ยรวม 3.40 คะแนน ซึ่งอยู่ในระดับเห็นด้วยปานกลาง จากการวัดด้วย Likert's scale

### การยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์

ผลการวิจัยพบว่าเกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์ มีระดับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์เฉลี่ยรวม 11.47 คะแนน จากคะแนนเต็ม 16 คะแนน ซึ่งอยู่ในระดับการยอมรับการปฏิบัติมาก

### ปัญหาและอุปสรรค

ปัญหาและอุปสรรคของเกษตรกรที่มีต่อการทำเกษตรอินทรีย์พบว่า การทำเกษตรอินทรีย์เป็นเรื่องที่ยุ่งยาก เกษตรกรมีความรู้น้อย การควบคุมศัตรูพืชทำได้ยาก แหล่งจำหน่ายผลผลิตอินทรีย์มีจำกัด ต้องใช้เวลามากในการดูแลพืชที่ปลูก และไม่สามารถควบคุมหรือทำตามขั้นตอนการทำเกษตรอินทรีย์ได้ทุกประเด็น

### ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

การวิจัยครั้งนี้ใช้การวิเคราะห์ถดถอยลอจิสติก เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระหว่างตัวแปรอิสระกับตัวแปรตาม ซึ่งการวิเคราะห์ครั้งนี้ประกอบด้วยตัวแปรอิสระทั้งหมด 14 ตัว โดยแบ่งเป็นปัจจัยหลัก 5 ปัจจัย ได้แก่

1. ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล ได้แก่ เพศ อายุ จำนวนสมาชิกในครัวเรือน และระยะเวลาการประกอบอาชีพการเกษตร
2. ปัจจัยทางด้านเศรษฐกิจ ได้แก่ ขนาดของพื้นที่ผลิตพืช จำนวนแรงงาน ต้นทุนการผลิต ค่าใช้จ่ายประจำครัวเรือน แหล่งเงินทุน และตลาดจำหน่ายผลผลิต
3. ปัจจัยทางด้านสังคม ได้แก่ การได้รับข้อมูลข่าวสาร และการได้รับการฝึกอบรมในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์
4. ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์
5. ทัศนคติของเกษตรกรที่มีต่อการทำเกษตรอินทรีย์

ส่วนตัวแปรตามคือ การยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทำเกษตรอินทรีย์และเกษตรกรกลุ่มที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์ในตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

การวิจัยครั้งนี้ใช้แบบจำลอง logit model สามารถเขียนได้ดังนี้

$$\text{Logit}(Y) = \ln \left( \frac{\text{prob}_{\text{event}}}{1 - \text{prob}_{\text{event}}} \right) = b_0 + b_1X_1 + \dots + b_nX_n$$

ตัวแปรตาม

$Y$  = การยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์ของตำบลแม่หอพระอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ โดยการกำหนดค่า  $Y$  ดังนี้

0 = เกษตรกรที่ไม่ทำเกษตรอินทรีย์

1 = เกษตรกรที่ทำเกษตรอินทรีย์

**ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกร ตำบลแม่หอพระ  
อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่**

|                                                      |                                                                          |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| ตัวแปรอิสระ ได้แก่                                   | Inf = การได้รับข้อมูลข่าวสาร (จำนวนครั้งต่อปี)                           |
| Sex = เพศของเกษตรกร (เพศชาย = 1 เพศหญิง = 0)         | Tra = การได้รับการฝึกอบรม (เคย = 1 ไม่เคย = 0)                           |
| Age = อายุของเกษตรกร (ปี)                            | Kno = ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์ (คะแนนรวมทั้งหมด)                      |
| Mem = จำนวนสมาชิกในครัวเรือน (คน)                    | Att =ทัศนคติของเกษตรกรที่มีต่อการทำเกษตรอินทรีย์ (คะแนนเฉลี่ยรวมทั้งหมด) |
| Tim = ระยะเวลาการประกอบอาชีพการเกษตร (ปี)            | จากการวิเคราะห์ถดถอยลอจิสติก พบว่าได้ค่า                                 |
| Are = ขนาดของพื้นที่ผลิตพืชที่เกษตรกรมีอยู่ (ไร่)    | Chi-square เท่ากับ 150.246 model significant เท่ากับ                     |
| Lab = จำนวนแรงงานที่ใช้ในการเกษตร (คน)               | 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงว่ามีปัจจัยอย่างน้อย 1                  |
| Cos = ต้นทุนการผลิตที่เกษตรกรใช้เพื่อการเกษตร        | ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ และ                          |
| (บาท)                                                | พบว่ามีความ pseudo R square เท่ากับ 0.810 ซึ่งสามารถ                     |
| Exp = ค่าใช้จ่ายประจำครัวเรือนเกษตรกร (บาท)          | อธิบายเหตุการณ์ในการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ได้                          |
| Sup = แหล่งเงินทุน (มีแหล่งเงินทุน = 1 ของตนเอง = 0) | ถึงร้อยละ 81.00 ผลการทำนายค่าความถูกต้องของ                              |
| Mar = ตลาดจำหน่ายผลผลิต (มีตลาดจำหน่าย               | แบบจำลองที่ใช้ในการทำนายเท่ากับ 93.20% (ตาราง                            |
| ผลผลิตที่แน่นอน = 1 ไม่มีตลาดจำหน่าย                 | ที่ 1)                                                                   |
| ผลผลิตที่แน่นอน = 0)                                 |                                                                          |

**Table 1. Logistic regression analysis of significant independent variables and farmer's adoption in organic agriculture**

| Variables                                | Odd ratio | Marginal effect | Wald   | Significant | Mean     |
|------------------------------------------|-----------|-----------------|--------|-------------|----------|
| Constant                                 | 0.000***  | -0.599***       | 15.195 | 0.000       |          |
| Sex <sup>d</sup>                         | 2.388     | 0.025           | 1.153  | 0.283       | 0.72     |
| Age                                      | 0.910**   | -0.003**        | 4.473  | 0.034       | 55.99    |
| Number of household members              | 0.939     | -0.002          | .043   | 0.835       | 3.27     |
| Experience in farming                    | 1.082*    | 0.002*          | 3.485  | 0.062       | 17.55    |
| Agricultural Area                        | 0.857**   | -0.005**        | 4.409  | 0.036       | 7.08     |
| Number of agricultural labors            | 1.720**   | 0.019**         | 6.372  | 0.012       | 2.98     |
| Production cost                          | 1.000     | -0.000          | .823   | 0.364       | 30982.08 |
| Household expenses                       | 1.000     | 0.000           | 1.682  | 0.195       | 66539.70 |
| Money supplied <sup>d</sup>              | 2.805     | 0.033           | 1.504  | 0.220       | 0.61     |
| Product distribution market <sup>d</sup> | 0.411     | -0.030          | .877   | 0.349       | 0.72     |
| Getting information                      | 1.051     | 0.002           | 2.357  | 0.125       | 6.35     |
| Training on organic farming <sup>d</sup> | 84.207*** | 0.353***        | 20.289 | 0.000       | 0.38     |
| Knowledge of organic farming             | 2.711***  | 0.034***        | 9.764  | 0.002       | 6.50     |
| Attitudes towards organic farming        | 1.156***  | 0.005***        | 8.324  | 0.004       | 74.58    |

|        |                      |                                                    |         |
|--------|----------------------|----------------------------------------------------|---------|
| Note : | *** Significant 0.01 | Chi squared                                        | 150.246 |
|        | ** Significant 0.05  | Model significant                                  | 0.000   |
|        | * Significant 0.10   | Pseudo R <sup>2</sup> (Nagelkerke R <sup>2</sup> ) | 0.810   |
|        | d dummy variable     | Accuracy prediction                                | 93.20%  |

ในบรรดาตัวแปรที่นำเข้าสู่สมการพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกร ตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ได้แก่ 1) การได้รับการฝึกอบรมเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์ 2) ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์ และ 3)ทัศนคติในการทำเกษตรอินทรีย์ ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ได้แก่ 1) อายุของเกษตรกร 2) ขนาดของพื้นที่ผลิตพืชที่เกษตรกรมีอยู่ และ 3) จำนวนแรงงานที่ใช้ในการเกษตร และปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.10 ได้แก่ ระยะเวลาประกอบอาชีพการเกษตร

### อภิปรายผล

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ สามารถอภิปรายความสัมพันธ์ของตัวแปรได้ดังนี้

#### อายุของเกษตรกร

มีความสัมพันธ์เชิงลบกับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของตัวแปรนี้จากค่า odd ratio เท่ากับ 0.910 สามารถอธิบายได้ว่า หากเกษตรกรมีอายุมากขึ้น 1 ปี มีโอกาสที่เกษตรกรเหล่านี้จะยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ลดลง 1 เท่า ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าเกษตรกรที่มีอายุน้อยมีความเป็นเกษตรกรรุ่นใหม่ ที่มีความรู้และความพร้อมในการพัฒนาความรู้ใหม่ ๆ ตลอดจนการตัดสินใจยอมรับในการทำเกษตรอินทรีย์มีมากกว่าเกษตรกรที่มีอายุมาก ส่วนเกษตรกรที่มีอายุมากจะมีวิธีการทำการเกษตรแบบเดิม ๆ ที่คุ้นเคยและไม่กล้าลองทำสิ่งใหม่ ๆ จึงไม่ค่อยมีการยอมรับการทำเกษตร

#### ระยะเวลาประกอบอาชีพการเกษตร

มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของตัวแปรนี้จากค่า odd ratio เท่ากับ 1.082 สามารถอธิบายได้ว่า หาก

เกษตรกรมีระยะเวลาประกอบอาชีพการเกษตรเพิ่มขึ้น 1 ปี มีโอกาสที่เกษตรกรเหล่านี้จะยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มขึ้น 1 เท่า อาจเป็นเพราะว่า เกษตรกรที่ทำการเกษตรเป็นเวลานานมีความรู้ ความเข้าใจในเรื่องของการเกษตรมากกว่าเกษตรกรที่มีระยะเวลาทำการเกษตรน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของยุทธพล และดุฎิ (2554) ทำการศึกษาเรื่องความรู้ ทัศนคติ และการปฏิบัติในการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในการปลูกข้าวของเกษตรกร อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย พบว่าเกษตรกรที่มีประสบการณ์ในการใช้ปุ๋ยอินทรีย์หลาย ๆ ปี ทำให้เกษตรกรมีการสะสมความรู้ ความชำนาญ ส่งผลให้เกิดการปฏิบัติเกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในการปลูกข้าวที่ดี และดีกว่าเกษตรกรที่มีประสบการณ์น้อยกว่า

#### ขนาดของพื้นที่ผลิตพืชที่เกษตรกรมีอยู่

มีความสัมพันธ์เชิงลบกับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของตัวแปรนี้จากค่า odd ratio เท่ากับ 0.857 สามารถอธิบายได้ว่า หากเกษตรกรมีขนาดพื้นที่ผลิตพืชเพิ่มขึ้น 1 ไร่ มีโอกาสที่เกษตรกรเหล่านี้จะยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ลดลง 1 เท่า ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของกองแก้ว และจุจ (2554) ทำการศึกษาเรื่องปัจจัยที่สัมพันธ์กับการปฏิบัติตามมาตรฐานการปลูกข้าวอินทรีย์ของเกษตรกรในอำเภอสังขละบุรี นครหลวงเวียงจันทน์ สปป.ลาว พบว่าขนาดพื้นที่ปลูกข้าวอินทรีย์มีผลเชิงบวกกับระดับการปฏิบัติตามมาตรฐานการปลูกข้าวอินทรีย์ อาจเป็นเพราะว่าเกษตรกรในตำบลแม่หอพระส่วนใหญ่มีความเห็นว่าการมีพื้นที่ทางการเกษตรน้อยสามารถดูแลและจัดการระบบการทำเกษตรในพื้นที่ได้ง่ายกว่าพื้นที่มาก

#### จำนวนแรงงานที่ใช้ในการเกษตร

มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของตัวแปรนี้จากค่า odd ratio เท่ากับ 1.720 สามารถอธิบายได้ว่า หากเกษตรกรมีจำนวนแรงงานเพิ่มขึ้น 1 คน มีโอกาสที่เกษตรกรเหล่านี้จะยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มขึ้น 2 เท่า เนื่องจากการทำเกษตรอินทรีย์ต้องลดการใช้เครื่องจักร ลดการใช้สารเคมีต่าง ๆ ในขั้นตอนการเตรียม

แปลงปลูก การผลิต การดูแล ตลอดจนการเก็บเกี่ยว เพื่อลดการปนเปื้อนของสารพิษที่อาจตกค้าง และเลือกการใช้วิธีการเช่น ใช้แรงงานคนในการถอนหญ้าแทนการใช้กำจัดวัชพืช (วิฑูรย์, 2545) จึงทำให้ต้องใช้แรงงานในการเกษตรมากขึ้น

### การได้รับการฝึกอบรมในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์

มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของตัวแปรนี้มีค่า odd ratio เท่ากับ 84.207 สามารถอธิบายได้ว่า เกษตรกรที่ได้รับการฝึกอบรมในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์ จะมีความน่าจะเป็นที่จะยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มขึ้นถึง 82 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับเกษตรกรที่ไม่ได้รับการอบรมเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์อาจเป็นเพราะว่า การที่เกษตรกรได้รับการอบรมในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์มากส่งผลทำให้เกษตรกรเกิดความสนใจ และเกิดความเข้าใจในการทำเกษตรอินทรีย์มากขึ้นจึงเกิดการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของณัฐภูมิ และพหล (2559) ทำการศึกษาเรื่องการยอมรับการผลิตมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสม ของเกษตรกรในอำเภอสามโก้ จังหวัดอ่างทอง พบว่าการได้รับการฝึกอบรมในรอบ 3 ปีที่ผ่านมามีความสัมพันธ์กับการผลิตมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

### ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์

มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของตัวแปรนี้มีค่า odd ratio เท่ากับ 2.711 สามารถอธิบายได้ว่า หากเกษตรกรมีความรู้ในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์มากขึ้น 1 คะแนน มีโอกาสที่จะยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มขึ้น 3 เท่า อาจเป็นเพราะว่า การที่เกษตรกรมีความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์มากส่งผลให้เกษตรกรเกิดความเข้าใจในการทำเกษตรอินทรีย์ สามารถทำได้อย่างถูกวิธี กล้าตัดสินใจและลงมือทำเกษตรอินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของไพบุลย์ และคณะ (2540) ทำการศึกษาเรื่องปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจในการปลูกกาแฟอาราบิก้าบนที่สูงพบว่าผู้ปลูกกาแฟที่มีความรู้ความเข้าใจอย่าง

ถูกต้องเกี่ยวกับการปลูกกาแฟจะทำให้การยอมรับการปลูกกาแฟเพิ่มมากขึ้น

### ทัศนคติของเกษตรกรที่มีต่อการทำเกษตรอินทรีย์

มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของตัวแปรนี้มีค่า odd ratio เท่ากับ 1.156 สามารถอธิบายได้ว่า หากเกษตรกรมีคะแนนทัศนคติเพิ่มขึ้น 1 คะแนน มีโอกาสที่เกษตรกรเหล่านั้นจะยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์เพิ่มขึ้น 1 เท่า อาจเป็นเพราะว่า เกษตรกรมีทัศนคติที่ดีต่อการทำเกษตรอินทรีย์จะมีความสนใจ และต้องการหาความรู้วิธีการใหม่ในการทำเกษตรอินทรีย์ เพื่อให้การทำเกษตรอินทรีย์เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของทัศนคติต่อการประกอบอาชีพเกษตรของคันสนีย์ และคณะ (2559) ทำการศึกษาเรื่อง ปัจจัยที่สัมพันธ์กับแรงจูงใจของทายาทเกษตรกรในการสานต่ออาชีพเกษตรใน อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าทัศนคติต่อการประกอบอาชีพเกษตรของทายาทเกษตรกรมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับแรงจูงใจในการสาน ต่ออาชีพเกษตรของทายาทเกษตรกร

## สรุป

จากการวิจัยครั้งนี้พบว่าปัจจัยที่ทำให้การยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรตำบลแม่หอพระเพิ่มขึ้น ได้แก่ ระยะเวลาประกอบอาชีพทางการเกษตร จำนวนแรงงานที่ใช้ในการทำการเกษตร การฝึกอบรมในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์ ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์ และทัศนคติของเกษตรกรมีต่อการทำเกษตรอินทรีย์ ส่วนปัจจัยที่ทำให้การยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ของเกษตรกรตำบลแม่หอพระลดลงได้แก่ อายุและขนาดพื้นที่ทางการเกษตร

ในส่วนของปัญหาและอุปสรรคของเกษตรกรที่มีต่อการทำเกษตรอินทรีย์พบว่า การทำเกษตรอินทรีย์เป็นเรื่องที่ยุ่งยาก เกษตรกรมีความรู้ที่น้อย การควบคุมศัตรูพืชทำได้ยาก แหล่งจำหน่ายผลผลิตอินทรีย์มีจำกัด ต้องใช้เวลามากในการดูแลพืชที่ปลูก และไม่สามารถควบคุมหรือทำตามขั้นตอนการทำเกษตรอินทรีย์ได้หมด ดังนั้น

เจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องของควรสนับสนุนงบประมาณ มีการติดตามและแนะนำการทำเกษตรอินทรีย์ให้แก่เกษตรกรอย่างสม่ำเสมอ

### ข้อเสนอแนะ

1. เจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรให้ความรู้ในการทำเกษตรอินทรีย์ให้กับเกษตรกรที่มีอายุน้อย เพราะเกษตรกรเหล่านี้สามารถเรียนรู้เร็วและยอมรับเทคโนโลยีใหม่ ๆ ได้ดี และควรโน้มน้าวให้ความรู้ อธิบายถึงข้อดีของการทำเกษตรอินทรีย์ ให้กับเกษตรกรที่มีอายุมาก เพื่อให้เห็นถึงประโยชน์ที่ได้จากการทำเกษตรอินทรีย์และชักนำให้เกิดการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์มากขึ้น

2. เจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรส่งเสริมเกษตรกรที่ประกอบอาชีพการเกษตรมานานเป็นอันดับแรก เพราะเกษตรกรที่ประกอบอาชีพการเกษตรมานาน จะมีประสบการณ์ในการทำการเกษตรค่อนข้างมากกว่าเกษตรกรที่เริ่มประกอบอาชีพการเกษตร ซึ่งสามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในพื้นที่ของตนเองได้ และพยายามชักจูงหรือให้ความรู้ ความเข้าใจ และชี้ให้เห็นผลประโยชน์ในการทำเกษตรอินทรีย์แก่เกษตรกรที่มีประสบการณ์หรือประกอบอาชีพการเกษตรมาไม่นาน

3. เจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรเน้นการส่งเสริมการทำเกษตรอินทรีย์ให้กับเกษตรกรที่มีพื้นที่ทางการเกษตรไม่เกิน 10 ไร่ ก่อนเพราะเกษตรกรที่มีพื้นที่ทางการเกษตรน้อยสามารถดูแลและจัดการระบบการผลิตได้ง่ายกว่าเกษตรกรที่มีพื้นที่มาก และควรแนะแนวทางให้เกษตรกรที่มีพื้นที่ผลิตพืชมาก ให้รู้จักแบ่งพื้นที่เพื่อทำเกษตรอินทรีย์และเป็นการลดต้นทุนทางการผลิต

4. เจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีการสำรวจจำนวนแรงงานในการทำการเกษตรว่ามีเพียงพอหรือไม่ ซึ่งถ้าเกษตรกรมีจำนวนแรงงานที่เพียงพอหรือมากกว่า 3 คน มีโอกาสที่เกษตรกรจะยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์มากยิ่งขึ้น

5. เจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีการจัดฝึกอบรมในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์ให้แก่

เกษตรกรอย่างต่อเนื่อง เพื่อกระตุ้นให้เกษตรกรยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์มากขึ้น

6. เจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรให้ความรู้ในเรื่องการทำเกษตรอินทรีย์แก่เกษตรกร เช่น ความรู้ในเรื่องของปุ๋ยอินทรีย์ที่นำมาใช้ วิธีการทำปุ๋ยอินทรีย์และทำน้ำหมักชีวภาพ วิธีการกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกวิธี ตลอดจนความรู้ในเรื่องของกระบวนการผลิตต่างๆ โดยมีการสาธิตวิธีการต่าง ๆ หรือมีการทำแปลงทดลองให้เกษตรกรดูเป็นตัวอย่าง เพื่อเป็นการกระตุ้นให้เกษตรกรยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์มากยิ่งขึ้น

7. เจ้าหน้าที่ส่งเสริมหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรกระตุ้นให้เกษตรกรมีทัศนคติที่ดีต่อการทำเกษตรอินทรีย์เช่น ให้ความรู้แก่เกษตรกรในเรื่องข้อดีของการทำเกษตรอินทรีย์ สาธิตวิธีการทำเกษตรอินทรีย์ให้ชัดเจนตรงตามความต้องการของเกษตรกร สนับสนุนงบประมาณในการจัดซื้อวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ เพื่ออำนวยความสะดวกสบายให้กับเกษตรกร ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรเกิดการปรับเปลี่ยนทัศนคติที่ดียิ่งขึ้นส่งผลให้เกิดการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ มากยิ่งขึ้น

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนทุนวิจัยจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และขอขอบคุณผู้ประสานงานภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตรทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนเกษตรกรตำบลแม่หอพระ อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือและให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์กับงานวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- กัลยา วาณิชย์บัญชา. 2542. การวิเคราะห์สถิติ: สถิติเพื่อการตัดสินใจ. พิมพ์ครั้งที่ 4. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- กองแก้ว อินทวงศ์ และ รุจ ศิริสัญลักษณ์. 2554. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการปฏิบัติตามมาตรฐานการปลูกข้าวอินทรีย์ของเกษตรกรในอำเภอสังขละบุรี นคร

- หลวงเวียงจันทร์ สปป.ลาว. วารสารเกษตร 27(2): 129-136.
- ชนวน รัตนวราหะ. 2550. เกษตรอินทรีย์. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- ณัฐวุฒิ จันทอง และ พหล ศักดิ์คะหัตน์. 2559. การยอมรับการผลิตมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสมของเกษตรกรในอำเภอสามใต้ จังหวัดอ่างทอง. วารสารเกษตร 32(1): 19-27.
- ตะวัน ห่างสูงเนิน พงษ์ศักดิ์ อังกลิทธิ อวรรณ โอบาส พัฒนกิจ และ รุจ ศิริสัจญ์ลักษณ์. 2557. ระบบเกษตรอินทรีย์ในบริบทของเศรษฐกิจพอเพียง: กรณีศึกษาเกษตรกรผู้ผลิตเกษตรอินทรีย์ ในเขตลุ่มน้ำแม่มิ จังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 30(1): 61-69.
- ไพฑูริย์ สุทธสุภา นรินทร์ชัย พัฒนพงศา และสนิท วงศ์ประเสริฐ. 2540. ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจในการปลูกกาแฟอาราบิก้าบนที่สูง. วารสารเกษตร 13(3): 274-279.
- ยุทธพล ทองปรีชา และ ดุษฎี ณ ลำปาง. 2554. ความรู้ทัศนคติ และการปฏิบัติในการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในการปลูกข้าวของเกษตรกร อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย. วารสารเกษตร 27(1): 1-10.
- วิฑูรย์ ปัญญากุล. 2545. ความรู้เบื้องต้นเกษตรอินทรีย์. มูลนิธิสืบนาคะเสถียร, กรุงเทพฯ.
- คันสนีย์ กระจำโนม สุดาร์ตน์ อุทธารัตน์ ณัฐสิริทธิ์ ศรีนุรักษ์ และ อุบลรัตน์ หยาไส. 2559. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับแรงจูงใจของทนายเกษตรในการสานต่ออาชีพเกษตรในอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(1): 29-38.
- Hill, R.C., W.E. Griffiths and G.C. Lim. 2007. Principles of Econometrics. 3<sup>rd</sup> ed. John Wiley and Sons, New York.
- Yamane, T. 1973. Statistics: An Introductory Analysis. 3<sup>rd</sup> ed. Harper and Row, New York.





# ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเกษตรกรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของ เกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่

Factors Affecting Farmers' Adoption in Good Agricultural Practices for Safe Vegetable  
Production in Mae Tha Nuea Royal Project Development Center,  
Chiang Mai Province

จากรุวรรณ ฟุตัน<sup>1</sup> สุรพล เศรษฐบุตร<sup>1\*</sup> วรทัศน์ อินทรคัมพร<sup>1</sup> และ ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข<sup>2</sup>  
Charuwan Footan<sup>1</sup>, Suraphol Sreshtaputra<sup>1\*</sup>, Wallratat Intrauccomporn<sup>1</sup>  
and Tanachai Pankasemsuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup>Department of Agriculture Economy and Development, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>2</sup>ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup>Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

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

(Received: 10 January 2017; Accepted: 28 July 2017)

**Abstract:** The objectives of this research were to study 1) general backgrounds of personal, economic, social and knowledge of farmers 2) factors affecting farmer's adoption in good agricultural practices for safe used vegetable production 3) problems and recommendations of farmers in Mae Tha Nuea Royal Project Development Center, Chiang Mai province. The sample size was 137 members of farmers who participated in good agricultural practices for safe used vegetable production in Mae Tha Nuea Royal Project Development Center, Chiang Mai province. The research tools were open-ended and close-ended questionnaires and the collected data were analyzed by using statistical method including percentage, mean, standard deviation, minimum and maximum value as well as multiple regression analysis and Chi-square test was used to examine the research hypothesis. From research finding, It was found that factors affecting farmers' adoption in good agricultural practices for safe used vegetable production are statistically significant at the 0.05 include 1) training about safe used vegetable production and 2) knowledge of good agricultural practices for safe used vegetable production. Problems and obstacles was found that farmer are experiencing problems and recommendation of plant cultivation, plant diseases and insects, harvesting, and marketing for safe used vegetable production.

**Keywords:** Adoption, safe used vegetable production, good agricultural practices

**บทคัดย่อ:** การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา 1) ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ สังคม และความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมของเกษตรกรผู้ปลูกผักปลอดภัย 2) ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย 3) ปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะต่อเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกร กลุ่มตัวอย่างเกษตรกรที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้เป็นผู้ที่เข้าร่วมโครงการเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 137 คน เก็บข้อมูลโดยใช้แบบสัมภาษณ์ซึ่งมีทั้งคำถามปลายปิดและปลายเปิด วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ สถิติเชิงพรรณนา และใช้การวิเคราะห์ถดถอยพหุ และไค-สแควร์ เพื่อทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม ผลการศึกษาพบว่า มีตัวแปรอิสระ 2 ตัวแปร ที่มีความสัมพันธ์กับการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ได้แก่ 1) การได้รับฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัย และ 2) ความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย เกษตรกรส่วนใหญ่ประสบกับปัญหาและข้อเสนอแนะในการปลูกผักปลอดภัย ในด้านการเพาะปลูก การดูแลแปลงปลูก การป้องกันโรคและแมลง การเก็บเกี่ยว และการตลาด

**คำสำคัญ:** การยอมรับ การปลูกผักปลอดภัย เกษตรดีที่เหมาะสม

## คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคมักประสบปัญหาสารตกค้างในพืชผัก อันเนื่องมาจากการใช้สารเคมีป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่ไม่ถูกต้องไม่เหมาะสม และไม่ระมัดระวังของเกษตรกรผู้ผลิต ทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นผู้บริโภคจึงควรพิจารณาเลือกซื้อผักที่ปลอดภัยจากสารพิษ (นันทิรา, 2557) เหตุผลดังกล่าวได้ส่งผลให้เกษตรกรที่มีศักยภาพได้พยายามปรับเปลี่ยนระบบการผลิตและการจัดการที่เน้นคุณภาพมากขึ้น และคำนึงถึงความปลอดภัยของผลผลิตต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะการลดใช้สารเคมี

ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นศูนย์พัฒนาแห่งหนึ่งของมูลนิธิโครงการหลวง ที่ได้เน้นการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะปลูกพืชผักภายใต้ระบบการเกษตรดีที่เหมาะสม (good agricultural practice: GAP) และการใช้ปัจจัยชีวภาพในการป้องกันและกำจัดโรคและแมลง เพื่อให้ได้พืชผักที่ปลอดภัยจากสารพิษที่มีปริมาณและประสิทธิภาพในการผลิตที่สอดคล้องกับความต้องการของตลาดด้วย รวมทั้งได้มีการส่งเสริมและการสนับสนุนให้เกษตรกรปลูกพืชผักตามการปฏิบัติทางการเกษตรดีที่เหมาะสมมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545

แต่การยอมรับของเกษตรกรยังไม่แพร่หลาย เนื่องจากเกษตรกร เป็นชาวพื้นเมืองและชาวไทยภูเขาเผ่าปกาเกอญอ ยังมีการทำการเกษตรในระบบเคมี และประสบการณ์การปลูกผักปลอดภัยให้ได้ตามมาตรฐานยังน้อย รวมทั้งมีการบุกรุกทำลายป่าเพื่อการเกษตรกรรม เช่น การทำนา การปลูกพืชทอง และการปลูกข้าวโพดอ่อน ส่งจำหน่ายให้แก่โรงงาน เกษตรกรจึงมีรายได้ค่อนข้างต่ำและมีสภาพความเป็นอยู่ไม่ดีเท่าที่ควร ประกอบกับการส่งเสริมการปลูกผักในโครงการมุ่งเน้นให้เกษตรกรปฏิบัติตามหลักวิชาการ แต่ในปัจจุบันได้เน้นการส่งเสริมการปลูกพืชผักให้ได้ตามมาตรฐาน และการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมให้เกิดความยั่งยืนอย่างต่อเนื่องในพื้นที่ (มูลนิธิโครงการหลวง, 2555)

เกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการเกษตรดีที่เหมาะสมในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ เป็นตัวอย่างหนึ่งของกลุ่มเกษตรกรที่มีการยอมรับในการปรับเปลี่ยนรูปแบบการผลิตจากระบบเกษตรเคมีมาเข้าสู่ระบบเกษตรดีที่เหมาะสมอย่างแพร่หลาย การศึกษาในครั้งนี้ต้องการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรของศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่

## อุปกรณ์และวิธีการ

### ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษา คือ เกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยทั้งหมด 3 ตำบล 14 หมู่บ้าน คือ ตำบลออนเหนือ 2 คน ตำบลทาเหนือ 148 คน และตำบลแม่ทา 58 คน จำนวนทั้งหมด 208 คน ทำการกำหนดขนาดตัวอย่างโดยใช้สูตรการคำนวณหาขนาดกลุ่มตัวอย่างของ Taro Yamane (Yamane, 1973) โดยขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่คำนวณได้ทั้งหมด 137 คน และใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (simple random sampling)

### เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ผู้วิจัยใช้แบบสัมภาษณ์ เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล โดยกำหนดขอบเขตคำถามตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย ซึ่งประกอบด้วยคำถามปลายเปิด (open-ended question) และคำถามปลายปิด (close-ended question) โดยมีการตรวจสอบความถูกต้องตามเนื้อหา (content validity) แล้วจึงนำไปทดสอบกับประชากรที่มีลักษณะใกล้เคียงกับประชากรที่ใช้ศึกษาเป็นจำนวน 20 คน แล้วนำคำตอบที่ได้จากแบบสัมภาษณ์ตอนที่ 2 (ความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย) ตอนที่ 3 (การยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย) มาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาค่า reliability coefficients ตามวิธีการของ Cronbach (กัลยา, 2548) ปรากฏว่า แบบสัมภาษณ์แต่ละตอน มีค่าสัมประสิทธิ์อัลฟา (Cronbach's alpha) ดังนี้ ตอนที่ 2 ความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย มีค่าสัมประสิทธิ์อัลฟา เท่ากับ 0.951 และ ตอนที่ 3 การยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยมีค่าสัมประสิทธิ์อัลฟา เท่ากับ 0.746 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้อคำถามทั้งสองตอนมีค่า reliability coefficients เพียงพอที่จะใช้เก็บข้อมูลจริงต่อไปได้

### การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูปเพื่อการวิจัยทางสังคมศาสตร์ สถิติที่ใช้ ได้แก่ สถิติพรรณนา

การวิเคราะห์ถดถอยพหุ และไค-สแควร์ เพื่อทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม

## ผลการศึกษา

### ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคม

ผลการวิจัยพบว่า กลุ่มตัวอย่างเกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการเกษตรดีที่เหมาะสมของศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จำนวนร้อยละ 54.01 เป็นเพศชาย มีอายุระหว่าง 41-50 ปี เฉลี่ย 46.15 ปี ส่วนใหญ่เป็นชนเผ่ากระเหรี่ยงคิดเป็นจำนวนร้อยละ 68.61 จบการศึกษาในระดับประถมศึกษาเป็นจำนวนร้อยละ 52.55 มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือน 2-4 คน มีระยะเวลาในการเข้าร่วมเป็นสมาชิกละ 5 ปี และมีประสบการณ์ในการปลูกผักปลอดภัยน้อยกว่า 5 ปี กลุ่มตัวอย่างเกษตรกรปลูกผักปลอดภัยของศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ มีขนาดพื้นที่ถือครองเฉลี่ย 6.19 ไร่ มีจำนวนแรงงานในครัวเรือนน้อยกว่า 2 คน มีต้นทุนในการผลิตผักปลอดภัยเฉลี่ย 6,602.19 บาท/ไร่ เกษตรกรร้อยละ 92.70 มีรายได้ในครัวเรือนเฉลี่ย 96,196.06 บาท/ปี ร้อยละ 89.05 เป็นผู้ที่มีหนี้สินในครัวเรือนเฉลี่ย 55,127.74 บาท/ปี ร้อยละ 59.85 เกษตรกรทั้งหมดจำหน่ายผลผลิตให้ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ เกษตรกรปลูกผักปลอดภัยจำนวนร้อยละ 94.89 เคยได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัย เกษตรกรร้อยละ 94.16 เคยได้รับการฝึกอบรม และเกษตรกรร้อยละ 97.08 เคยได้รับการส่งเสริมและการสนับสนุนให้ความรู้ในการปลูกผักปลอดภัยจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร

### ความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย

จากการทดสอบความรู้ เรื่องเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย โดยใช้คำถามจำนวน 23 ข้อ มีการแบ่งระดับการวัดออกเป็น 3 ระดับ คือ มีความรู้มาก = 3 คะแนน มีความรู้ปานกลาง = 2 คะแนน และมีความรู้่น้อย = 1 คะแนน โดยมีคะแนนเต็ม 69.00 คะแนน พบว่า เกษตรกรร้อยละ 97.81 มีความรู้อยู่ในระดับมาก

รองลงมาร้อยละ 1.46 มีความรู้อยู่ในระดับปานกลาง และร้อยละ 0.73 มีความรู้อยู่ในระดับน้อย โดยมีคะแนนต่ำสุด 31.00 คะแนน คะแนนสูงสุด 69.00 คะแนน คะแนนเฉลี่ย 64.91 คะแนน และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 5.034

### การยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย

จากการทดสอบการยอมรับ เรื่องเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย โดยใช้คำถามจำนวน 20 ข้อ มีการแบ่งระดับการวัดออกเป็น 2 ระดับ คือ ปฏิบัติ = 1 คะแนน ไม่ปฏิบัติ = 0 คะแนน โดยมีคะแนนเต็ม 20.00 คะแนน พบว่าเกษตรกรร้อยละ 98.54 มีการยอมรับการปฏิบัติอยู่ในระดับมาก และร้อยละ 1.46 มีการยอมรับการปฏิบัติอยู่ในระดับปานกลาง โดยมีคะแนนต่ำสุด 9.00 คะแนน คะแนนสูงสุด 20.00 คะแนน คะแนนเฉลี่ย 17.98 คะแนน และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.884

### การทดสอบสมมติฐาน

การวิจัยในครั้งนี้ได้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระได้แก่ ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ สังคม และความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสม และตัวแปรตามคือ การยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรของศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ โดยสถิติที่ใช้ คือ การวิเคราะห์ถดถอยพหุ และการทดสอบไค-สแควร์

### ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคมของเกษตรกรปลูกผักปลอดภัยกับการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่

การวิจัยในครั้งนี้ ใช้การวิเคราะห์ถดถอยพหุ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามว่าตัวแปรอิสระแต่ละตัวมีความสัมพันธ์มากน้อยเพียงใดกับตัวแปรตาม ซึ่งมีทั้งหมด 16 ตัวแปร โดยแบ่งออกเป็น 4 ปัจจัย คือ

1. ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล ได้แก่
    1. เพศ
    2. อายุ
    3. ชนเผ่า
    4. ระดับการศึกษา
    5. จำนวนสมาชิกในครัวเรือน
    6. ระยะเวลาในการเข้าร่วมเป็นสมาชิกศูนย์พัฒนาโครงการหลวง
    7. ประสบการณ์ในการปลูกผักปลอดภัย
  2. ปัจจัยทางด้านเศรษฐกิจ ได้แก่
    1. ขนาดของพื้นที่ถือครอง
    2. จำนวนแรงงานในครัวเรือน
    3. ต้นทุนการผลิต
    4. รายได้ในครัวเรือน
    5. หนี้สินในครัวเรือน
  3. ปัจจัยทางด้านสังคม ได้แก่
    1. การได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัย
    2. การได้รับฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัย
    3. การได้รับการส่งเสริมและการสนับสนุนด้านความรู้ในการปลูกผักปลอดภัยจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร
  4. ปัจจัยทางด้านความรู้ ได้แก่
    1. ความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย
- ส่วนตัวแปรตาม คือ การยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่
- เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระแต่ละคู่ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson product moment correlation) พบว่า ไม่มีตัวแปรอิสระคู่ใดที่มีความสัมพันธ์กันสูงกว่า 0.70 ที่ก่อให้เกิดปัญหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระด้วยตนเอง (multicollinearity)
- การวิจัยครั้งนี้มีแบบจำลองสามารถเขียนสมการ ได้ดังนี้

$$Y = a + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + \dots + b_{16}x_{16}$$

เมื่อ  $Y$  = การยอมรับเกษตรกรที่เหมาะสมในการ  
ปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการ  
หลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่

ตัวแปรอิสระ ได้แก่

- $X_1$  = เพศ (1 = เพศชาย, 0 = เพศหญิง)
- $X_2$  = อายุ (ปี)
- $X_3$  = ระดับการศึกษา (ปี)
- $X_4$  = ชนเผ่า (1 = คนเมือง, 0 = กระเหรี่ยง)
- $X_5$  = จำนวนสมาชิกในครัวเรือน (คน)
- $X_6$  = ระยะเวลาในการเข้าร่วมเป็นสมาชิกศูนย์  
พัฒนาโครงการหลวง (ปี)
- $X_7$  = ประสบการณ์ในการปลูกผักปลอดภัย (ปี)
- $X_8$  = ขนาดพื้นที่ถือครอง (ไร่)
- $X_9$  = จำนวนแรงงานในครัวเรือน (คน)
- $X_{10}$  = ต้นทุนการผลิต (บาท/ไร่)
- $X_{11}$  = รายได้ในครัวเรือน (บาท/ปี)
- $X_{12}$  = หนี้สินในครัวเรือน (บาท/ปี)
- $X_{13}$  = การได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกผัก  
ปลอดภัย (1 = เคย, ไม่เคย = 0)
- $X_{14}$  = การได้รับฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผัก  
ปลอดภัย (1 = เคย, ไม่เคย = 0)
- $X_{15}$  = การได้รับการส่งเสริมและการสนับสนุนด้าน  
ความรู้ในการ ปลูกผักปลอดภัยจากเจ้าหน้าที่  
ส่งเสริมการเกษตร (1 = เคย, ไม่เคย = 0)
- $X_{16}$  = ความรู้เกี่ยวกับเกษตรกรที่เหมาะสมในการปลูก  
ผักปลอดภัยการเกษตร (คะแนนรวมทั้งหมด)

จากการวิเคราะห์ถดถอยพหุโดยการนำตัวแปร  
เข้าไปในสมการโดยวิธีปกติ (enter) ผลปรากฏว่าได้ค่า  $F$   
เท่ากับ 3.276 Sig เท่ากับ 0.000 พบว่า มีตัวแปรอิสระ  
เพียง 2 ตัวแปรที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทาง  
สถิติกับตัวแปรตาม (การยอมรับเกษตรกรที่เหมาะสมใน  
การปลูกผักปลอดภัย) และเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์  
แห่งการตัดสินใจเชิงพหุ (multiple coefficient of  
determination:  $R^2$ ) ปรากฏว่า  $R^2$  เท่ากับ 0.353  
หมายความว่า ตัวแปรอิสระทั้งหมดร่วมกันอธิบายการผัน  
แปรของตัวแปรตามได้ ร้อยละ 35.3 ซึ่งตัวแปรอิสระ  
จำนวน 2 ตัวแปร มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับตัวแปร  
ตามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ได้แก่ 1) การ

ได้รับฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัย และ 2)  
ความรู้เกี่ยวกับเกษตรกรที่เหมาะสมในการปลูกผัก  
ปลอดภัย (ตารางที่ 1)

**ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางด้านเศรษฐกิจ  
(แหล่งตลาดผักปลอดภัย) กับการยอมรับเกษตรกรที่  
เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรใน  
ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัด  
เชียงใหม่**

การวิจัยในครั้งนี้ใช้การทดสอบไค-สแควร์ เพื่อ  
หาความเกี่ยวข้องกันระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม  
ในการทดสอบสมมติฐาน ซึ่งมี 2 ตัวแปร คือ ปัจจัย  
ทางด้านเศรษฐกิจ ได้แก่ แหล่งตลาดผักปลอดภัย ส่วนตัว  
แปรตาม คือ การยอมรับเกษตรกรที่เหมาะสมในการปลูก  
ผักปลอดภัยของเกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่  
ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ จากการวิเคราะห์ความ  
เกี่ยวข้องกันระหว่างแหล่งตลาดผักปลอดภัยกับการ  
ยอมรับเกษตรกรที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของ  
เกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัด  
เชียงใหม่ พบว่า ค่าไค-สแควร์ ( $\chi^2$ ) ที่คำนวณได้เท่ากับ  
0.071 และมีค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05  
เท่ากับ 0.965 ซึ่งมากกว่า 0.05 หมายความว่า แหล่ง  
ตลาดผักปลอดภัย ไม่มีความสัมพันธ์กับการยอมรับ  
เกษตรกรที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกร  
ในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่

## วิจารณ์

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเกษตรกรที่  
เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรในศูนย์  
พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่  
สามารถอภิปรายความสัมพันธ์ของตัวแปรได้ดังนี้

**การได้รับการฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผัก  
ปลอดภัย** เกษตรกรผู้ปลูกผักปลอดภัยที่ได้รับการ  
ฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัย จะมีการยอมรับ  
เกษตรกรที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยมากกว่า  
เกษตรกรที่ไม่ได้รับการฝึกอบรม เนื่องจากเกษตรกรที่

Table 1. Multiple regression analysis of independent variables and farmer's adoption in good agricultural practices for safe used vegetable production

| Variables     |                                                                                                                            | B           | t         | P-value          |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------|------------------|
| Constant      |                                                                                                                            | 4.195       | 1.299     | 0.197            |
| 1             | Sex (1 = man, 0 = woman)                                                                                                   | -0.389      | -1.141    | 0.257            |
| 2             | Age (year)                                                                                                                 | 0.016       | 0.596     | 0.552            |
| 3             | Ethnic (1= native thai, 0 = karen)                                                                                         | 0.108       | 0.271     | 0.787            |
| 4             | Education (year)                                                                                                           | 0.019       | 0.320     | 0.749            |
| 5             | Number of household members (number)                                                                                       | -0.114      | -0.915    | 0.363            |
| 6             | Time span of member (year)                                                                                                 | -0.029      | -0.716    | 0.476            |
| 7             | Experience in safe used vegetable production (year)                                                                        | 0.018       | 0.303     | 0.762            |
| 8             | Size of the crop area (rai)                                                                                                | -0.049      | -1.014    | 0.313            |
| 9             | Number of household labors (number)                                                                                        | -0.248      | -1.150    | 0.253            |
| 10            | Cost of safe used vegetable production (baht)                                                                              | E-005       | 1.483     | 0.141            |
| 11            | Income of household (baht)                                                                                                 | E-007       | 0.581     | 0.563            |
| 12            | Debt of household (baht)                                                                                                   | E-006       | 1.612     | 0.110            |
| 13            | Access to information (1 = ever, 0 = never)                                                                                | 0.185       | 0.234     | 0.815            |
| 14            | Training of safe used vegetable production (1 = ever, 0 = never)                                                           | 1.882       | 2.001     | 0.048            |
| 15            | Extension and support knowledge of safe used vegetable production from agricultural extension worker (1 = ever, 0 = never) | 1.483       | 1.916     | 0.058            |
| 16            | Knowledge of safe used vegetable production (total score)                                                                  | 0.164       | 3.474     | 0.001            |
| $R^2 = 0.353$ |                                                                                                                            | SEE = 1.641 | F = 3.276 | Sig of F = 0.000 |

Note: \* Significantly at  $P < 0.05$

ได้รับการฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัยจะมีความรู้ในด้านการใช้เทคโนโลยีในการปลูกผักปลอดภัย การป้องกันกำจัดศัตรูพืช และตามหลักเกษตรที่ดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย ส่งผลให้เกษตรกรมีการยอมรับเกษตรที่ดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย เพิ่มขึ้นตามไปด้วย สอดคล้องกับณัฐวุฒิ และพหล (2559) ที่ศึกษาเรื่องการยอมรับการผลิตมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสม ของเกษตรกรในอำเภอสามโก้ จังหวัดอ่างทอง พบว่าการได้รับการฝึกอบรมในรอบ 3 ปีที่

ผ่านมา มีความสัมพันธ์กับการผลิตมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และยังสอดคล้องกับนราดล และกังสดาล (2558) ที่ศึกษาเรื่องการยอมรับวิธีการผลิตข้าวนาปีของเกษตรกรในอำเภอแม่เมาะ จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าการได้รับการฝึกอบรมในรอบ 3 ปีที่ผ่านมามีความสัมพันธ์กับการยอมรับวิธีการผลิตข้าวนาปีของเกษตรกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**ความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัย** เกษตรกรปลูกผักปลอดภัยที่มีความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยมากขึ้น จะทำให้มีการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยเพิ่มขึ้น ทำให้เกษตรกรสามารถปลูกผักปลอดภัยได้ตามมาตรฐานของระบบการปลูกผักปลอดภัยที่กำหนดของโครงการหลวงแม่ทาเหนือ สอดคล้องกับ ยุทธพล และดุษฎี (2554) ทำการศึกษาเรื่อง ความรู้ทัศนคติ และการปฏิบัติในการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในการปลูกข้าวของเกษตรกร อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย พบว่าการฝึกอบรมความรู้เกี่ยวกับปุ๋ยอินทรีย์มีความสัมพันธ์กับการปฏิบัติเกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในการปลูกข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

## สรุป

การวิจัยครั้งนี้พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ คือการได้รับการฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัย และระดับความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกร ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะจากการวิจัย ดังนี้

ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยของเกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ คือการได้รับการฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกผักปลอดภัย มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยแสดงให้เห็นว่า เกษตรกรที่เคยได้รับการฝึกอบรมบ่อยครั้งจะมีการยอมรับการปลูกผักปลอดภัย โดยเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรควรมีการจัดทำโครงการฝึกอบรมให้กับเกษตรกรในศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือในด้านเทคนิคและวิธีการในการปลูกผักปลอดภัยให้ได้ตามมาตรฐานเกษตรดีที่เหมาะสม และความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยแสดงให้เห็นว่า การปลูกผักปลอดภัยนั้นเกษตรกรต้องมีความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่

เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยที่เหมาะสมจึงจะประสบความสำเร็จได้ ดังนั้นเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรควรส่งเสริมความรู้เกี่ยวกับเกษตรดีที่เหมาะสมในการปลูกผักปลอดภัยในด้านการส่งเสริมการถ่ายทอดความรู้ วิชาการ และการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศใหม่ ๆ เพื่อให้เกษตรกรได้ติดตามข้อมูลข่าวสารด้านการปลูกผักปลอดภัยด้วย

## กิตติกรรมประกาศ

บทความวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการวิจัยบางส่วนในการทำการวิจัยจาก สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตรและพัฒนารชนบท

ขอขอบคุณผู้ประสานงานภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตรทุกท่านที่ทำงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนเกษตรกรศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่ทาเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ ทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือและให้ข้อมูลที่เป็ประโยชน์กับงานวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- กัลยา วานิชย์บัญชา. 2548. การใช้ SPSS for windows ในการวิเคราะห์ข้อมูล. พิมพ์ครั้งที่ 7: ภาควิชาสถิติ คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ณัฐวุฒิ จันทอง และ พหล ศักดิ์คะทนต์. 2559. การยอมรับการผลิตมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสมของเกษตรกรในอำเภอสามโก้ จังหวัดอ่างทอง. วารสารเกษตร 32(1): 19-27.
- นราดล ประไพศรี และ กังสดาล กนกหงษ์. 2558. การยอมรับวิธีการผลิตข้าวนาปีของเกษตรกรในอำเภอมะนวย จังหวัดเชียงใหม่. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 32(1): 39-46.
- นันทิรา หงษ์ศรีสุวรรณ. 2557. ความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้างในผักปลอดภัย. วารสาร มช. วิชาการ 18(35): 107-117.
- มูลนิธิโครงการหลวง. 2555. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://royalprojectthailand.com/maethanuiet>. (8 กันยายน 2558).

ยุทธพล ทองปรีชา และ ดุษฎี ณ ลำปาง. 2554. ความรู้  
ทัศนคติ และการปฏิบัติในการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ใน  
การปลูกข้าวของเกษตรกร อำเภอแม่สรวย  
จังหวัดเชียงราย. วารสารเกษตร 27(1): 1-10.

Yamane, T. 1973. Statistics: An Introductory Analysis.  
3<sup>rd</sup> ed. Harper and Row, New York.



**การยอมรับการปลูกเมลอนสู้ภัยแล้ง  
ของเกษตรกรในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา**

**Farmers Adoption of Melon Planting Against Drought  
in Lat Bua Luang District, Phra Nakhon Si Ayutthaya Province**

**ณัฐวุฒิ จันทอง<sup>1\*</sup> และ พหล ศักดิ์คะทนต์<sup>2</sup>**  
**Nattawut Janthong<sup>1\*</sup> and Phahol Sakkatat<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา จ.พระนครศรีอยุธยา 13000

<sup>1</sup>Plant Production Technology Program, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University,  
Phra Nakhon Si Ayutthaya 13000, Thailand

<sup>2</sup>สาขาวิชาพัฒนาศาสตร์และการส่งเสริมการเกษตร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

<sup>2</sup>Resource Development and Agricultural Extension Program, Faculty of Agricultural Production, Maejo University,  
Chiang Mai 50290, Thailand

\*Corresponding author: Email: theman\_vanz@hotmail.com

(Received: 4 January 2017; Accepted: 24 April 2017)

**Abstract:** The aims of this research was to study 1) personal and socio-economic background of farmers whose adoption melon planting against drought in Lat Bua Luang district, Phra Nakhon Si Ayutthaya province, 2) adoption of melon planting against drought 3) factors associated with the adoption melon planting, and 4) problems and obstacles of farmers. Data were collected by interview from a sample of melon farmers living in 107 households in Lat Bua Luang district. Statistical analysis were performed using percentage, mean, standard deviation and multiple regression analysis. The results revealed that the overall adoption was at a high level. They adoption economy and marketing, motivation and geography on a high level, and with a moderate level adoption of management and production. Multiple regression analysis showed that age, number of year in school, income from melon planting, training about melon planting, and received information about melon planting were significantly associated with the adoption of melon planting.

**Keywords:** Adoption, melon, drought

**บทคัดย่อ:** การวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา 1) ลักษณะส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคมของเกษตรกร 2) การยอมรับการปลูกเมลอนผู้ภัยแล้ง 3) ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการยอมรับการปลูกเมลอน และ 4) ปัญหาและอุปสรรคในการปลูกเมลอนผู้ภัยแล้งของเกษตรกรในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย คือ แบบสัมภาษณ์ ตัวอย่างในการศึกษาค้นคว้า คือ เกษตรกรผู้ปลูกเมลอน ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่อำเภอลาดบัวหลวง จำนวน 107 ครัวเรือน สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล คือ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และการวิเคราะห์ถดถอยแบบพหุ ผลการศึกษา พบว่า เกษตรกรมีการยอมรับการปลูกเมลอนในภาพรวมอยู่ในระดับมาก โดยมีการยอมรับด้านเศรษฐกิจและการตลาด ด้านแรงจูงใจ และด้านภูมิศาสตร์อยู่ในระดับมาก ส่วนการยอมรับด้านการจัดการและด้านการผลิตรายได้ในระดับปานกลาง จากการวิเคราะห์ถดถอยแบบพหุ พบว่า อายุ จำนวนปีที่ได้รับการศึกษา รายได้จากการปลูกเมลอน การฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกเมลอน และการรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอน มีความสัมพันธ์กับการยอมรับการปลูกเมลอนของเกษตรกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**คำสำคัญ:** การยอมรับ เมลอน ภัยแล้ง

## คำนำ

ตั้งแต่ช่วงปี พ.ศ. 2558 ผู้เชี่ยวชาญต่างชี้ว่าสถานการณ์โลกร้อนอย่างเอลนีโญได้ส่งผลกระทบอย่างต่อเนื่องให้เกิดภาวะภัยแล้งขึ้นทั่วโลก สำหรับประเทศไทยเริ่มมีสัญญาณภัยแล้งมาแล้วจากปริมาณน้ำฝนที่ตกน้อยกว่าที่คาดการณ์ไว้มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อสิ้นปี พ.ศ. 2558 การไฟฟ้าฝ่ายผลิตได้แจ้งให้ทราบถึงสถานการณ์อ่างเก็บน้ำในเขื่อนต่าง ๆ ทั่วประเทศ พบว่าปริมาณน้ำในลุ่มน้ำเจ้าพระยามีเพียง 4,647 ล้านลูกบาศก์เมตร ดังนั้นด้วยเหตุข้างต้นจึงมีข้อเสนอให้มีการสำรองน้ำไว้เพื่อการอุปโภคบริโภค ผลักดันน้ำเค็ม และรักษาระบบนิเวศเท่านั้น ขณะที่การใช้น้ำเพื่อการเพาะปลูกอาจจะต้องชะลอไว้ก่อน ทั้งนี้คาดการณ์ว่าสถานการณ์ดังกล่าวจำเป็นต้องยืดระยะเวลาการใช้น้ำให้ออกไปจนถึงช่วงฤดูฝนหรือช่วงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2559 (ทีมข่าวเศรษฐกิจ, 2559) สถานการณ์วิกฤติภัยแล้งในจังหวัดพระนครศรีอยุธยาก็เช่นเดียวกัน ถึงแม้ทุกหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้ระดมกำลังช่วยเหลืออย่างสุดความสามารถก็ตาม แต่พืชทุกชนิดของเกษตรกรหลายแห่งได้รับผลกระทบโดยตรงจากสภาวะภัยแล้ง โดยเฉพาะการทำนาซึ่งเป็นอาชีพหลักของคนในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา บางพื้นที่ขาดน้ำบำรุงผลผลิตต้องปล่อยให้ต้นข้าวแห้งเหี่ยวตายและเกษตรกรขาดรายได้ สำนักงานเกษตรจังหวัด

พระนครศรีอยุธยาได้สำรวจเบื้องต้น พบว่ามีเกษตรกรได้รับผลกระทบจากวิกฤติภัยแล้งประมาณ 52,859 ครัวเรือน 987,318 ไร่ มีเกษตรกรได้รับความเสียหายจากภัยแล้งมากกว่า 20,000 ครัวเรือน (สำนักงานเกษตรจังหวัดพระนครศรีอยุธยา, 2558) ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ทางไกลแหล่งน้ำสายหลัก เช่น เขตอำเภอดอนสัก เสนา บางซ้าย ลาดบัวหลวง เป็นต้น (สำนักงานเกษตรจังหวัดพระนครศรีอยุธยา, 2559) ซึ่งในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ประชากรในพื้นที่ประกอบอาชีพทำนาเป็นหลัก ประสบปัญหาภัยแล้งเป็นบริเวณกว้าง มีเกษตรกรประสบปัญหาภัยแล้งกว่า 2,110 ครัวเรือน (สำนักงานเกษตรอำเภอลาดบัวหลวง, 2559) ทางสำนักงานเกษตรอำเภอลาดบัวหลวงและสำนักงานเกษตรจังหวัดพระนครศรีอยุธยา จึงได้ส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาปลูกเมลอนแทนการทำนา โดยเกษตรกรสามารถปลูกได้ทั้งแบบมีโรงเรือนมิดชิดและแบบไม่มีโรงเรือน ซึ่งมีการให้น้ำแบบระบบน้ำหยดสามารถควบคุมปริมาณน้ำได้ ทำให้ไม่สิ้นเปลืองน้ำ และเพื่อเป็นการสร้างรายได้แก่ครอบครัวเกษตรกรในช่วงที่น้ำไม่พอต่อการทำนา (สมาคมสื่อมวลชนแห่งประเทศไทย, 2559) ถึงแม้ปี พ.ศ. 2558-2559 จะประสบปัญหาภัยแล้งเป็นอย่างมาก แต่การปลูกเมลอนซึ่งเป็นพืชในวงศ์แตง (cucurbitaceae) ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง (สุริยวัณ และคณะ, 2559) จะใช้น้ำน้อยและไม่ได้

รับผลกระทบ จึงเป็นเรื่องดีเพราะเมลอนเป็นพืชที่ไม่ชอบความชุ่มชื้นและใช้น้ำน้อยกว่าการทำนาหรือการปลูกพืชชนิดอื่น ๆ เป็นอย่างมาก ผลผลิตเป็นที่ต้องการของตลาดสามารถเก็บขายได้ราคาดี และประสบความสำเร็จมากในขณะเดียวกันแปลงปลูกเมลอนในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ซึ่งมีพื้นที่ประมาณ 1,210 ไร่ (สำนักงานเกษตรอำเภอลาดบัวหลวง, 2559) ยังเปิดโอกาสให้ประชาชน นักท่องเที่ยวได้เข้าศึกษาเรียนรู้ พร้อมทั้งสร้างรายได้จุดขาย โดยเปิดให้ประชาชนและนักท่องเที่ยวได้เขียนชื่อหรือลวดลายบนผิวเมลอนเพื่อส่งของผลผลิตที่จะเก็บได้ในช่วงกลางเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2559 โดยคิดราคาขายปลีกกรัมละประมาณ 60-80 บาท ซึ่งเป็นราคาขายต่ำกว่าราคาท้องตลาด นอกจากนั้นยังมีห้างสรรพสินค้าขนาดใหญ่ สายการบิน และพ่อค้าแม่ค้ามารับซื้อหน้าสวนโดยตรง ผลผลิตเมลอนในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา มีชื่อเสียงโด่งดังมากจากการประชาสัมพันธ์ของหน่วยงานต่าง ๆ ผ่านช่องทางอินเทอร์เน็ต ที่วิติจิตอล ฯลฯ ทำให้เมลอนของอำเภอลาดบัวหลวง เป็นที่รู้จักและเป็นที่ต้องการเป็นอย่างมาก การส่งของเมลอนในแต่ละเดือนมากกว่ายอดการปลูก ทำให้เกษตรกรต้องขยายพื้นที่เพาะปลูกออกไปอีก และเกษตรกรบางรายถึงกับเลิกทำนาแล้วหันมาปลูกเมลอนเป็นอาชีพหลักอีกด้วย (ฤทธิสรรค์, 2559)

จากปัญหาผลผลิตข้าวที่ตกต่ำในช่วงที่ผ่านมา เกษตรอำเภอลาดบัวหลวง และเกษตรจังหวัดพระนครศรีอยุธยาได้ร่วมมือกันส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกเมลอนแทนการทำนาในช่วงภัยแล้ง เพื่อจำหน่ายเป็นสินค้าภายในท้องถิ่นและส่งออกไปยังพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วประเทศ และพบว่า การส่งเสริมการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งประสบความสำเร็จในพื้นที่นี้ เกษตรกรสามารถปลูกเมลอนเป็นอาชีพหลักและอาชีพเสริมแทนการทำนาได้ ทำให้เกษตรกรมีรายได้จนเพียงพอครอบครัวในยามที่ประสบปัญหาจากสภาพอากาศที่แห้งแล้ง ซึ่งไม่เหมาะสมกับการทำนา และยังทำให้เกษตรกรมีความรู้เรื่องการปลูกเมลอนเพิ่มขึ้น ดังนั้น ผู้วิจัยต้องการศึกษาการยอมรับการปลูกเมลอนแทนการทำนาในช่วงภัยแล้งของเกษตรกรและศึกษาว่ามีปัจจัยใดบ้างที่จะเป็นสิ่งที่บ่งชี้ถึงการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งของเกษตรกรในอำเภอลาดบัวหลวง

จังหวัดพระนครศรีอยุธยา รวมทั้งศึกษาปัญหาและอุปสรรคในการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งของเกษตรกร เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปส่งเสริมกับพื้นที่อื่นหรือส่งเสริมการปลูกพืชชนิดอื่นที่ใช้น้ำน้อยต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

ประชากรเป้าหมายในการวิจัย คือ เกษตรกรที่ปลูกเมลอน ในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา จำนวน 147 ครัวเรือน ผู้วิจัยกำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สูตรของ Yamane (1967) ได้กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา คือ เกษตรกรที่ปลูกเมลอน จำนวน 107 ครัวเรือน และใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (simple random sampling) เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูล คือ แบบสัมภาษณ์ วิเคราะห์ข้อมูลค่าโดยใช้สถิติ ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่อการยอมรับการปลูกเมลอนของเกษตรกรโดยการวิเคราะห์การถดถอยแบบพหุ

## ผลการศึกษา

### 1. ลักษณะพื้นฐานบางประการทางเศรษฐกิจและสังคม ของเกษตรกร

ผลการศึกษาพบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่เป็นเพศชาย (ร้อยละ 70.74) มีอายุเฉลี่ย 42.55 ปี จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น เป็นจำนวนร้อยละ 45.39 และมีจำนวนปีที่ได้รับการศึกษาเฉลี่ย 10.17 ปี เกษตรกรส่วนใหญ่มีสถานภาพสมรส (ร้อยละ 75.87) มีรายได้จากการปลูกเมลอนเฉลี่ย 303,104 บาท/ปี มีขนาดพื้นที่ถือครองเฉลี่ย 6.32 ไร่ มีแรงงานทั้งหมดเฉลี่ย 2.10 คน มีประสบการณ์ในการปลูกเมลอนเฉลี่ย 2.51 ปี ในรอบปีที่ผ่านมามีการฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกเมลอนเฉลี่ย 2.24 ครั้ง และมีการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ของรัฐและเอกชนเฉลี่ย 6.02 ครั้ง เกษตรกรรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอนเฉลี่ย 60.40 ครั้งต่อปี โดยส่วนใหญ่รับรู้ข่าวสารการปลูกเมลอนจากสื่อสิ่งพิมพ์ คิดเป็นจำนวนร้อยละ 45.76 รายละเอียดดังตารางที่ 1

Table 1. General socio-economic background of farmers

| General background                                                                 | Percentage | $\bar{x}$  | SD        |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-----------|
| 1. Gender (male)                                                                   | 70.74      | -          | -         |
| 2. Age (year)                                                                      | -          | 42.55      | 9.98      |
| 3. Education (secondary education)                                                 | 45.39      | -          | -         |
| 4. Number of year in school (years)                                                | -          | 10.17      | 5.11      |
| 5. Marital status (married)                                                        | 75.87      | -          | -         |
| 6. Income from melon planting (Baht)                                               | -          | 303,104.33 | 95,224.42 |
| 7. Size of land holding (rai)                                                      | -          | 6.32       | 5.11      |
| 8. Labor (number)                                                                  | -          | 2.10       | 1.65      |
| 9. Experiences in melon planting (year)                                            | -          | 2.51       | 1.24      |
| 10. Training about melon planting in last year (times)                             | -          | 2.24       | 1.84      |
| 11. Contact with the government officials and private sectors in last year (times) | -          | 6.02       | 2.55      |
| 12. Received information about melon planting in last year (times)                 | -          | 60.40      | 17.78     |
| 13. Received information about melon planting from printing media                  | 45.76      | -          | -         |

## 2. การยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง

ผลการศึกษา พบว่า เกษตรกรมีการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งในภาพรวมอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 3.95) ซึ่งจำแนกตามด้านต่าง ๆ ได้ 5 ด้าน ดังนี้ (ดังแสดงในตารางที่ 2)

1) การยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งด้านแรงจูงใจ (motivation) เกษตรกรมีการยอมรับด้านแรงจูงใจอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.27) เมื่อจำแนกตามประเด็นย่อยต่าง ๆ พบว่า การยอมรับในด้านการได้รับคำแนะนำจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.72) รองลงมาคือ ยอมรับในประเด็นการได้รับคำแนะนำจากกลุ่มเกษตรกรในพื้นที่ มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.48) ในด้านการได้รับความรู้ในการผลิต การจัดการ และการตลาด จากสื่อชนิดต่าง ๆ มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.41) การยอมรับจากการเห็นผู้อื่นปลูกแล้วประสบผลสำเร็จ มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.28) และยอมรับเนื่องจากสมาชิกในครอบครัวสนับสนุนให้ปลูก มีการยอมรับอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.46)

2) การยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งด้านการผลิต (production) เกษตรกรมีการยอมรับด้านการผลิตอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.61) เมื่อจำแนกตามประเด็นย่อยต่าง ๆ พบว่า เกษตรกรยอมรับเนื่องจากใช้น้ำในการเพาะปลูกน้อย มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.86) รองลงมาคือ เมล็ดพันธุ์หาซื้อง่ายและราคาไม่แพง มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.75) ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.03) และใช้เงินลงทุนต่ำ มีการยอมรับอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 2.77)

3) การยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งด้านภูมิศาสตร์ (geography) เกษตรกรมีการยอมรับด้านภูมิศาสตร์อยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 3.90) เมื่อจำแนกตามประเด็นย่อยต่าง ๆ พบว่า ประเด็นวัสดุที่ใช้เพาะปลูกหาได้ง่ายในท้องถิ่น มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.83) รองลงมาคือ สภาพพื้นที่ดินใช้ปลูกมีความเหมาะสม มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.42) โรงเรือนที่ใช้ปลูกมีความเหมาะสม มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 3.86) สภาพอากาศในพื้นที่มี

**Table 2. Level of adoption of melon planting against drought**

| Adoption                 | $\bar{x}$ | SD   | Level    |
|--------------------------|-----------|------|----------|
| 1. Motivation            | 4.28      | 0.24 | High     |
| 2. Production            | 3.61      | 0.51 | Moderate |
| 3. Geography             | 3.90      | 0.30 | High     |
| 4. Management            | 3.62      | 0.56 | Moderate |
| 5. Economy and marketing | 4.41      | 0.17 | High     |
| Total                    | 3.95      | 0.37 | High     |

ความเหมาะสม มีการยอมรับอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.65) และมีแหล่งน้ำเพียงพอในการเพาะปลูก มีการยอมรับอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 2.98)

4) การยอมรับการปลูกเมลอนสู้ภัยแล้งด้านการจัดการ (management) เกษตรกรมีการยอมรับด้านการจัดการอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.62) เมื่อจำแนกตามประเด็นย่อยต่าง ๆ พบว่า ประเด็นคุณภาพของพันธุ์เมลอนดี มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.05) รองลงมาคือ ไม่ต้องใช้สารเคมีในการเพาะปลูก มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 3.81) ขั้นตอนการปลูกไม่ยุ่งยาก มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 3.70) ผลผลิตดูแลรักษาง่าย มีการยอมรับอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.24) และมีโรคและแมลงศัตรูระบาดไม่มากนัก มีการยอมรับอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.22)

5) การยอมรับการปลูกเมลอนสู้ภัยแล้งด้านเศรษฐกิจและการตลาด (economy and marketing) เกษตรกรมีการยอมรับด้านเศรษฐกิจและการตลาดอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.41) เมื่อจำแนกตามประเด็นย่อยต่าง ๆ พบว่า ผลผลิตเป็นที่ต้องการของตลาด มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.90) รองลงมาคือ มีตลาดรองรับที่แน่นอน มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.57) การซื้อขายไม่ต้องผ่านพ่อค้าคนกลาง มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.36) ผลผลิตมีราคาสูง มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.14) และได้กำไรหลังจากหักค่าใช้จ่ายทั้งหมด มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 3.92)

เกษตรกรมีปัญหาและอุปสรรคในการปลูกเมลอนสู้ภัยแล้งในภาพรวมอยู่ในระดับน้อย (ค่าเฉลี่ย 2.25) เมื่อพิจารณาในประเด็นย่อยของปัญหา พบว่า

ปัญหาที่เกษตรกรเห็นว่าเป็นปัญหาระดับมาก ได้แก่ พื้นที่ปลูกไม่สามารถขยายออกไปได้อีก (ค่าเฉลี่ย 3.84) รองลงมาคือ ใช้เงินลงทุนเริ่มแรกสูง (ค่าเฉลี่ย 3.68) ส่วนปัญหาในระดับปานกลางคือ แหล่งน้ำไม่เพียงพอ (ค่าเฉลี่ย 3.05) และสภาพอากาศแปรปรวน (ค่าเฉลี่ย 2.55)

### 3. ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการยอมรับการปลูกเมลอนสู้ภัยแล้ง

การวิจัยครั้งนี้ใช้การวิเคราะห์พหุคูณถดถอย เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระกับตัวแปรตาม ว่าตัวแปรอิสระแต่ละตัวมีความสัมพันธ์มากน้อยเพียงใดกับตัวแปรตาม โดยเลือกตัวแปรอิสระจำนวน 9 ตัวแปร ได้แก่ อายุ จำนวนปีที่ได้รับการศึกษา รายได้จากการปลูกเมลอน ขนาดพื้นที่ถือครอง แรงงาน ประสบการณ์ในการปลูกเมลอน จำนวนครั้งของการฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกเมลอน จำนวนครั้งของการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ของรัฐและเอกชน และจำนวนครั้งของการรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอน ส่วนตัวแปรตาม คือ การยอมรับการปลูกเมลอนสู้ภัยแล้ง (ค่าเฉลี่ยของการยอมรับรวม)

ตัวแปรอิสระทั้งหมดได้รับการตรวจสอบว่าแต่ละคู่ไม่มีค่าสหสัมพันธ์สูงกว่า 0.65 ที่จะก่อให้เกิดปัญหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระด้วยตนเอง (multicollinearity) อันเป็นการละเมิดข้อสมมติฐานที่กำกับเทคนิคการวิเคราะห์ถดถอยพหุ (สุชาติ, 2546)

การวิจัยครั้งนี้มีรูปแบบจำลองได้แก่

$$Y = a + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_4 + b_5x_5 + b_6x_6 + b_7x_7 + b_8x_8 + b_9x_9$$

สัญลักษณ์ของตัวแปร

ตัวแปรตาม

Y = การยอมรับการปลูกเมลอนสู้ภัยแล้ง

a = ค่าคงที่

$b_1 - b_9$  = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระแต่ละตัวกับตัวแปรตาม เมื่อควบคุมค่าของตัวแปรอิสระอื่นที่อยู่ในสมการให้คงที่แล้ว

ตัวแปรอิสระ

 $x_1$  = อายุ (ปี) $x_2$  = จำนวนปีที่ได้รับการศึกษา (ปี) $x_3$  = รายได้จากการปลูกเมลอน (บาท) $x_4$  = ขนาดพื้นที่ถือครอง (ไร่) $x_5$  = แรงงาน (คน) $x_6$  = ประสบการณ์ในการปลูกเมลอน (ปี) $x_7$  = การฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกเมลอน (ครั้ง) $x_8$  = การติดต่อกับเจ้าหน้าที่ของรัฐและเอกชน (ครั้ง) $x_9$  = การรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอน (ครั้ง)

ผลการวิเคราะห์ถดถอยพหุ โดยการนำเอาตัวแปรอิสระทั้ง 9 ตัวแปร เข้าไปในสมการแล้วคำนวณด้วยวิธีปกติ (enter) พบว่า ค่า  $F = 2.757$  Sig of  $F = 0.000$  แสดงว่ามีตัวแปรอิสระอย่างน้อยหนึ่งตัวที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวแปรตาม (การยอมรับการปลูกเมลอนสู้ภัยแล้ง) และเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจในเชิงพหุ พบว่า  $R^2 = 0.392$  หมายความว่า ตัวแปรอิสระทั้งหมดอธิบายความผันแปรของตัวแปรตามได้ร้อยละ 39.2 ซึ่งตัวแปรอิสระทั้ง 9 ตัวแปร มีจำนวน 5 ตัวแปร ที่มีผลต่อตัวแปรตามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ได้แก่ อายุ จำนวนปีที่ได้รับการศึกษา รายได้จากการปลูกเมลอน การฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกเมลอน และการรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอน ซึ่งตัวแปรทั้ง 5 ตัวแปร มีผลเป็นบวก ดังแสดงในตารางที่ 3

Table 3. Multiple regression analysis of factors related to farmers adoption of melon planting against drought

| Variables                                                           | Coefficient (b) | t           | P-value            |
|---------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------|--------------------|
| 1. Age (year)                                                       | 0.244           | 2.246       | 0.032 *            |
| 2. Number of year in school (year)                                  | 0.611           | 2.336       | 0.021 *            |
| 3. Income from melon planting (Baht)                                | 1.766           | 2.071       | 0.042 *            |
| 4. Size of land holding (rai)                                       | -0.058          | -1.161      | 0.248              |
| 5. Labor (number)                                                   | 0.874           | 0.874       | 0.541              |
| 6. Experiences in melon planting (year)                             | -1.640          | -0.393      | 0.695              |
| 7. Training about melon planting (time)                             | 1.038           | 2.107       | 0.037 *            |
| 8. Contact with the government officials and private sectors (time) | -0.010          | -1.466      | 0.132              |
| 9. Received information about melon planting (time)                 | 0.034           | 2.945       | 0.011 *            |
| Constant                                                            |                 | 17.768      |                    |
| $R^2 = 0.392$                                                       | SEE = 2.593     | $F = 2.757$ | Sig of $F = 0.000$ |

\* Correlation showed significant at the 0.05 level

## วิจารณ์

จากการศึกษาลักษณะส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคม ของเกษตรกรผู้ปลูกเมลอนของในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา จะเห็นได้ว่า ผู้ให้ข้อมูลส่วนใหญ่เป็นเพศชาย ส่วนใหญ่มีอายุมากกว่า 40 ปี มีการศึกษาอยู่ในระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น นับว่าอยู่ในวัยแรงงานและมีระดับการศึกษาที่สามารถรับการส่งเสริมการปลูกเมลอนจากหน่วยงานที่ส่งเสริมได้ รายได้โดยเฉลี่ยจากการปลูกเมลอนประมาณ 303,104 บาท/ปี/ครอบครัว เกษตรกรมีพื้นที่ถือครองเฉลี่ยมี 6.32 ไร่ โดยเป็นพื้นที่ของตนเองที่ได้รับมรดกมา แรงงานที่ใช้โดยเฉลี่ย 2 คน ซึ่งเป็นแรงงานที่มีในครอบครัวเป็นหลักและมีการจ้างแรงงานสำหรับเกษตรกรที่มีพื้นที่เพาะปลูกขนาดใหญ่ ซึ่งไม่สามารถทำได้ด้วยตนเองทั้งหมด ประสิทธิภาพในการปลูกเมลอนเฉลี่ย 2.51 ปี กล่าวคือ การปลูกเมลอนเป็นอาชีพใหม่ที่หน่วยงานต่าง ๆ ส่งเสริมให้เป็นอาชีพหลักและอาชีพทางเลือก เกษตรกรได้รับการฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกเมลอนเฉลี่ย 2 ครั้ง/ปี ทั้งนี้การอบรมมีทั้งภายในและภายนอกพื้นที่ แล้วแต่ว่าเกษตรกรสะดวกจะไปอบรมที่ใด เนื่องจากเกษตรกรมีความรู้ ความชำนาญในการปลูกเมลอนไม่มากนัก เกษตรกรจึงเข้าร่วมในการฝึกอบรมเพื่อพัฒนาความรู้และความสามารถของตนเอง เกษตรกรมีการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ของรัฐและเอกชนเฉลี่ย 6 ครั้ง/ปี เนื่องจากเกษตรกรต้องการปรึกษาหารือและคำแนะนำจากผู้ที่มีความเชี่ยวชาญและมีความรู้มากกว่าตนเอง การรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอนเฉลี่ย 60 ครั้ง/ปี และส่วนมากรับรู้ข่าวสารจากสื่อสิ่งพิมพ์ เพราะเข้าถึงได้ง่ายและมีข้อมูลข่าวสารมากพอต่อความต้องการของเกษตรกร

เกษตรกรมีการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งอยู่ในระดับมาก ที่ค่าเฉลี่ย 3.95 โดยจำแนกเป็น มีการยอมรับด้านการเสริมสร้างศักยภาพในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.28) มีการยอมรับด้านการผลิตในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.61) มีการยอมรับด้านภูมิศาสตร์ในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 3.90) มีการยอมรับด้านการจัดการในระดับปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 3.62) และมีการยอมรับด้านการเศรษฐกิจและการตลาดในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.41)

โดยในทุก ๆ ด้านที่กล่าวมานั้นเกษตรกรมีการยอมรับค่อนข้างมาก เพราะเมื่อเกษตรกรยอมรับและนำไปปฏิบัติจริงแล้ว ผลที่ได้ตามมาคือ ผลเมลอนที่ผลิออกมาเป็นที่ต้องการของตลาดเป็นอย่างมาก และทำให้เกษตรกรมีความรู้และทักษะในการปลูกเมลอนเพิ่มมากขึ้น มีการจัดการปัญหาต่าง ๆ ได้ด้วยตนเอง ทำให้มีรายได้ของเกษตรกรเพิ่มขึ้นตามไปด้วย อีกทั้งยังสามารถพัฒนาคุณภาพชีวิตครอบครัวของเกษตรกรให้ดีขึ้น และปลูกฝังให้บุตรหลานของตนเองรักและห่วงหาในอาชีพเกษตรกรมากขึ้นอีกด้วย

เมื่อศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง พบว่ามี 5 ตัวแปร ที่มีผลต่อการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ได้แก่

อายุมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง เนื่องจากเกษตรกรผู้ปลูกเมลอนที่มีอายุมากขึ้น เมื่อได้รับการส่งเสริมหรือการแนะนำด้านเทคโนโลยีและวิธีการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งแล้ว จะมีการยอมรับมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของจุลดา และคณะ (2554) พบว่า อายุความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการยอมรับเทคโนโลยีการผลิตยาสูบในแนวทางเกษตรผสมผสาน อธิบายได้ว่า เกษตรกรที่ยังมีอายุมากขึ้น เมื่อได้รับการส่งเสริมในเรื่องเทคโนโลยีการผลิตยาสูบในแนวทางเกษตรผสมผสานแล้ว เกษตรกรจะยอมรับมากขึ้นและนำไปปฏิบัติตามจนเกิดผล

จำนวนปีที่ได้รับการศึกษามีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง เนื่องจากเกษตรกรที่ได้รับการศึกษาในระดับที่สูงขึ้นหรือมีจำนวนปีที่ได้รับการศึกษามากขึ้น จะมีการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งและนำไปปฏิบัติเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของพิสุทธิพันธ์ และคณะ (2559) พบว่า จำนวนปีที่ได้รับการศึกษามีความสัมพันธ์กับการยอมรับเทคโนโลยีปลูกตัดของเกษตรกรผู้ปลูกข้าว อธิบายได้ว่าเกษตรกรที่ได้รับการศึกษาเพิ่มขึ้นจะยอมรับเทคโนโลยีเทคโนโลยีเกี่ยวกับการเพาะปลูกข้าวได้มากขึ้น เนื่องจากผู้ที่มีความเข้าใจต่อการยอมรับเทคโนโลยีไปแล้วนำไปปฏิบัติตาม

รายได้จากการปลูกเมลอนมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง เนื่องจากการมีรายได้เพิ่มมากขึ้น ทำให้การยอมรับมากขึ้น อาจเป็นเพราะมองเห็นความสำคัญของเทคโนโลยีการปลูกเมลอนว่าใช้แล้วทำให้เกิดรายได้เพิ่มมากขึ้น จึงยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของศิริรัตน์ และคณะ (2559) พบว่า รายได้จากการทำการเกษตรมีความสัมพันธ์กับเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวหมายความว่า เกษตรกรที่มีรายได้เพิ่มมากขึ้น จะยอมรับการใช้เทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวมากขึ้น เนื่องจากเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวเป็นเทคโนโลยีช่วยที่ลดต้นทุนในการผลิตของเกษตรกร

การฝึกอบรมมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง ซึ่งพบว่าเกษตรกรที่ได้รับการฝึกอบรมหรือมีประสบการณ์ในการฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกเมลอน จะมีการยอมรับเทคโนโลยี เทคนิคใหม่ ๆ และนำไปใช้ได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของนราดล และคณะ (2558) พบว่า การได้รับการฝึกอบรมในรอบ 3 ปีที่ผ่านมา มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการยอมรับวิธีการผลิตข้าวนาปีของเกษตรกร เนื่องจากการได้รับการฝึกอบรมมากขึ้นในรอบ 3 ปีที่ผ่านมาเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกษตรกรได้รับความรู้ใหม่ ๆ ในด้านพันธุ์ข้าวนาปี จึงมีผลทำให้เกษตรกรตัดสินใจต่อการยอมรับวิธีการผลิตข้าวนาปีเพิ่มมากขึ้น และสอดคล้องกับณัฐภูมิ และพหล (2559) พบว่า การได้รับการฝึกอบรมในรอบ 3 ปีที่ผ่านมา มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการยอมรับการปลูกมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสม เนื่องจากเกษตรกรที่ได้รับการฝึกอบรมเพิ่มมากขึ้น จะทำให้ได้รับความรู้เกี่ยวกับเทคโนโลยีใหม่ ๆ และมีการยอมรับเทคโนโลยีนั้นมากขึ้นตามไปด้วย

การรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอนมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับการยอมรับการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง ซึ่งพบว่าการรับรู้ข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอนของเกษตรกรนั้น หากเกษตรกรได้ข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการ

ปลูกเมลอนเพิ่มมากขึ้น จะทำให้เกษตรกรตัดสินใจในการยอมรับการปลูกเมลอนมากขึ้น การได้รับข้อมูลข่าวสารของเกษตรกรจึงถือได้ว่าเป็นการเพิ่มพูนความรู้ให้กับตัวเกษตรกรเอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของยุทธนา และคณะ (2559) พบว่า การได้รับข่าวสารเกี่ยวกับการผลิตข้าวปลอดภัยและได้มาตรฐานในรอบปีที่ผ่านมา มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการส่งเสริมการผลิตข้าวปลอดภัยและได้มาตรฐานตามการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี เนื่องจากเกษตรกรที่ได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการผลิตข้าวปลอดภัยและได้มาตรฐานมากขึ้น จะมีการยอมรับและปฏิบัติตามเกี่ยวกับการผลิตข้าวปลอดภัยและได้มาตรฐานมากตามไปด้วย

ในด้านของปัญหาและอุปสรรคในการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้ง เกษตรกรส่วนใหญ่มีปัญหาที่คล้ายคลึงกัน เกี่ยวกับพื้นที่ปลูกไม่สามารถขยายออกไปได้ เนื่องมาจากการถือครองที่ดินที่เป็นของตนเองมีจำกัดและไม่เพียงพอต่อความต้องการในการเพาะปลูกเมลอน เกษตรกรบางรายจึงเลือกเช่าพื้นที่ของผู้อื่นในราคาสูงเพื่อทำการเพาะปลูกเมลอน จึงทำให้มีรายจ่ายเพิ่มขึ้นตามมาอีกด้วย ส่วนเงินลงทุนในการปลูกเริ่มแรกนั้นค่อนข้างสูง โดยเฉพาะเมื่อเกษตรกรเริ่มปลูกเมลอน เกษตรกรต้องจ้างแรงงานในการขึ้นแปลงปลูกเมลอนหรือการสร้างโรงเรือนที่มีมิดชิด ต้องมีการวางระบบน้ำและระบบไฟที่ถูกต้องและเป็นไปตามมาตรฐานในการปลูกเมลอน ทำให้เกษตรกรต้องกู้ยืมเงินจากหน่วยงานต่าง ๆ จนเกิดภาวะการเป็นหนี้ เกษตรกรต้องใช้เงินทุนเป็นจำนวนมากในการจัดสร้างแหล่งน้ำให้เพียงพอต่อการเพาะปลูก โดยจ้างคนมาขุดบ่อบาดาล เนื่องจากในพื้นที่ปลูกนั้นอยู่ห่างไกลจากแม่น้ำสายหลักและแหล่งน้ำชลประทานส่วนใหญ่มีน้ำเฉพาะฤดูฝน ในช่วงฤดูหนาวและฤดูแล้งคลองชลประทานแห้งขอด เกษตรกรไม่สามารถหาน้ำมารดต้นเมลอนได้ เกษตรกรบางรายถึงกับลงทุนใช้น้ำปะปาในการปลูกเมลอน และในส่วนของสภาพอากาศที่มีความแปรปรวนนั้น เกษตรกรไม่สามารถแก้ไขอะไรได้ เนื่องจากเป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ แต่เกษตรกรต้องหาวิธีป้องกันและรับมือกับสภาพอากาศในประเทศไทยที่สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลา



## สรุป

เกษตรกรในอำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา มีการยอมรับการปลูกเมลอนเป็นอาชีพหลักทดแทนการทำการทำนาอันเนื่องมาจากประสบปัญหาภัยแล้งอย่างหนักในรอบ 2-3 ปีที่ผ่านมา โดยวิธีการปลูกเมลอนนี้มีการดูแลและให้ความรู้ในการปลูกโดยเจ้าหน้าที่ภาครัฐและเอกชนที่เข้ามาส่งเสริมให้เกษตรกรในพื้นที่มีการเพาะปลูกอย่างจริงจัง และมีการหาตลาดให้เกษตรกรได้ส่งออกผลผลิตทั้งภายในและภายนอกจังหวัด อีกทั้งเมลอนที่มาจากสวนที่ได้มาตรฐานจะถูกส่งออกไปยังต่างประเทศหรือจำหน่ายตามห้างสรรพสินค้าชั้นนำในประเทศด้วย ทำให้เกษตรกรมีการขยายกิจการและกลุ่มการผลิตเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการยอมรับการปลูกเมลอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ อายุ จำนวนปีที่ได้รับการศึกษา รายได้จากการปลูกเมลอน การฝึกอบรมเกี่ยวกับการปลูกเมลอน และการรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับการปลูกเมลอน ปัญหาและอุปสรรค ได้แก่ พื้นที่ปลูกไม่สามารถขยายออกไปได้ ใช้เงินลงทุนเริ่มแรกสูง แหล่งน้ำไม่เพียงพอ และสภาพอากาศแปรปรวน ทั้งนี้เกษตรกรต้องมีการรวมกลุ่มกันเพื่อช่วยกันแก้ไขปัญหาและขอความร่วมมือจากเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องให้ช่วยเหลือดูแลต่อไป

## ข้อเสนอแนะจากผลการวิจัย

- 1) ในด้านปัญหาจากภัยแล้ง พบว่าทำให้เกษตรกรหันมาปลูกเมลอนแทนการทำการทำนาในช่วงหน้าแล้งเพิ่มมากขึ้น มีการใช้น้ำน้อยลงและไม่พบปัญหาเกี่ยวกับเรื่องภัยแล้ง และยังทำให้สภาพดินมีความอุดมสมบูรณ์กว่าในอดีตที่ปลูกข้าวติดต่อกันเพียงอย่างเดียว เพราะเกษตรกรได้ปลูกพืชหมุนเวียนหน้าดิน
- 2) ในด้านการส่งเสริมการปลูกเมลอน พบข้อดีของการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งคือ เมลอนเป็นพืชที่ต้องการน้ำน้อยมากเมื่อเทียบกับการปลูกข้าวในช่วงหน้าแล้ง เพราะไม่ยุ่งยากในการจัดการให้น้ำ เกษตรกรนิยมให้น้ำในระบบอัตโนมัติแบบหยดน้ำ โดยมีการตั้งเวลาให้น้ำ

ในช่วงเช้าและช่วงเย็น ประมาณช่วงละ 5 นาที เท่านั้น ซึ่งทำให้ประหยัดน้ำ ประหยัดแรงงาน และประหยัดเวลาด้วย

3) ในด้านรายได้และด้านการตลาด พบว่าปัจจุบันเมลอนเป็นพืชที่มีราคาสูงเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่น และเป็นพืชที่ประชาชนนิยมบริโภคเป็นอย่างมาก การแข่งขันในตลาดของพืชชนิดนี้ยังไม่มากนัก เมลอนจึงเหมาะสมที่เป็นพืชทางเลือกแก่เกษตรกรที่สนใจและมีใจรักในการปลูกเมลอน

4) ผลงานวิจัยชิ้นนี้ผู้วิจัยหวังว่าจะเป็นประโยชน์แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องหรือหน่วยงานที่สนใจ โดยสามารถนำไปเป็นแนวทางในการส่งเสริมการปลูกเมลอนสู่ภัยแล้งในพื้นที่ต่าง ๆ ได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยาที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- จุลลดา พลัง วีรศักดิ์ ปกติ พหล ศักดิ์คะทศน์ และ นครศ รั้งควัด. 2554. การยอมรับของเกษตรกรผู้ผลิตยาสูบในแนวทางเกษตรแบบผสมผสานในเขตรับผิดชอบของสถานีเฝ้าปากอตา จังหวัดเชียงราย. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 28(2): 57-64.
- ณัฐภูมิ จันทอง และ พหล ศักดิ์คะทศน์. 2559. การยอมรับการปลูกมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสมของเกษตรกรในอำเภอสสามโก้ จังหวัดอ่างทอง. วารสารเกษตร 32(1): 19-27.
- ทีมข่าวเศรษฐกิจ. 2559. วิกฤต ภัยแล้ง 2559 : เกษตรกรไทยจะหาทางออกอย่างไร. บริษัท อินเตอร์สเปซ (ประเทศไทย) จำกัด, กรุงเทพฯ. 29 หน้า.
- นราดล ประไพศรี กังสดาล กนกหงส์ นครศ รั้งควัด และ พหล ศักดิ์คะทศน์. 2558. การยอมรับวิธีการผลิตข้าวนาปีของเกษตรกรในอำเภอแม่เมาะ.

- วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 32(1): 39-46.
- พิสุทธิพันธ์ กิตติชัยณรงค์ รุ่งโรจน์ พิทักษ์ด้านธรรม และ สุวรรณา ประณีตวาทกุล. 2559. ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการยอมรับเทคโนโลยีปุ๋ยสั่งตัด โดยเกษตรกรผู้นำผู้ปลูกข้าวตำบลหนองกลา อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก. เรื่องเติมการ ประชุมวิชาการ ครั้งที่ 54 ของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 1126 หน้า.
- ยุทธนา โพธิ์เกิด เบญจมาศ อยู่ประเสริฐ และ ภรณ์ ต่างวิวัฒน์. 2559. การส่งเสริมการผลิตข้าว ปลอทดภัยและได้มาตรฐานตามการปฏิบัติทาง การเกษตรที่ดีแก่เกษตรกรในจังหวัดร้อยเอ็ด. วารสารแก่นเกษตร 44(ฉบับพิเศษ 1): 624-629.
- ฤทธิสรรค์ เทพพิทักษ์. 2559. เศรษฐกิจภูมิภาค. สำนักพิมพ์ประชาชาติธุรกิจ, กรุงเทพฯ. 22 หน้า.
- ศิริรัตน์ ชูรัตน์ เบญจมาศ อยู่ประเสริฐ และ ภรณ์ ต่างวิวัฒน์. 2559. การใช้เทคโนโลยีการผลิต เมล็ดพันธุ์ข้าวของสมาชิกศูนย์ข้าวชุมชน อำเภอค้อวัง จังหวัดยโสธร. วารสารแก่นเกษตร 44(ฉบับพิเศษ 1): 619-623.
- สมาคมสื่อมวลชนแห่งประเทศไทย. 2559. แคนตาลูป- เมล่อน พืชเศรษฐกิจเงินล้าน. หนังสือพิมพ์แนว หน้า จำกัด, กรุงเทพฯ. 18 หน้า.
- สำนักงานเกษตรจังหวัดพระนครศรีอยุธยา. 2558. ข้อมูล พื้นที่ ปร ะ ส บ ปั ญ ห า ภัย แล ้ง จั ง ห วั ด พระนครศรีอยุธยา. เอกสารการประกอบการ ประชุมประจำปี 2558. สำนักงานเกษตรจังหวัด พระนครศรีอยุธยา, พระนครศรีอยุธยา. 81 หน้า.
- สำนักงานเกษตรจังหวัดพระนครศรีอยุธยา. 2559. ข้อมูล พื้นฐานทางการเกษตร สำนักงานเกษตรจังหวัด พระนครศรีอยุธยาปี 2558/2559. เอกสารการ ประกอบการประชุมประจำปี 2558/2559. สำนักงานเกษตรจังหวัดพระนครศรีอยุธยา, พระนครศรีอยุธยา. 145 หน้า.
- สำนักงานเกษตรอำเภอลาดบัวหลวง. 2559. รายงาน กิจกรรมต่าง ๆ ประจำปีเดือน. เอกสาร ประกอบการประชุมประจำปีเดือนมกราคม- มีนาคม 2559. สำนักงานเกษตรอำเภอลาดบัว หลวง, พระนครศรีอยุธยา. 32 หน้า.
- สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์. 2546. ระเบียบวิธีวิจัยทางสังคม. เสี่ยงเชียง, กรุงเทพฯ. 146 หน้า.
- สุรียะวัลย์ เมฆกมล กาญจนา วิชิตตระกูลถาวร และ เรณู สุวรรณพรสกุล. 2559. ผลของไฟแชลเชื่อมซิติ เกิดในการควบคุมโรคราแป้งและราน้ำค้างของ แตงกวาญี่ปุ่นภายใต้สภาพโรงเรือนและแปลง ปลูกของเกษตรกร. วารสารเกษตร 32(1): 51- 59.
- Yamane, T. 1967. Elementary Sampling Theory. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. 405 p.

# การพัฒนามาสก์ไ้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร

## Development of Eyes Mask Containing Dragon Fruit Peel Extract

พิชชาภา โอจงเพียร พาณี ปิมปา และ เพ็ญศักดิ์ จันทราวุธ\*

Pichapar O-Chongpian, Panee Pimpa and Pensak Jantrawut\*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

\*Corresponding author: Email: pensak.amuamu@gmail.com

(Received: 22 March 2017; Accepted: 21 July 2017)

**Abstract:** The objective of this study was to develop the eyes mask formulations containing dragon fruit peel extract. Dragon fruit peels were extracted by distilled water, ethanol and ethanol:water (1:1) by maceration process and tested for *in vitro* antioxidative activity. The ethanol:water (1:1) extract of dragon fruit peel which demonstrated potent DPPH radical scavenging activity at the  $IC_{50}$  of  $4.21 \pm 0.17$  mg/ml was selected for further eyes mask formulation. The eyes mask formulation composed of gelatin (6.50 g), glycerin (17.16 g), pectin (1.28 g) and glutaraldehyde reagent (0.15 g) prepared by conventional solution casting method was developed. This formulation which showed the softness ( $291.50 \pm 4.95$  g) and thickness ( $0.16 \pm 0.02$  cm) values as well as swelling behavior similar to commercial eyes mask products was selected to load with dragon fruit peel extract. 30 Thai volunteers in the age range of 18-50 years old were enrolled in the *in vivo* test on human skin irritation and hydration studies. For skin irritation study, the eyes mask was applied on the volar forearm for 10 min and measured skin erythema by Mexameter<sup>®</sup> before and after applied at 30 min, whereas Corneometer<sup>®</sup> was used to measured skin hydration before and after applied at 10, 15 and 30 min. Eyes mask containing dragon fruit peel extract showed no skin irritation and significantly demonstrated higher improvement of skin hydration more than the untreated skin area. The developed eyes mask containing dragon fruit peel extract can be applied as a novel topical product due to their superior *in vivo* skin hydration effect.

**Keywords:** Dragon fruit peel, eyes mask, skin hydration, agricultural waste

**บทคัดย่อ:** งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับมาสก์ได้ตาดที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการบริโภคและแปรรูป โดยทำการสกัดเปลือกแก้วมังกรด้วยน้ำ เอทานอล และเอทานอลต่อน้ำ ในอัตราส่วน 1:1 โดยวิธีแช่หมัก (maceration) แล้วนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดเปลือกแก้วมังกรที่สกัดด้วยเอทานอลต่อน้ำ ในอัตราส่วน 1:1 ให้ฤทธิ์สูงสุดในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $4.21 \pm 0.17$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงเลือกสารสกัดนี้มาใช้ในขั้นตอนเตรียมตำรับมาสก์ได้ตาต่อไป ตำรับมาสก์ได้ตาที่ประกอบด้วยเจลาติน (6.5 กรัม) กลีเซอริน (17.16 กรัม) เพกติน (1.28 กรัม) และกลูตาแรลดีไฮด์รีเอเจนท์ (0.15 กรัม) ซึ่งเตรียมด้วยวิธีการหล่อแบบเดิม (conventional solution casting method) และจากการศึกษาสมบัติทางกายภาพพบว่า ตำรับมาสก์ได้ตาตามสูตรนี้ให้ค่าความนุ่ม ( $291.50 \pm 4.95$  กรัม) ความหนา ( $0.16 \pm 0.02$  เซนติเมตร) และพฤติกรรมการพองตัวใกล้เคียงกับมาสก์ได้ตาที่มีขายในท้องตลาดที่นำมาเปรียบเทียบ จึงเลือกตำรับมาสก์ได้ตานี้มาใส่สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่คัดเลือกไว้ เพื่อทดสอบการแพ้และความชุ่มชื้นต่อผิวหนังของอาสาสมัคร ซึ่งใช้อาสาสมัครคนไทยจำนวน 30 คน ที่มีอายุระหว่าง 18-50 ปี โดยให้แปะแผ่นมาสก์ได้ตาดที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่บริเวณท้องแขนเป็นเวลา 10 นาที แล้ววัดค่าความแดงของผิวหนังด้วยเครื่อง Mexameter<sup>®</sup> ก่อนและหลังใช้ 30 นาที และวัดค่าความชุ่มชื้นของผิวหนังด้วยเครื่อง Corneometer<sup>®</sup> ก่อนและหลังใช้ที่เวลา 10, 15 และ 30 นาที ผลการศึกษาพบว่า มาสก์ได้ตาดที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง และช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับผิวหนังบริเวณที่ไม่ได้ใช้ผลิตภัณฑ์ ดังนั้น มาสก์ได้ตาดที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่พัฒนาได้ เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่จะสามารถนำไปประยุกต์เพื่อใช้สำหรับผิวหนังต่อไป เนื่องจากมีศักยภาพในการเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนัง

**คำสำคัญ:** เปลือกแก้วมังกร มาสก์ได้ตา ความชุ่มชื้นต่อผิวหนัง วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

## คำนำ

แก้วมังกร หรือ dragon fruit เป็นผลของต้นไม้ ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hylocereus undatus* (Haworth) Britton & Rose (เนื้อสีขาว เปลือกสีแดงอมชมพู) หรือ *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose (เนื้อสีแดงเข้มอมม่วง เปลือกสีแดงอมชมพู) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์กระบองเพชร (Cactaceae) แก้วมังกรเป็นผลไม้ที่ให้พลังงานต่ำ น้ำตาลที่พบส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ในเนื้อของแก้วมังกรมีวิตามินซี โยอาหาร และโพแทสเซียมสูง โดยวิตามินซีมีส่วนช่วยในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน โยอาหารช่วยให้รู้สึกอิ่มนานและทำให้การขับถ่ายดีขึ้น นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก กระตุ้นการเจริญเติบโตของโปรไบโอติกในลำไส้ ช่วยในเรื่องการขับถ่าย และในเมล็ดของแก้วมังกรยังอุดมไปด้วยกรดไขมันจำเป็นซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย (กฤติยา, 2558) แก้วมังกรเป็นสินค้าเกษตรที่ประเทศไทยมีศักยภาพใน

การผลิต สามารถปลูกได้ในหลายพื้นที่ของประเทศและเป็นที่นิยมของผู้บริโภค ปัจจุบันประเทศไทยมีการส่งออกแก้วมังกรเป็นไปยังทวีปยุโรป และอเมริกา ในทวีปเอเชีย เช่น จีน ฮองกง สิงคโปร์ ญี่ปุ่น ซึ่งสร้างมูลค่าการส่งออกให้กับประเทศไทยเป็นอย่างมาก (สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี, 2558) นอกจากนี้ยังมีการแปรรูปแก้วมังกรภายในประเทศเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น แยมแก้วมังกร พุดสลดแก้วมังกร เยลลี่แก้วมังกร น้ำแก้วมังกรพร้อมดื่ม ข้าวเกรียบแก้วมังกร เป็นต้น (เอกพงศ์, 2557) การใช้ประโยชน์จากแก้วมังกรจึงมีเพียงการนำเนื้อจากผลไม้ไปรับประทานสด หรือแปรรูปเป็นอาหารและขนมต่าง ๆ ขณะที่ส่วนเปลือกแก้วมังกรจัดเป็นเศษเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีปริมาณมาก และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี เปลือกแก้วมังกร ซึ่งไม่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่นั้น สามารถนำมาสกัดทำเป็นสีจากธรรมชาติ เพื่อใช้ผสมในอาหารหรือเครื่องสำอาง (นิตดา และ ทวีทอง, 2550) ในเปลือกแก้วมังกร มีสารสำคัญที่พบหลัก ๆ ได้แก่ เพกติน (pectin) แครโทีนอยด์ (carotenoid) คลอโรฟิลล์

(chlorophyll) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) โพลีฟีนอล (polyphenol) และ เบตาเลน (betalain) จากการศึกษาของ Fathordobady *et al.* (2016) พบว่าเบตาเลนมีผลในการต้านออกซิเดชันมากที่สุด นอกจากนี้ในเปลือกแก้วมังกรยังมีสารประกอบประเภทโพลีฟีนอล เช่น ฟีนิล โพรพานอยด์ (phenylpropanoid) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และแทนนิน (tannin) ซึ่งจากการศึกษาของ Wu *et al.* (2006) พบว่าความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันสัมพันธ์กับปริมาณของเบต้าไซยานินและโพลีฟีนอล ดังนั้นปัจจุบันจึงได้มีการสกัดเปลือกแก้วมังกรมาศึกษาทั้งในแง่ของฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (กมลลักษณ์ และ วรพจน์, 2557) และการนำสารสกัดมาใช้เป็นสีจากธรรมชาติเพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรมและเภสัชกรรมกันอย่างแพร่หลาย งานวิจัยนี้เล็งเห็นถึงประโยชน์ของเปลือกแก้วมังกร เพื่อนำมาเป็นสีกัด และใช้เป็นสารสำคัญในการตั้งตำรับแผ่นมาสกี้ได้ตำ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าและใช้ประโยชน์อย่างสูงสุดจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของประเทศไทย

## อุปกรณ์และวิธีการ

### วัตถุดิบ

เก็บและคัดเลือกเปลือกแก้วมังกร แยกสายพันธุ์ เนื้อขาวเปลือกแดง และเนื้อแดงเปลือกแดง จากร้านขายผลไม้สดแปรรูปในจังหวัดเชียงใหม่ แล้วนำเปลือกที่ได้ไปลดขนาด และทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำไปลดขนาดอีกครั้ง ก่อนใช้ในขั้นตอนต่อไป

### การสกัดสารสำคัญจากเปลือกแก้วมังกรโดยวิธีแช่หมัก (maceration)

สกัดสารสำคัญจากเปลือกแก้วมังกรด้วยวิธีแช่หมัก โดยนำเปลือกแก้วมังกรที่ทำให้แห้งและลดขนาดแล้วจำนวน 50 กรัม ผสมกับน้ำ เอทานอล หรือน้ำต่อเอทานอลในอัตราส่วน 1:1 จำนวน 400 มิลลิลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียสในที่มีด หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 นำไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศ (vacuum

rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่แห้ง เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้ (% yield) เก็บสารสกัดในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

### การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging activity

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนี้ดัดแปลงจากวิธีการของ Tachibana *et al.* (2001) และ พสุธร และ สรณะ (2559) เริ่มต้นโดยการเตรียมสารสกัดเปลือกแก้วมังกรทั้งสองสายพันธุ์ 5 ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.1-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน ethanol และ 20% v/v DMSO (อัตราส่วน 1:1) เติมสารละลาย DPPH ในเอทานอลที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็น เวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ  $27 \pm 2$  องศาเซลเซียส วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง well reader โดยใช้ butylated hydroxytoluene (BHT) และ vitamin E acetate เป็น positive controls ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หาค่า scavenging (%) ที่สารสกัดแต่ละความเข้มข้นสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตามสูตร scavenging (%) =  $(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / \text{Abs}_{\text{control}} \times 100\%$  นำค่า % scavenging ที่ได้ไปพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัด เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) เพื่อคัดเลือกสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ให้ค่า % scavenging มากที่สุด และค่า  $\text{IC}_{50}$  น้อยที่สุดไปใช้เป็นสารสำคัญในตำรับมาสกี้ได้ตำต่อไป

### การตั้งตำรับแผ่นมาสกี้ได้ตำ

ซึ่งเจลาติน 13.81, 11.38, 8.94, 7.72, 6.50, 5.28 และ 4.06 กรัม ผสมกับกลีเซอริน 10.73, 12.87, 15.02, 16.09, 17.16, 18.23 และ 19.30 กรัม ตามลำดับ ปรับปริมาตรให้เป็น 50 กรัมด้วยน้ำกลั่น นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง รอให้เย็นลง เติมเพกตินปริมาณ 1.28 กรัมลงไป นำไปปั่นด้วยเครื่องเขย่าสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็ก (magnetic stirrer) ที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที จนได้สารละลายที่

เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วรอให้เย็นลง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารกันเสีย (concentrated parabens) ปริมาณ 0.1 กรัม คนให้เข้ากัน แล้วเติมสารกลูตารัลดีไฮด์รีเอเจนท์ (glutaraldehyde reagent) ปริมาณ 0.15 กรัม เพื่อเป็นสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) ในสารละลาย คนด้วยเครื่องเขยาสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็ก ที่ความเร็ว 550 รอบต่อนาที จนได้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน นำสารละลายที่ได้ไปขึ้นเป็นแผ่นโดยวิธีการหล่อแบบเดิม (conventional solution casting method) โดยหล่อลงบนแผ่นแม่พิมพ์ซิลิโคน จากนั้นรอให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วลอกแผ่นมาสก์ออก เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

### การศึกษาสมบัติของแผ่นมาสก์ได้ตา

ศึกษาลักษณะภายนอกของแผ่นมาสก์ได้ตาด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ (stereo microscope) เพื่อดูลักษณะพื้นผิวและความเรียบในแต่ละตำรับ ทดสอบความนุ่มของแผ่นมาสก์ได้ตา โดยใช้เครื่องทดสอบเนื้อสัมผัส (texture analyzer) ใช้หัวทดสอบที่มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร กดลงไปบนแผ่นมาสก์ได้ตา ตั้งค่าความเร็วในการกดก่อนทดสอบ ตอนทดสอบ และหลังทดสอบเป็น 1.0, 1.7 และ 10.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ตามลำดับ ทำการทดสอบซ้ำ 5 ครั้งต่ออุณหภูมิห้อง เพื่อบันทึกค่าความนุ่มเฉลี่ยของแต่ละตำรับ และศึกษาการพองตัวของแผ่นมาสก์ได้ตาที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Devi *et al.* (2003) โดยนำตัวอย่างไปแช่โดยตรงในน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการชั่งน้ำหนักของแผ่นมาสก์ได้ตาที่เวลา 0, 15, 30, 60, 360 และ 1,440 นาที หลังจากนั้นทำให้ตัวอย่างแห้งโดยการซับด้วยกระดาษกรอง คำนวณเปอร์เซ็นต์การพองตัวจากสูตร  $\% \text{ swelling} = (W_s - W_0)/W_0 \times 100 \text{ g}$  เมื่อ  $W_s$  คือ น้ำหนักของแผ่นมาสก์ที่ดูดซับน้ำที่เวลาต่าง ๆ และ  $W_0$  คือ น้ำหนักแผ่นมาสก์แห้งเริ่มต้น ทดสอบ 3 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ย

### การเตรียมแผ่นมาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร

นำสารสกัดเปลือกแก้วมังกรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity สูงที่สุดจำนวน 0.5 กรัม ผสมสารละลายของเจลาตินและกลีเซอริน ที่ให้ลักษณะตำรับมาสก์ที่ดีที่สุด เพื่อเตรียมเป็นแผ่นมาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ตามขั้นตอนที่กล่าวไปข้างต้น เก็บรักษาแผ่นมาสก์ที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส ก่อนนำไปศึกษาลักษณะภายนอก ทดสอบความนุ่ม ศึกษาการพองตัว และใช้ตำรับมาสก์ได้ตาที่มีขายในท้องตลาดที่มีลักษณะใกล้เคียงกับตำรับมาสก์ได้ตาที่พัฒนาขึ้น จำนวน 2 ผลิตภัณฑ์เป็นตัวเปรียบเทียบ

### การทดสอบความชุ่มชื้นและการระคายเคืองในอาสาสมัคร

ศึกษาในประชากรกลุ่มเดียว โดยเป็นอาสาสมัครสัญชาติไทย จำนวน 30 คน (ชาย 15 คน และหญิง 15 คน) ที่มีอายุอยู่ในช่วง 18-50 ปี (อายุเฉลี่ย 29.20 ปี) ที่มีสุขภาพร่างกายแข็งแรง ไม่มีปัญหาสุขภาพ ไม่แพ้สารหรือเครื่องสำอางใด ๆ และไม่ได้ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือยาใด ๆ บนบริเวณที่ทดสอบ การทดสอบความชุ่มชื้นและการระคายเคืองในอาสาสมัครนี้ดัดแปลงจากวิธีของ Manosroi *et al.* (2011) โดยให้อาสาสมัครอยู่ในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิที่  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์  $75 \pm 2\%$  เป็นเวลา 20 นาทีก่อนการทดสอบ จากนั้นแปะแผ่นมาสก์ที่ตัดเป็นรูปคล้ายถ้วยขนาดประมาณ  $3 \times 7$  ตารางเซนติเมตร (ภาพที่ 1) ที่บริเวณท้องแขนของอาสาสมัคร จำนวน 1 แผ่น เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าความชุ่มชื้นของผิวหนัง โดยใช้เครื่อง Corneometer® CM825 (Courage & Khazaka, Cologne, Germany) ก่อนและหลังแปะแผ่นมาสก์ที่เวลา 10, 15 และ 30 นาที และใช้เครื่อง Mexameter® MX18 (Courage & Khazaka, Cologne, Germany) วัดค่าการแดงของผิว (erythema) เพื่อศึกษาการแพ้และระคายเคือง ทำการวัดก่อนการแปะแผ่นมาสก์เปรียบเทียบกับหลังแปะแผ่นมาสก์ที่เวลา 30 นาที ทดสอบซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยการแดงและความชุ่มชื้นของผิวหนัง ซึ่งวิธีการ



Figure 1. The eye mask containing dragon fruit peel extract

ทดสอบข้างต้นนี้ได้รับการอนุมัติแล้วจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### การแสดงผลและสถิติที่ใช้

ผลการศึกษาที่ได้แสดงในรูป ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน สำหรับการศึกษาความชุ่มชื้นและการระคายเคืองใช้สถิติ paired *t*-test ในการประเมินผล โดยมีค่านัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ( $P$ -value  $< 0.05$ ) และใช้โปรแกรม SPSS software version 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) ในการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### การสกัดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

เมื่อเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้ (% yield) ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรพบว่า สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดงที่ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล : น้ำ (1:1) มีค่ามากที่สุด คือ 4.48% รองลงมาเป็นสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง ที่ตัวทำละลายชนิดเดียวกันให้ yield เท่ากับ 4.12% (ตารางที่ 1) จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ภาพที่ 2 และตารางที่ 2) พบว่า สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรพันธุ์แดงที่ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล : น้ำ (1:1) มีค่า scavenging activity เท่ากับ 91.40% และให้ค่า  $IC_{50}$  ต่ำที่สุด คือ  $4.21 \pm 0.17$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอื่น ๆ ในขณะที่ BHT และ vitamin E acetate ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.10 \pm 0.02$  และ  $0.21 \pm 0.08$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ถึงแม้ว่าสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรจะให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าสาร

มาตรฐาน แต่การใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล : น้ำ (1:1) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด อาจเนื่องจากสาร betacyanins จัดอยู่ในกลุ่มของเบตาเลน มีสมบัติเป็นเป็นสารชอบน้ำ (hydrophilic) เนื่องจากในโครงสร้างมีหมู่ hydroxyl (-OH) ซึ่งทำให้เกิด charge-polarizing และพันธะไฮโดรเจน ดังนั้นการเพิ่มอัตราส่วนของน้ำจะสกัดสาร betacyanins ออกมาได้มากขึ้น ทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากขึ้นด้วย แต่การใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำอย่างเดียว แม้ว่าจะทำให้สกัดสารสำคัญออกมาได้ปริมาณมากขึ้น แต่จะมีสารเมือก (mucilage) ของเพกตินจากเปลือกแก้วมังกร ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ละลายออกมาด้วย ทำให้สารสกัดที่ได้มีความข้นเหนียว กรองยาก และใช้เวลานานในการกรอง ทำให้ได้เปอร์เซ็นต์ผลที่ได้ของสารสกัดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระต่ำ โดยมีการศึกษาของ Fathordoobady *et al.* (2016) สนับสนุนว่าการเพิ่มอัตราส่วนตัวทำละลายน้ำมากกว่า 50% จะทำให้การแยกและการกรองสารสกัดยากขึ้น ซึ่งส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้ของสารสกัดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ในทางทฤษฎีของค่า % scavenging และ  $IC_{50}$  ควรไปในทิศทางเดียวกัน คือ % scavenging มีค่ามาก แปลว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และ  $IC_{50}$  ควรมีค่าน้อย เพราะสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ แม้ในความเข้มข้นต่ำได้ จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรพันธุ์แดงที่ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล : น้ำ (1:1) มีค่า  $IC_{50}$  ต่ำที่สุด  $4.21 \pm 0.17$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมี % scavenging ที่ความเข้มข้นสูงสุด เท่ากับ 91.41% ในขณะที่การใช้เอทานอลในการสกัดได้ % scavenging ที่เข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 95.23% และมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $4.65 \pm 0.02$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 2 และตารางที่ 2) แม้จะมีค่า % scavenging มากกว่า แต่การใช้ค่า  $IC_{50}$  ในการเลือกชนิดของสารสกัดที่ให้ฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระ มีความน่าเชื่อถือมากกว่า เนื่องจากหาได้จากการแทนค่าในสมการที่ได้จากการพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัด ซึ่งสามารถดูความเป็นเส้นตรง (linearity)

ของสมการได้จากค่า  $R^2$  (Araujo, 2009) ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดงที่สกัดด้วย เอทานอล : น้ำ ในอัตราส่วน 1:1 ไปใช้เป็นสารสำคัญที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตำรับมาส์กได้ตามต่อไป

Table 1. Comparison of percentage yields of dragon fruit peel extracts prepared by maceration in different solvents

| Sample                       | Part used | % yield of each solvent |       |               |
|------------------------------|-----------|-------------------------|-------|---------------|
|                              |           | ethanol                 | water | ethanol:water |
| <i>Hylocereus undatus</i>    | peel      | 0.28                    | 1.50  | 4.12          |
| <i>Hylocereus polyrhizus</i> | peel      | 1.22                    | 1.50  | 4.48          |

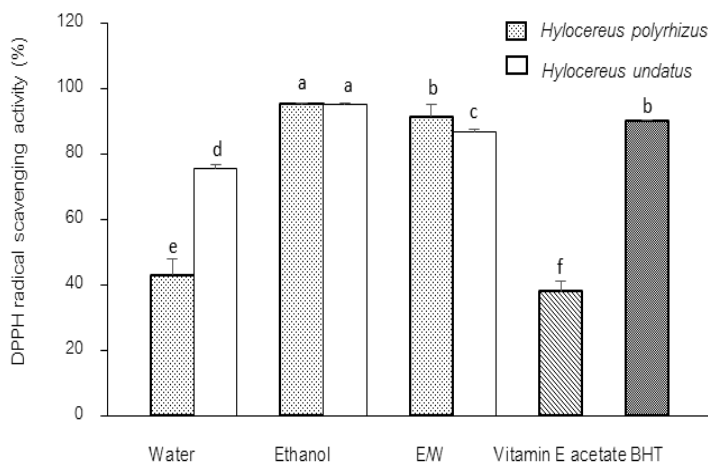


Figure 2. The percentages DPPH radical scavenging activity of dragon fruit peel extracts at 10 mg/ml. Mean values  $\pm$  standard deviations followed by the same lowercase letters (a-f) within the graph are not different ( $P>0.05$ )

Table 2.  $IC_{50}$  values of DPPH radical scavenging assay of dragon fruit peel extracts in different solvents

| Solvent               | Dragon fruit peel            | $IC_{50}$ (mg/ml) (mean $\pm$ S.D.) |
|-----------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| Ethanol               | <i>Hylocereus polyrhizus</i> | $4.61 \pm 0.01^a$                   |
|                       | <i>Hylocereus undatus</i>    | $4.29 \pm 0.02^b$                   |
| Water                 | <i>Hylocereus polyrhizus</i> | $10.46 \pm 0.77^c$                  |
|                       | <i>Hylocereus undatus</i>    | $4.76 \pm 1.38^a$                   |
| Ethanol : water (1:1) | <i>Hylocereus polyrhizus</i> | $4.21 \pm 0.17^b$                   |
|                       | <i>Hylocereus undatus</i>    | $5.41 \pm 0.16^d$                   |
| Vitamin E acetate     |                              | $0.21 \pm 0.08^e$                   |
| BHT                   |                              | $0.10 \pm 0.02^f$                   |

<sup>a-f</sup> Mean values  $\pm$  standard deviations followed by the same lowercase superscript letters within a column are not different ( $P>0.05$ )



## การเตรียมตำรับมาสก์ได้ตาและการศึกษาสมบัติทางกายภาพ

การเตรียมแผ่นมาสก์จากเพกติน เจลาติน และกลีเซอริน โดยเพกตินและเจลาตินทำหน้าที่เป็นสารก่อเจล กลีเซอรินทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ (plasticizer) และกลูตาแรลดีไฮด์รีเอเจนท์เป็นสารเชื่อมขวาง จากการศึกษาของ Farris *et al.* (2011) รายงานว่า เพกตินเป็นสารคาร์โบไฮเดรตประจุลบ (anionic polysaccharide) ที่มีหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl;  $-\text{COOH}$ ) ซึ่งมีประจุลบสามารถทำปฏิกิริยาแบบ ionic interaction กับหมู่เอมิโน (amino;  $-\text{NH}_2$ ) ซึ่งมีประจุบวกบนสายของเจลาติน และเกิดเป็นแผ่นไฮโดรเจลแบบผันกลับได้ (reversible physical hydrogel) แต่สมบัติเชิงกลไม่แข็งแรงและไม่ทนต่อน้ำ จึงมีการปรับปรุงสมบัติของแผ่นไฮโดรเจลโดยใช้กลูตาแรลดีไฮด์รีเอเจนท์เป็นสารเชื่อมขวาง ซึ่งสารนี้มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde;  $-\text{CHO}$ ) 2 หมู่ สามารถเกิดพันธะ covalent ได้กับหมู่คาร์บอกซิล ของเพกติน และเกิดเป็น hemiacetal กับหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl;  $-\text{OH}$ ) ของเจลาติน อีกทั้งหมู่ unprotonated amino บนสายของเจลาตินสามารถเกิดพันธะกับหมู่คาร์บอนิล (carbonyl;  $-\text{CO}-$ ) ของกลูตาแรลดีไฮด์รีเอเจนท์ได้อีกด้วย การเกิดพันธะเหล่านี้ทำให้ได้แผ่นไฮโดรเจลที่มีสมบัติเชิงกลที่

แข็งแรงขึ้น และจากผลศึกษาครั้งนี้ ยังพบว่าเมื่อลดปริมาณเจลาติน และเพิ่มปริมาณกลีเซอรินมีผลต่อลักษณะทางกายภาพของแผ่นมาสก์ คือทำให้แผ่นมาสก์มีความนุ่มมากขึ้น การศึกษาของ Gupta *et al.* (2014) ยืนยันว่าเมื่อเพิ่มปริมาณกลีเซอรินทำให้ค่า tensile strength ลดลง ค่า elongation at break เพิ่มขึ้น และค่า Young's modulus ลดลง แสดงถึงความนุ่มและความยืดหยุ่นของแผ่นไฮโดรเจล อย่างไรก็ตาม พบว่าการลดปริมาณของเจลาตินและเพิ่มปริมาณของกลีเซอรินที่มากเกินไปทำให้ขึ้นรูปเป็นแผ่นยาก และมีสมบัติเชิงกลที่ไม่แข็งแรง ดังเช่นตำรับที่ 7 ตามตารางที่ 3 จากตำรับที่ 5 ที่มีปริมาณของเจลาติน 6.50 กรัม และกลีเซอริน 17.16 กรัม วัดค่าความนุ่มเฉลี่ยของแผ่นมาสก์เท่ากับ 291.50 กรัม ความหนาเฉลี่ยเท่ากับ 0.16 เซนติเมตร และตำรับที่ 6 ที่มีปริมาณของเจลาติน 5.28 กรัม และกลีเซอริน 18.23 กรัม วัดค่าความนุ่มเฉลี่ยของแผ่นมาสก์ได้เท่ากับ 207.93 กรัม ความหนาเฉลี่ยเท่ากับ 0.15 เซนติเมตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่มีขายในท้องตลาดสูตรที่ 1 วัดค่าความนุ่มเฉลี่ยของแผ่นมาสก์ได้เท่ากับ 242.60 กรัม ความหนาเฉลี่ยเท่ากับ 0.15 เซนติเมตร และตำรับที่มีขายในท้องตลาดสูตรที่ 2 วัดค่าความนุ่มเฉลี่ยได้เท่ากับ 233.50 กรัม ความหนาเฉลี่ยเท่ากับ 0.16 เซนติเมตร

Table 3. Contents of gelatin and glycerin, average softness and thickness of eye mask formulation with and without dragon fruit peel extract

| Formulation No.              | Content in formulation (g) |          | Average softness<br>(g $\pm$ S.D.) | Average thickness<br>(cm $\pm$ S.D.) |
|------------------------------|----------------------------|----------|------------------------------------|--------------------------------------|
|                              | Gelatin                    | Glycerin |                                    |                                      |
| 1                            | 13.81                      | 10.73    | 10183.85 $\pm$ 302.87 <sup>f</sup> | 0.10 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>         |
| 2                            | 11.38                      | 12.87    | 5722.60 $\pm$ 338.78 <sup>e</sup>  | 0.15 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>         |
| 3                            | 8.94                       | 15.02    | 422.50 $\pm$ 17.55 <sup>d</sup>    | 0.12 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>         |
| 4                            | 7.72                       | 16.09    | 327.15 $\pm$ 17.25 <sup>c</sup>    | 0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>         |
| 5                            | 6.50                       | 17.16    | 291.50 $\pm$ 4.95 <sup>b</sup>     | 0.16 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>         |
| 6                            | 5.28                       | 18.23    | 207.93 $\pm$ 25.30 <sup>a</sup>    | 0.15 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>         |
| 7                            | 4.06                       | 19.30    | 48.20 $\pm$ 12.50 <sup>g</sup>     | cannot detect                        |
| 5 <sup>th</sup> with extract | 6.50                       | 17.16    | 1960.33 $\pm$ 4.86 <sup>h</sup>    | 0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>         |
| Reference 1                  | -                          | -        | 242.60 $\pm$ 43.56 <sup>a</sup>    | 0.15 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>         |
| Reference 2                  | -                          | -        | 233.50 $\pm$ 34.60 <sup>a</sup>    | 0.16 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>         |

<sup>a-h</sup> Mean values  $\pm$  standard deviations followed by the same lowercase superscript letters within a column are not different ( $P > 0.05$ )

ดังนั้นตำรับที่ 5 และตำรับที่ 6 ซึ่งมีค่าความนุ่มและความหนาใกล้เคียงกับตำรับที่มีขายในท้องตลาด จึงเป็นตำรับที่เหมาะสมที่จะนำไปทดสอบสมบัติการพองตัวต่อไป จากการศึกษาการพองตัวของแผ่นมาสก์และตำรับที่มีขายในท้องตลาด (ภาพที่ 3) พบว่าตำรับที่ 5 มีการพองตัวขึ้นเพิ่มขึ้นตั้งแต่เวลาที่ 0 นาที จนพองตัวมากที่สุดที่เวลา 6 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การพองตัวเท่ากับ 64.15% และที่เวลา 24 ชั่วโมงมีการพองตัวลดลงเหลือ 53.89% ส่วนตำรับที่ 6 มีการพองตัวเพิ่มขึ้นตั้งแต่เวลาที่ 0 นาที จนพองตัวมากที่สุดที่เวลา 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์การพองตัวเท่ากับ 23.52% หลังจากนั้นการพองตัวลดลง และมีค่าติดลบที่เวลา 24 ชั่วโมงเท่ากับ -7.56% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่มีขายในท้องตลาดสูตรที่ 1 มีการพองตัวขึ้นเพิ่มขึ้นตั้งแต่เวลาที่ 0 นาที จนพองตัวมากที่สุดที่เวลา 6 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การพองตัวเท่ากับ 92.64% และที่เวลา 24 ชั่วโมงมีการพองตัวลดลงเล็กน้อยเหลือ 92.32% ส่วนตำรับที่มีขายในท้องตลาดสูตรที่ 2 พบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไปการพองตัวจะเพิ่มขึ้น เมื่อครบ 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การพองตัวเท่ากับ 64.35% จากผลลักษณะทางกายภาพดังกล่าว จึงเลือกตำรับที่ 5 ซึ่งมีพฤติกรรมพองตัว ความนุ่ม ความหนา คล้ายกับตำรับที่มีขายในท้องตลาด ไปพัฒนาเป็นตำรับมาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรต่อไป

### การศึกษาสมบัติทางกายภาพของตำรับมาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร

การศึกษาลักษณะภายนอกของแผ่นมาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร พบว่ามีลักษณะพื้นผิวเรียบ สีแดง โปร่งแสง มีความนุ่มเฉลี่ยเท่ากับ 1960.33 กรัม และมีความหนาเฉลี่ยเท่ากับ 0.14 เซนติเมตร จากการศึกษาการพองตัวของแผ่นมาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร พบว่ามีการพองตัวขึ้นเพิ่มขึ้นตั้งแต่เวลาที่ 0 นาที จนพองตัวมากที่สุดที่เวลา 30 นาที มีเปอร์เซ็นต์การพองตัวเท่ากับ 36.44% หลังจากนั้นการพองตัวจะลดลง และมีค่าติดลบที่เวลา 24 ชั่วโมงเท่ากับ -4.95% (ภาพที่ 3) เนื่องจากเกิดการละลายของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรออกมาด้วย การใส่สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรลงในตำรับมาสก์ทำให้เกิดการสร้างพันธะเป็นโครงร่างตาข่ายภายในของตำรับมาสก์มากขึ้น ทำให้ได้แผ่นมาสก์ที่มีความแข็งเพิ่มขึ้นจากตำรับมาสก์ที่ไม่ใส่สารสกัด ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของแผ่นมาสก์ที่ได้ โดยเฉพาะความแข็งของแผ่นมาสก์ที่เพิ่มขึ้น มีรายงานการศึกษาของ Dastidar and Netravali (2012) และ Olsson *et al.* (2013) พบว่าสาร polysaccharide สามารถเกิด esterification กับสาร polycarboxylic acids เช่น citric acid สามารถทำหน้าที่เป็นสารเชื่อมขวาง (crosslinking agent) ได้ การมี polycarboxylic acid ในตำรับ จึงส่งผลทำให้แผ่นไฮโดรเจลแข็งขึ้นและยืดหยุ่นน้อยลง (Azeredo *et al.*, 2016) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า สาร polycarboxylic acid ในสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ทำให้ความแข็งของแผ่นมาสก์เพิ่มขึ้น

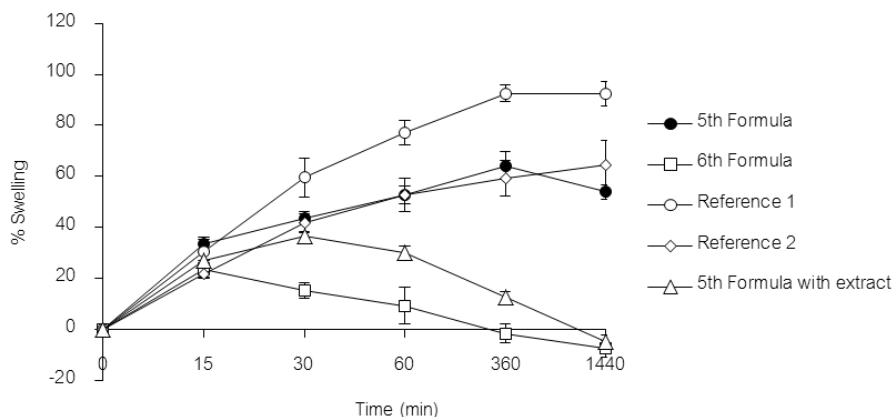


Figure 3. Swelling behaviors of eye mask formulation with and without dragon fruit peel extract

การศึกษาศสมบัติทางกายภาพครั้งนี้ได้เลือกใช้ความหนา ความนุ่ม และการพองตัวของแผ่นมาสก์ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้มีลักษณะคล้ายคลึงกับผลิตภัณฑ์มาสก์ได้ตาที่มีจำหน่ายในท้องตลาด โดยความหนาและความนุ่มของแผ่นมาสก์ได้ตาที่พอเหมาะจะส่งผลที่ดีต่อความรู้สึกของผู้ใช้ ส่วนความสามารถในการดูดซับน้ำและเปอร์เซ็นต์การพองตัวของผลิตภัณฑ์ จะส่งผลต่อพฤติกรรมการกักเก็บและปลดปล่อยตัวยาหรือสารออกฤทธิ์ ทั้งนี้สมบัติการพองตัวขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของหมู่ชอบน้ำ (hydrophilic groups) ในโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบ และความหนาแน่นของพันธะเชื่อมข้ามที่มีภายในโครงสร้าง (Bhattarai *et al.*, 2010) ดังนั้นแผ่นมาสก์ที่มีการพองตัวที่ดี จึงมีแนวโน้มในการปลดปล่อยตัวยาหรือสารออกฤทธิ์สูงด้วย

#### การทดสอบความชุ่มชื้นและการระคายเคืองในอาสาสมัคร

จากการทดสอบความชุ่มชื้นของผิวหนังอาสาสมัครบริเวณที่ใช้ และไม่ใช้มาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ทั้งก่อนและหลังจากการใช้ผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 10, 15 และ 30 นาที พบว่าปริมาณความชุ่มชื้นของผิวหนังทั้งสองบริเวณแตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ , paired *t*-test) หลังจากใช้ผลิตภัณฑ์เมื่อเวลาต่างๆ แต่ค่าปริมาณความชุ่มชื้นไม่แตกต่างกันก่อนเริ่มใช้ผลิตภัณฑ์ แสดงให้เห็นว่า การใช้มาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนัง และสามารถคงความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังได้นานถึง 30 นาที (ภาพที่ 4) โดยกลไกในการเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนัง อาจเนื่องมาจากความสามารถในการปิดกั้น (occlusive effect) ของแผ่นมาสก์ที่มีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มปิดบนผิวหนัง ไม่ให้ความชื้นที่บริเวณผิวหนังชั้นบนสุดระเหยออกไป อีกทั้งกลีเซอรินในตำรับมาสก์ยังทำหน้าที่เป็นสารดูดความชื้น (humectant) ที่ช่วยดูดเก็บความชุ่มชื้นไว้บริเวณผิวหนังชั้นบนสุด (Lodén, 1992; Lodén *et al.*, 2001) นอกจากนี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ยังสามารถช่วยยับยั้งการทำลายผิวจากอนุมูลอิสระ ที่อาจเป็นสาเหตุของริ้วรอยและความหมองคล้ำได้ดวงตาอีกด้วย สำหรับการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร พบว่าค่าดัชนีความแดงของผิวหนังไม่แตกต่างระหว่างบริเวณที่ใช้และไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ ( $P > 0.05$ , paired *t*-test) ทั้งก่อนและหลังใช้เป็นเวลา 30 นาที (ภาพที่ 4) จึงสามารถสรุปได้ว่า มาสก์ได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร มีความปลอดภัย ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองในอาสาสมัคร

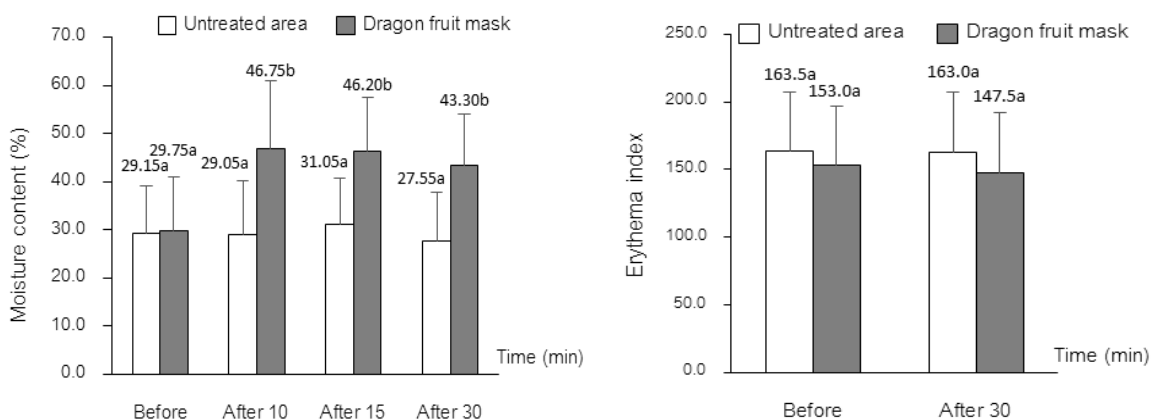


Figure 4. Comparison of moisture content (%) and erythema index of skin surface of untreated area and the area treated with dragon fruit mask at before and after the application. Paired *t*-test used to calculate significant differences. Mean values  $\pm$  standard deviations followed by the same lowercase letters (a, b) within each graph are not different ( $P > 0.05$ )

## สรุป

แก้วมังกรเป็นหนึ่งในผลไม้เศรษฐกิจของประเทศไทย ที่เมื่อบริโภคหรือแปรรูปผลแล้ว จะมีเปลือกเหลือทิ้งอยู่เป็นจำนวนมาก ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีแนวคิดนำเปลือกแก้วมังกรเหลือทิ้ง มาพัฒนาต่อเป็นผลิตภัณฑ์มาส์กได้ตา โดยนำสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่สกัดด้วยเอทานอล:น้ำ ที่อัตราส่วน 1:1 ที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุดในหลอดทดลอง มาผสมลงในตำรับมาส์กได้ตาที่ประกอบด้วยเจลาติน 6.50 กรัม กลีเซอริน 17.16 กรัม กลีเซอริน เพกติน 1.28 กรัม และกลูตาแรลดีไฮด์รีเอเจนท์ 0.15 กรัม จากทดสอบในอาสาสมัครพบว่ามาส์กได้ตาที่มีสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ไม่ก่อให้เกิดการระคาย อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวได้อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้การนำวัตถุดิบจากธรรมชาติมาใช้ในการวิจัยควรศึกษาสถานที่ปลูก การดูแลเก็บเกี่ยว เพื่อให้ได้สารสำคัญที่มีมาตรฐานและมีปริมาณคงที่ในการสกัดแต่ละครั้ง การพัฒนางานวิจัยในอนาคต สามารถนำผลการศึกษาไปใช้เป็นพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่สามารถออกสู่ท้องตลาดได้ โดยอาจศึกษาความคงตัวและการปลดปล่อยสารสำคัญของตำรับมาส์กได้ตาที่มีสารสกัดเพิ่มเติม นอกจากนี้ผลการศึกษาที่ได้ยังเป็นแนวทางในการพัฒนาตำรับอื่น ๆ จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอื่น ๆ อีกด้วย

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับทุนในการทำวิจัยบางส่วน

## เอกสารอ้างอิง

- กมลลักษณะณ์ มาสำโรง และ วรพจน์ สุนทรสุข. 2557. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และต้านแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกแก้วมังกร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 45(2): 269-272.
- กฤติยา ไชยนอก. 2558. แก้วมังกรผลไม้เชื่อมมงคล. จุลสารข้อมูลสมุนไพร 33(4): 3-15.
- นิตดา หงส์วิวัฒน์ และ ทวีทอง หงส์วิวัฒน์. 2550. แก้วมังกร ใน ผลไม้ 111 ชนิด: คุณค่าอาหารและการกิน. สำนักพิมพ์แสงแดด, กรุงเทพฯ. 324 หน้า.
- พสุธร อุ๋นอมรมาศ และ สรณะ สมโน. 2559. การวิเคราะห์หาสารสำคัญและฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้บางชนิด. วารสารเกษตร 32(3): 435-445.
- สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี. 2558. พระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 132 ตอนพิเศษ 302 ง. สำนักพิมพ์คณะรัฐมนตรีและราชกิจจานุเบกษา, กรุงเทพฯ. 4 หน้า.
- เอกพงศ์ มุสิกะเจริญ. 2557. การแปรรูปแก้วมังกร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : [http://www.clinictech.most.go.th/online/pages/techlist\\_display.asp?tid=1370](http://www.clinictech.most.go.th/online/pages/techlist_display.asp?tid=1370) (15 มีนาคม 2560).
- Araujo, P. 2009. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences 877(23): 2224-2234.
- Azeredo, H.M.C., R. Morrugares-Carmona, N. Wellner, K. Cross, B. Bajka and K.W. Waldron. 2016. Development of pectin films with pomegranate juice and citric acid. Food Chemistry 198: 101-106.
- Bhattarai, N., J. Gunn and M. Zhang. 2010. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews 62: 83-99.
- Dastidar, T.G. and A.N. Netravali. 2012. Green crosslinking of native starches with malonic acid and their properties. Carbohydrate Polymers 90(4): 1620-1628.

- 
- Devi. K.V., S. Saisivam, G.R. Maria and P.U. Deepti. 2003. Design and evaluation of matrix diffusion controlled transdermal patches of verapamil hydrochloride. Drug Development and Industrial Pharmacy 29(5): 495-503.
- Farris, S., K.M. Schaich, L. Liu, P.H. Cooke, L. Piergiovanni and K.L. Yam. 2011. Gelatin-pectin composite films from polyion-complex hydrogels. Food Hydrocolloids 25(1): 61-70.
- Fathordoobady, F., H. Mirhosseini, J. Selamat and M.Y.A. Manap. 2016. Effect of solvent type and ratio on betacyanins and antioxidant activity of extracts from *Hylocereus polyrhizus* flesh and peel by supercritical fluid extraction and solvent extraction. Food Chemistry 202: 70-80.
- Gupta, B., M. Tummalapalli, B.L. Deopura and M.S. Alam. 2014. Preparation and characterization of *in-situ* crosslinked pectin-gelatin hydrogels. Carbohydrate Polymers 106: 312-318.
- Lodén, M. 1992. The increase in skin hydration after application of emollients with different amounts of lipids. Acta Dermato Venereologica 72: 327-330.
- Lodén, M., A.C. Andersson, C. Andersson, T. Frödin, H. Oman and M. Lindberg. 2001. Instrumental and dermatologist evaluation of the effect of glycerine and urea on dry skin in atopic dermatitis. Skin Research and Technology 7: 209-213.
-



# การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ระบาดในฟาร์มปลานิล โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี

## Diagnosis of Bacterial Fish Pathogen Outbreaks in Tilapia Farms by PCR-RFLP

จตุรนต์ ป้องน้ำไผ่ และ ชนกนันต์ จิตมนัส<sup>\*</sup>  
Jaturon Pongnumpai and Chanagun Chitmanat<sup>\*</sup>

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290  
Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

<sup>\*</sup>Corresponding author: Email: chanagun1@hotmail.com

(Received: 4 January 2017; Accepted: 24 April 2017)

**Abstract:** Bacterial fish diseases cause huge economic loss to the aquaculture business. An accurate and rapid diagnosis is essential for disease prevention and treatment. This study aimed to apply traditional and PCR-RFLP means for fish pathogen identification. It was found that the bacterial disease outbreak in cultured fish in northern Thailand were the results of mixed infections since some bacteria were simultaneously isolated from infected fish. The common bacteria were *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas* sp. and *Streptococcus* sp. Clinical signs, gross morphological changes, and wet mount could be used to identify some bacterial infection. PCR-RFLP is just another molecular tool for the identification of pathogenic bacteria which is more suitable to detect a viral infection. However, disease prevention by good management practices are needed as it is extremely difficult for fish disease treatment.

**Keywords:** Fish diseases, fish diagnosis, *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas* sp., *Streptococcus* sp.

**บทคัดย่อ:** โรคติดเชื้อแบคทีเรียสร้างความเสียหายให้กับธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจำนวนมาก การตรวจวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องและรวดเร็วจะมีส่วนช่วยในการป้องกันรักษาโรคสัตว์น้ำ งานวิจัยนี้เป็นการจำแนกเชื้อแบคทีเรียเดิมเปรียบเทียบกับ การตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี จากการศึกษา พบว่า การตายของปลาในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาในภาคเหนือของประเทศไทย เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เพราะสามารถแยกเชื้อได้หลายชนิดพร้อมกัน ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยที่สุด คือ *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. เชื้อแบคทีเรียบางชนิดสามารถตรวจสอบได้จากอาการของปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรีย หรือการทำสไลด์เปียก (wet mount) การใช้เทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี เป็นเพียงตัวช่วยเพื่อยืนยันชนิดของเชื้อโรค ซึ่งน่าจะเหมาะสมสำหรับการตรวจเชื้อไวรัสแฝงมากกว่า อย่างไรก็ตาม การป้องกันโรคโดยการบริหารจัดการเลี้ยงที่ดีเป็นสิ่งจำเป็น เนื่องจากการรักษาโรคสัตว์น้ำทำได้ยาก

**คำสำคัญ:** โรคปลา การตรวจวินิจฉัย *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas* sp., *Streptococcus* sp.

## คำนำ

ปัจจุบันการเลี้ยงปลานิลสร้างรายได้และก่อให้เกิดอุตสาหกรรมต่อเนื่องมากมาย ผลผลิตปลานิลในประเทศไทยมีอัตราการขยายตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 7 ต่อปี แต่ปี พ.ศ. 2558 มีผลผลิตประมาณ 196,614 ตัน ซึ่งลดลงประมาณ 4% เมื่อเทียบกับปี พ.ศ. 2557 (เกวลิน, 2559) อย่างไรก็ตาม ในช่วงปีที่ผ่านมาธุรกิจการเลี้ยงปลานิลประสบปัญหาอากาศร้อนจัด และภัยแล้งทำให้ขาดแคลนน้ำ ภูมิอากาศที่แปรปรวนมีผลกระทบต่อลูกปลารายอ่อน (คณนา, 2559) รวมทั้งปัญหาโรคระบาดจากเชื้อแบคทีเรีย สร้างความเสียหายอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะโรคเหงือกเน่า ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Flavobacterium columnare* ทำให้ปลาเกิดโรคคออักเสบ (columnaris) (Grabowski et al., 2004; Decostere et al., 1997) แล้วยังพบโรคที่เกิดจากเชื้อ *Aeromonas* sp. และโรคตาโปนที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. แบคทีเรียที่พบบ่อยเหล่านี้ยังสร้างความเสียหายให้กับการเลี้ยงปลาทุก กบ และปลาน้ำจืดอื่น ๆ และมักพบบ่อยในบ่อที่เลี้ยงด้วยอาหารสดหรือการเลี้ยงแบบผสมผสาน ซึ่งเชื้อตัวนี้จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำอยู่แล้วโดยเฉพาะแหล่งที่มีสารอินทรีย์สูง ความเครียดไม่ว่าจะเป็นการขนส่ง การเคลื่อนย้าย ปริมาณออกซิเจนที่ต่ำ การให้อาหารที่ไม่ดี การมีปรสิตเกาะเป็นจำนวนมาก ล้วนแต่เป็นสาเหตุเหนี่ยวนำให้ปลาติดเชื้อแบคทีเรีย (ชนกันต์, 2548) Ismail et al. (2016) รายงานว่า อุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดีและมีผลต่อการย่อย

สลายสารอาหารในน้ำ โดยเฉพาะอาหารที่เหลือและสิ่งขับถ่ายจากปลา ทำให้เกิดปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่สูงขึ้นตามไปด้วย ซึ่งการป้องกันการระบาดของโรค ทำได้โดยการลดความบอบช้ำจากการจับและคัดขนาดปลา ไม่เลี้ยงปลาหนาแน่น ใส่ระวางอย่าให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำ (Bullock et al., 1986) ในขณะที่อุณหภูมิต่ำในช่วงฤดูหนาวทางภาคเหนือ จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของปลานิล (เกตุณัฏฐ์ และคณะ, 2556)

มีรายงานความเสียหายจากโรคติดเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้เป็นระยะ ๆ ทั่วประเทศไทย ส่งผลให้เกษตรกรมีความเสี่ยงต่อการขาดทุน Dong et al. (2015) สามารถแยกเชื้อจากปลานิลที่เป็นโรคระบาดประกอบด้วยแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *F. columnare*, *A. veronii*, *P. shigelloides*, *S. agalactiae* และ *V. cholera* และ ไวรัส 1 ชนิด คือ Iridovirus การวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องแม่นยำและรวดเร็วมีความสำคัญอย่างยิ่ง ซึ่งการตรวจวินิจฉัยโรคปลานิลอาจจะตรวจสอบจากอาการของโรค การตรวจลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ลักษณะของโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหาร ลักษณะทางชีวเคมี การย่อยสลายน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ซึ่งทำโดยบุคลากรที่มีความชำนาญและใช้เวลานานในการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีชีววิทยาโมเลกุลเข้ามาเป็นส่วนสำคัญในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อแบคทีเรีย ไม่ว่าจะเป็นเทคนิคพีซีอาร์ (Altinok et al., 2008) เทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี (Beaz-Hidalgo et al., 2010) หรือเทคนิคพีซีอาร์-ดีจีจีจี (Ji et al., 2004) โดยเฉพาะเทคโนโลยีในการเพิ่มจำนวนและวิเคราะห์ลำดับ DNA จะมีความไว



ถูกต้องและแม่นยำสูง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ระบาดในฟาร์ม ปลานิลโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี จาก 16s rDNA เป็น ตัวช่วยเพื่อจำแนกและยืนยันชนิดของเชื้อก่อโรคในปลา นิล Darwish and Ismaiel (2005) รายงานว่า ยีน 16S rDNA เป็นยีนที่มีวิวัฒนาการน้อยหรือตั้งอยู่ในบริเวณ อนุรักษ์ (a highly conserved gene) ทำให้สามารถใช้ใน การจำแนกชนิดแบคทีเรียได้ โดยข้อมูลที่ได้อาจจะช่วย อธิบายสายพันธุ์และความรุนแรงของเชื้อที่ศึกษา

## อุปกรณ์และวิธีการ

### แบคทีเรีย

บันทึกอาการของปลาที่เป็นโรคจากฟาร์มเลี้ยง ในกระชังและบ่อดินพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย จากนั้นแยกเชื้อแบคทีเรียจากปลา โดยข้อมูลของ แหล่งที่มาแสดงไว้ในตารางที่ 1 จำแนกเชื้อแบคทีเรียจาก ลักษณะรูปร่างเซลล์ และคุณสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้น เชื้อแบคทีเรียถูกเลี้ยงในอาหาร tryptic soy agar (TSA)(Difco™), tryptic soy broth (TSB)(Difco™), modified ordal agar (MOA) และ modified ordal broth (MOB) และบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง รวมจำนวนทั้งหมด 7 ตัวอย่าง ดังรายละเอียดในตาราง ที่ 1

### การสกัด DNA จากเชื้อแบคทีเรีย

ทำการสกัด genomic DNA จากเชื้อแบคทีเรีย ด้วย genomic DNA mini kit (Invitrogen) ตามวิธีที่ แนะนำโดยบริษัท และนำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้จากการ สกัดไปหาปริมาณและตรวจสอบคุณภาพด้วยเครื่องวัด การดูดกลืนแสง Spectrophotometer (Nanodrop 1000 spectrophotometer, Thermo Scientific, USA)

### การทำ polymerase chain reaction (PCR)

ทำการคัดลอกชิ้นส่วนดีเอ็นเอเฉพาะบริเวณ 16s rDNA จาก genomic DNA ที่สกัดได้ โดยทำปฏิกิริยา ในปริมาตร 25 µl ประกอบด้วย Dreamtaq green PCR master mix 12.5 µl, forward primer 27F 1 µl, reverse primer 1492R 1 µl, nuclease-free water 9.5 µl และ DNA template 1 µl และเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน 16s rDNA ให้มีปริมาณมากพอสำหรับใช้ในขั้นตอนต่อไป ด้วย ปฏิกิริยาลูกโซ่ polymerase chain reaction (PCR) ด้วย specific primers โดยมีลำดับเบส ได้แก่

27F-5' AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG 3'

1492R-5' CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT 3'

หมายเหตุ M = A or C และ expected PCR product มีขนาด 1470 bp

Table 1. List of bacterial strains collected from diseased fish

| Isolate | source                                                                                             | Fish farming | Date             |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|------------------|
| BT1     | Black tilapia, Srigun farm, San Sai, Chiang Mai                                                    | pond         | 10 January 2015  |
| BT2     | Black tilapia, Um-pon farm, San Sai, Chiang Mai                                                    | pond         | 15 February 2015 |
| BT3     | Black tilapia, Terapong farm, San Sai, Chiang Mai                                                  | pond         | 2 March 2015     |
| RT1     | Red tilapia, Jaturong farm, Chun, Phayao                                                           | cage         | 22 April 2015    |
| RT2     | Red tilapia, Sompong farm, Chun, Phayao                                                            | cage         | 22 April 2015    |
| S36     | Black tilapia, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai | pond         | 20 December 2014 |
| AF      | Black tilapia, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai | pond         | 20 December 2014 |

ทำการเพิ่มปริมาณ DNA ในเครื่อง T100™ Thermal Cycler โดย thermocycle program โดยป้อน PCR reaction ที่อุณหภูมิ 94 °C นาน 2 นาที เพื่อเตรียมดีเอ็นเอต้นแบบให้แยกเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวอย่างสมบูรณ์ (initial denaturation) จากนั้นจึงเริ่มปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR จำนวน 30 รอบ โดยเริ่มจากอุณหภูมิ 94 °C นาน 2 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอเสียสภาพแยกเป็นสายเดี่ยว (denaturation) จากนั้นลดอุณหภูมิลงเหลือ 60 °C นาน 45 วินาที เพื่อให้สายดีเอ็นเอต้นแบบจับกับไพรเมอร์ (annealing) แล้วจึงเพิ่มอุณหภูมิอีกครั้งที่ 72 °C นาน 2 นาที เพื่อให้เกิดการเพิ่มความยาวให้สายนิวคลีโอไทด์ (extension) เมื่อปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR ก่อนสิ้นสุดปฏิกิริยาให้คงอุณหภูมิที่ 72 °C นาน 5 นาที เพื่อให้เกิดการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่อย่างสมบูรณ์ (final extension)

#### เทคนิค PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism

ในปฏิกิริยาการตัดชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ด้วยเอนไซม์ Hae III ปริมาตร 20 µl ประกอบด้วย Hae III enzyme (Thermo scientific, Thailand) 1.5 µl, 10x Buffer restriction 1.5 µl, nuclease-free water 11 µl และ PCR reaction mixture 6 µl จากนั้นนำไปป้อนที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2-16 ชั่วโมง และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยป้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 20 นาที ตรวจสอบรูปแบบของขนาดของแถบดีเอ็นเอ ที่เกิดจากการตัดจำเพาะด้วย restriction enzyme Hae III โดยนำ digested PCR product ไป run ใน 1.5% agarose gel

electrophoresis วิเคราะห์ภายใต้รังสี ultraviolet ในเครื่อง Gel Doc™ XR+ and ChemiDoc™ XRS+ imaging systems

#### ผลการศึกษา

ลักษณะอาการของปลาที่เป็นโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *F. columnare* อย่างรุนแรง จะพบว่า ปลาจะลอยหัวขึ้นบริเวณผิวน้ำหรือบริเวณที่มีการเติมอากาศ เหงือกเน่าโดยมีลักษณะคล้ายดินตะกอนเกาะบริเวณเหงือก (ภาพที่ 1) เมื่อตัดบริเวณเหงือกไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จะเห็นกลุ่มของแบคทีเรียรูปท่อนยาวรวมตัวกันมีลักษณะคล้ายกองฟาง (ภาพที่ 2) ในขณะที่ลักษณะเด่นของปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. ตาโปน ชूनขาว มีการตกเลือดเป็นจุดเล็ก ๆ ตามลำตัวหรือบริเวณตา บางตัวจะว่ายน้ำคว่ำ (ภาพที่ 3) ส่วนปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. มักจะเป็นการติดเชื้อแบบฉวยโอกาส หลังจากบอบช้ำจากการลากอวนหรือการจับ (ภาพที่ 4) หากนำแบคทีเรียไปย้อมสีแกรม จะเห็นแบคทีเรีย *F. columnare* เป็นแบคทีเรีย แกรมลบ ติดสีชมพู มีเป็นลักษณะแท่งยาว ส่วนแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบเช่นเดียวกันแต่จะสั้นกว่า ในขณะที่ *Streptococcus* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลมติดสีน้ำเงิน (ภาพที่ 5)

เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่แยกจากปลาที่เป็นโรคจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งหมด 7 เชื้อ จำแนกชนิดโดยใช้เทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ Hae III จะพบว่ารูปแบบการตัดแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (ภาพที่ 6) คือ



Figure 1. The appearance of necrosis gills infected by *Flavobacterium columnare* infections

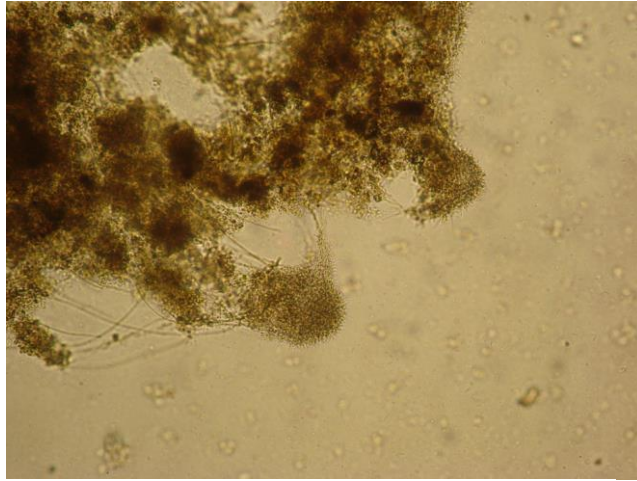


Figure 2. A wet mount of infected tissues observed under light microscopy (40x), the bacteria show a slow gliding movement, gathering into characteristic column-like masses or "haystacks"



Figure 3. Pin-point petechial hemorrhaging and exophthalmia caused by *Streptococcus* infection



Figure 4. Ulcer on skin of tilapia infecting by *Aeromonas* sp.

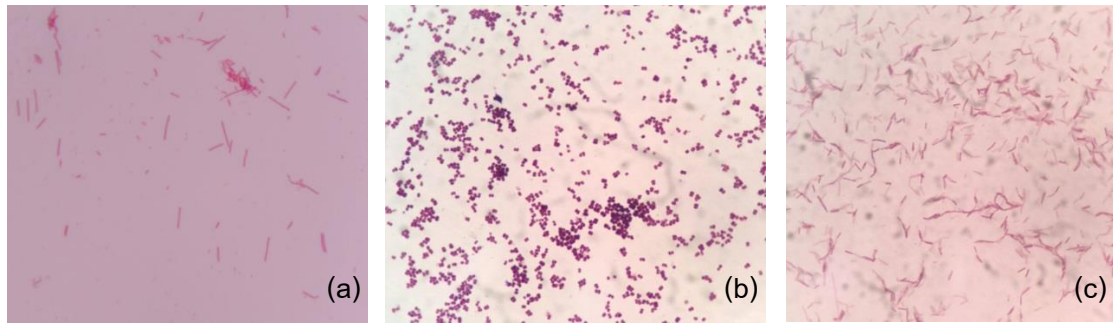


Figure 5. Morphological characteristics of a: *Flavobacterium columnare* b: *Streptococcus* sp. and c: *Aeromonas* sp. (100x)

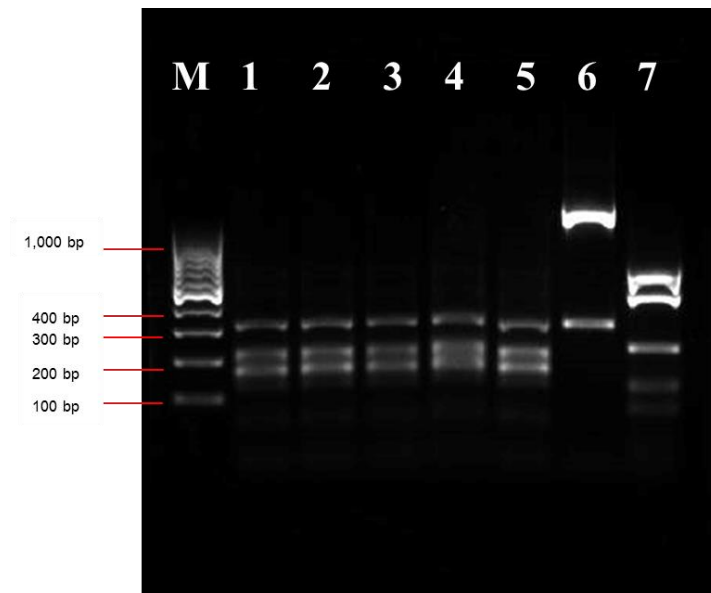


Figure 6. RFLP pattern after of the PCR-amplification products with the restriction enzyme, Hae III, Lane 1-5 = PCR-RFLP product of *Flavobacterium columnare* (BT1, BT2, BT3, RT4 และ RT2) Lane 6 = PCR-RFLP product of *Streptococcus* sp. (S36) Lane 7 = PCR-RFLP product of *Aeromonas* sp. (AF) M = 100 bp marker

การปรากฏแถบ 3 แถบ ขนาด 317, 210 และ 180 bp ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อแบคทีเรีย *F. columnare* ปรากฏแถบ 2 แถบขนาด 1109 และ 346 bp ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. และการปรากฏแถบ 4 แถบ ขนาด 683, 629, 248 และ 170 bp ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. จึงแสดงให้เห็นว่า เทคนิค PCR-RFLP ในการวิจัยนี้ สามารถแยกสายพันธุ์ของเชื้อก่อโรคออกเป็น 3 ชนิด และผลการแยกสายพันธุ์เชื้อก่อ

โรคในปลาโดยเทคนิค PCR-RFLP สอดคล้องกับการวินิจฉัยโรคจากผู้เชี่ยวชาญ

### วิจารณ์

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าทุกตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียให้แถบ DNA ที่ 1470 bp และเมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มาตัดด้วย Hae III enzyme จะพบรูปแบบของการตัดเป็น 3 แบบ (ภาพที่ 6) คือการปรากฏของแถบ DNA



ขนาด 317, 210 และ 180 bp ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อแบคทีเรีย *F. columnare* ปรากฏของแถบ DNA ขนาด 1109 และ 346 bp ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. และปรากฏของแถบ DNA ขนาด 839, 629, 248 และ 170 bp ซึ่งสอดคล้องกับเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. จึงแสดงให้เห็นว่า เทคนิค PCR-RFLP ในงานวิจัยนี้ สามารถแยกสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียออกเป็น 3 ชนิดได้อย่างชัดเจน และผลการแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยเทคนิค PCR-RFLP นั้นทำได้รวดเร็วกว่าการแยกชนิดเชื้อโดยวิธีเดิม ๆ ที่ต้องรอให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ก่อนที่จะไปจำแนกโดยใช้เทคนิคทางชีวเคมี

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของเชื้อแบคทีเรีย *F. columnare* เมื่อทดสอบโดยวิธี PCR-RFLP แสดงให้เห็นว่าเชื้อดังกล่าวไม่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม อย่างไรก็ตาม เชื้อที่ใช้มีเพียง 5 ไอโซเลท ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. ที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีเพียงชนิดละ 1 ไอโซเลท ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่า หากใช้เทคนิคนี้ตรวจวินิจฉัยโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. แล้วอาจไม่ได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp. ที่ปัจจุบันพบว่ามีอย่างน้อย 2 ชนิดที่ก่อโรคในปลานิล คือ *S. iniae* และ *S. agalactiae* และเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ที่พบว่ามีอย่างน้อย 2 ซีโรไทป์ ที่พบว่าเป็นสาเหตุของโรคในปลานิลที่เลี้ยงในประเทศไทย

ปลาติดที่เชื้อแบคทีเรีย *F. columnare* หากอาการรุนแรงสามารถตรวจสอบได้จากลักษณะภายนอกของปลา หรือชุดบริเวณรอยโรคหรือตัดชิ้นเนื้อไปดูลักษณะการรวมตัวของแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชาญณรงค์ (2559) กล่าวว่าการจำแนกโรคทำได้โดยสังเกตจากอาการและรอยโรค การทำการเพาะแยกและพิสูจน์เชื้อแบคทีเรีย และการตรวจสอบหาเชื้อก่อโรคโดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส [polymerase chain reaction (PCR) technique] ชนกันต์ (2556) กล่าวว่าอาการทางคลินิกของปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *F. columnare* ลำตัวปลามีสีต่างชัดเป็นแถบ ๆ มีเมือกมาก ครีบและเหงือกกร่อน อาจมีสีเหลือง

เกิดขึ้นบริเวณบาดแผล ปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. จะว่ายน้ำเฉื่อยช้า ไม่กินอาหาร ครีบกร่อน มีการตกเลือด เกิดบาดแผล ท้องบวม ตับเหลือง มีการตกเลือดบริเวณลำไส้ จะทำให้ปลามีบาดแผลตามลำตัว ปลาที่ติดเชื้อจะแสดงอาการรุนแรงแบบเฉียบพลัน โดยมีลักษณะท้องมาน บวมน้ำ และเป็นแผลตื้นเรื้อรังหรือตายภายในระยะเวลา 3-5 วัน (Angka *et al.*, 1995) และปลาที่เชื้อติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp. จะมีตาชุ่นขาวและโปน ไม่ค่อยว่ายน้ำ ลอยนิ่ง บางตัวว่ายน้ำควงส่ว้น ซ่องซบท้ายบวมแดง มีหนองแทรกอยู่ในกล้ามเนื้อ ตับและม้ามซีด เนื่องจากการตายของเซลล์ในอวัยวะดังกล่าว สามารถแยกเชื้อได้จากสมองเช่นกัน (นิลบล และคณะ, 2549)

จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย *F. columnare* เนื่องจากไม่พบว่าเอนไซม์ตัดให้เกิดแถบดีเอ็นเอเพิ่มเติม แสดงว่า การพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคนี้ อาจจะเป็นไปได้ เนื่องจากไม่พบความหลากหลายทางพันธุกรรม อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมของเชื้อที่แยกจากพื้นที่อื่น ๆ ในประเทศไทย นอกจากนี้ควรศึกษาถึงความไว (sensitivity) ของการตรวจเชื้อแบคทีเรียด้วย

## สรุป

เทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี (PCR-RFLP) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่มีความถูกต้องรวดเร็วและแม่นยำ โดยเชื้อก่อโรคที่ทำการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ มี 3 ชนิด คือเชื้อแบคทีเรีย *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp.

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทู่นบัณฑิตศึกษา สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร ศิษย์ก้นกุฎิ บัณฑิตวิทยาลัย คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ที่ให้ทุนสนับสนุนและสถานที่ทำการวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- เกตุณภัฏ ศรีไพโรจน์ รุ่งกานต์ กล้าหาญ พงศ์นรินทร์ เมฆขุนทด และ ทองอยู่ อุดเลิศ. 2556. การเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสายพันธุ์ปลานิลที่เลี้ยงในจังหวัดพะเยา. วารสารเกษตร 29(2): 137-144.
- เกวลิน หนูฤทธิ์. 2559. สถานการณ์ปลานิลและผลิตภัณฑ์ปี 2556 และแนวโน้มปี 2557. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/Doc/fishnews\\_169.pdf](http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/Doc/fishnews_169.pdf) (12 ตุลาคม 2559).
- คณนา อาจสูงเนิน. 2559. การสำรวจรูปแบบการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ในหมู่บ้านปงหลวง อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย. วารสารเกษตร 32(3): 409-419.
- ชนกันต์ จิตมนัส. 2548. โรคปลา. เอกสารประกอบการสอนคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 156 หน้า.
- ชนกันต์ จิตมนัส. 2556. โรคปลานิล. เชียงใหม่สัตว์แพทย์สาร 11(1): 75-86.
- ชาญณรงค์ รอดคำ. 2559. โรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลา. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [http://www.micro.vet.chula.ac.th/index.php/doc/doc\\_download/57-](http://www.micro.vet.chula.ac.th/index.php/doc/doc_download/57-) (13 ตุลาคม 2559).
- นิลกุล กิจอันเจริญ ชูติมา หาญจวนิช และ นงนุช สุวรรณเพ็ง. 2549. ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล. วารสารวิจัย มช. 11(1): 53-61.
- Altinok, I., E. Capkin and S. Kayis. 2008. Development of multiplex PCR assay for simultaneous detection of five bacterial fish pathogens. Veterinary Microbiology 131(3-4): 332-338.
- Angka, S.L., T.J Lam and Y.M. Sin. 1995. Some virulence characteristics of *Aeromonas hydrophila* in walking catfish (*Clarias gariepinus*). Aquaculture 130(2): 103-112.
- Beaz-Hidalgo, R., A. Alperi, N. Buján, J.L. Romalde and M.J. Figueras. 2010. Comparison of phenotypical and genetic identification of *Aeromonas* strains isolated from diseased fish. Systematic and Applied Microbiology 33(3): 149-153.
- Bullock, G.L., T.C. Hsu and E.B. Shotts, Jr. 1986. Columnaris disease of fishes. Fish Disease Leaflet 72, Fish and Wildlife Service, United States Department of Interior, Washington, D.C. 9 p.
- Darwish, A.M. and A.A. Ismaiel. 2005. Genetic diversity of *Flavobacterium columnare* examined by restriction fragment length polymorphism and sequencing of the 16S ribosomal RNA gene and the 16S-23S rDNA spacer. Molecular and Cellular Probes 19(4): 267-274.
- Decostere, A., F. Haesebrouck and L.A. Devriese. 1997. Shieh medium supplemented with tobramycin for selective isolation of *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*) from diseased fish. Journal of Clinical Microbiology 35(1): 322-324.
- Dong, H.T., V.V. Nguyen, H.D. Le, P. Sangsuriya, S. Jitrakorn, V. Saksmerprom, S. Senapin and C. Rodkhum. 2015. Naturally concurrent infections of bacterial and viral pathogens in disease outbreaks in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farms. Aquaculture 448: 427-435.

- Grabowski, L.D., S.E. LaPatra and K.D. Cain. 2004. Systemic and mucosal antibody response in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), following immunization with *Flavobacterium columnare*. Journal of Fish Diseases 27(10): 573-581.
- Ji, N., B. Peng, G. Wang, S. Wang and X. Peng. 2004. Universal primer PCR with DGGE for rapid detection of bacterial pathogens. Journal of Microbiological Methods 57(3): 409-413.
- Ismail, N.I.A., M.N.A. Amal, S. Shohaimi, M.Z. Saad and S. Z. Abdullah. 2016. Associations of water quality and bacteria presence in cage cultured red hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*. Aquaculture Reports 4: 57-65.
-





# การให้อาหารหมักจากวัสดุเศษเหลือแบบจำกัดต่อประสิทธิภาพการผลิต และต้นทุนทางเศรษฐกิจในโคนมสาวทดแทน

## Restricted Feeding of Ensiled Crop Residue on Production and Economic Cost in Dairy Replacement Heifer

อาทิตย์ ปัญญาศักดิ์<sup>1\*</sup> สมเกียรติ ประสานพานิช<sup>2</sup> และ ศรเทพ ธัมวาสร<sup>2</sup>  
Arthit Panyasak<sup>1\*</sup>, Somkiert Prasarnpanich<sup>2</sup> and Sornthep Tumwasorn<sup>2</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University,  
Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

<sup>2</sup>สาขาวิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

\* Corresponding author: boy\_agri@hotmail.com

(Received: 10 January 2017; Accepted: 27 July 2017)

**Abstract:** This study aimed to investigate the effect of restricted feeding of ensiled crop residue (ECR) on dairy replacement production and economic cost. The completely randomized design was employed on 87.50-93.25% Holstein Friesian crossbred dairy replacement female from 63 heifers and divided into 3 groups each of 21 animals. The initial body weights of all heifers averaged  $288.95 \pm 10.54$  kilograms and final weight averaged of  $320.39 \pm 3.11$  kilograms under 90 days feeding period. There were 3 groups were fed with corn by-products silage, rice straw and concentrate at 10, 3 and 3 kg/head/day (T1; Control group), ECR, rice straw and concentrate at 8, 2 and 3 kg/head/day (T2) and ECR and concentrate at 14 and 2 kg/head/day (T3). All heifers received concentrate with 14 %CP throughout the period of the study. The result showed that heifers in 3 groups had no difference in body weight changes and average daily gain. The body condition score change of heifer in group 3 had higher ( $0.64 \pm 0.03$ ) than those in groups 1 and 2 ( $P < 0.01$ ). Total dry matter intake and total dry matter intake of protein in all groups were significantly ( $P < 0.01$ ). The apparent digestibility of nutrient of the three groups were in the same levels ( $P > 0.05$ ). Heifer in group 3 had higher digestible energy, metabolizable energy and total digestible nutrient ( $P > 0.05$ ). Blood glucose, blood urea nitrogen and triiodothyronine found to be in normal range ( $P > 0.05$ ). The total production costs per head of the 3 groups found to be  $17,277.14 \pm 59.20$ ,  $17,512.55 \pm 59.49$  and  $18,109.66 \pm 58.89$  baht/head ( $P < 0.01$ ) and total production costs per weight gain of group 3 lower than those in group 2.

**Keywords:** Corn by-products silage, agro-industry, ensiled crop residue, replacement heifer

**บทคัดย่อ:** การทดลองนี้ทำการศึกษาอิทธิพลของการให้อาหารหมักจากวัสดุเศษเหลือ (ensiled crop residue, ECR) แบบจำกัดต่อประสิทธิภาพการผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในโคนมสาวทดแทน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ใช้โคนมสาวทดแทนพันธุ์ลูกผสมไฮสโตนีฟรีเซียน 87.50-93.25% เพศเมีย จำนวน 63 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 7 ตัว น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย  $288.95 \pm 10.54$  กิโลกรัม และน้ำหนักสิ้นสุดเฉลี่ย  $320.39 \pm 3.11$  กิโลกรัม ใช้เวลาตลอดการทดลอง 90 วัน โดยโคกลุ่มที่ 1 (ควบคุม) ได้รับเศษข้าวโพดหมัก ฟางข้าว และอาหารข้น (10, 3 และ 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน) กลุ่มที่ 2 ได้รับ ECR ฟางข้าว และอาหารข้น (8, 2 และ 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน) กลุ่มที่ 3 ได้รับ ECR และอาหารข้น (14 และ 2 กิโลกรัม/ตัว/วัน) ให้โคทั้งสามกลุ่มได้รับอาหารแบบจำกัดตามเงื่อนไขที่สหกรณ์กำหนด โคทุกตัวได้รับอาหารข้นที่มีระดับโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาประสิทธิภาพการผลิต พบว่าการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย ทั้งสามกลุ่มไม่ต่างกัน การเปลี่ยนแปลงคะแนนความสมบูรณ์ร่างกายของกลุ่มที่ 3 เท่ากับ  $0.64 \pm 0.03$  มากกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 ( $P < 0.01$ ) ปริมาณวัตถุแห้งที่ได้รับทั้งหมดและปริมาณโปรตีนที่ได้รับ ในแต่ละกลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) จากการศึกษาการย่อยได้ปรากฏของโภชนะ ในทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน แต่กลุ่มที่ 3 มีพลังงานย่อยได้ พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ และโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด สูงกว่าทั้งสองกลุ่ม ( $P > 0.05$ ) จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในเลือด พบว่ากลูโคสในเลือด ยูเรียไนโตรเจนในเลือด และฮอร์โมนไทรไธโรนีน มีค่าอยู่ในช่วงปกติ ( $P > 0.05$ ) จากการศึกษาต้นทุนทางเศรษฐกิจ พบว่าต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อตัวของทั้ง 3 กลุ่ม เท่ากับ  $17,277.14 \pm 59.20$ ,  $17,512.55 \pm 59.49$  และ  $18,109.66 \pm 58.89$  บาท/ตัว ( $P < 0.01$ ) และต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวในกลุ่มที่ 3 มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ 2

**คำสำคัญ:** เศษข้าวโพดหมัก อุตสาหกรรมการเกษตร อาหารหมักจากวัสดุเศษเหลือ โคนมสาวทดแทน

## คำนำ

การเลี้ยงโคนมได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย มีการพัฒนาและการปรับปรุงในด้านต่าง ๆ อย่างต่อเนื่อง เช่น สายพันธุ์ การเลี้ยงดู และอาหาร เพื่อให้ได้ผลผลิตที่เพิ่มขึ้น การเลี้ยงโคนมแบ่งออกเป็นหลายระยะ โดยเฉพาะระยะโคนสาวเป็นระยะที่ได้รับผลกระทบในด้านการเลือกใช้อาหารหยาบที่ไม่เหมาะสมเนื่องจากเกษตรกรประสบปัญหาการขาดแคลนอาหารหยาบที่ดีมีคุณภาพ และโคในระยะนี้เป็นระยะที่เกษตรกรไม่ค่อยเห็นความสำคัญเมื่อเทียบกับระยะโครีดนม หากปล่อยให้โคสาวได้รับอาหารแบบดังกล่าวในระยะยาวจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและความสมบูรณ์พันธุ์ได้ ในความเป็นจริงแล้วโคสาวภายในฟาร์มเป็นส่วนหนึ่งที่มีความสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพและผลกำไรให้กับฟาร์มเกษตรกรได้ และยังเป็นอนาคตในการปรับปรุงพันธุ์โคนมในฟาร์มเพื่อให้ได้แม่โครีดนมที่มีประสิทธิภาพการผลิตสูงขึ้น ทั้งนี้เกษตรกรควรมีความรู้ความเข้าใจในด้าน

การจัดการอาหารอย่างสมดุลและถูกต้องตามหลักวิชาการ เพื่อให้ได้โคสาวทดแทนที่มีสมรรถภาพการผลิตที่ดีตามเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งจะทำให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนในการผลิตและทำให้สามารถผลิตโครีดนมที่ให้ผลผลิตที่ดีได้ในอนาคต

ฉะนั้นจึงได้มีการผลิตอาหารหยาบทดแทน คืออาหารหมักจากวัสดุเศษเหลือ หรือ ensiled crop residue (ECR) เป็นการนำเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการเกษตรและเกษตรกรรม เช่น เศษข้าวโพดหวาน เศษสับปะรดชานอ้อย และฟางข้าว มาผสมกับกากน้ำตาลเอทานอล โดยผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งสามารถเก็บไว้ใช้ได้นานและที่สำคัญเป็นการใช้เศษเหลือจากผลผลิตทางการเกษตรที่มีในแต่ละท้องถิ่นมาปรับใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด เพื่อผลิตเป็นแหล่งอาหารหยาบทดแทนในช่วงที่พืชอาหารสัตว์ขาดแคลนและนำมาใช้ในการเลี้ยงโค (ศรเทพ, 2550) การที่นำอาหารหยาบไปผ่านกระบวนการหมัก จะทำให้มีความน่ากินเพิ่มขึ้น สัตว์กินอาหารได้มากขึ้น และยังเก็บไว้ในช่วงขาดแคลนพืชอาหารสัตว์ได้ (Tumwasorn

et al., 1996; Park and Stronge, 2005) วัตถุประสงค์ของทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาคุณภาพของอาหารหมักจากวัสดุเศษเหลือ (ECR) ในด้านองค์ประกอบของโภชนะและคุณภาพของอาหารหยาบหมัก ประสิทธิภาพการผลิตและต้นทุนทางเศรษฐกิจของการให้อาหารหมักจากวัสดุเศษเหลือ แบบจำกัด ในการเลี้ยงโคนมสาวทดแทน

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การจัดการเลี้ยงดูสัตว์ทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลองแบ่งออกเป็นระยะต่าง ๆ ดังนี้ ระยะปรับอาหารหรือระยะสัตว์ปรับตัว เพื่อให้สัตว์คุ้นเคยกับอาหารแต่ละชนิดในการทดลอง โดยให้แต่ละกลุ่มได้รับอาหารแต่ละชนิดเป็นเวลา 21 วัน และระยะการทดลอง เป็นระยะที่เก็บตัวอย่างทดลองจริงโดยให้ปริมาณอาหารตามสมดุลพลังงานและโปรตีนเพื่อใช้ในการดำรงชีพ ในระยะนี้ใช้เวลาในการทดลองที่ 90 วัน

การให้อาหาร โคนมสาวทดแทนพันธุ์ลูกผสมไฮลด์ไทรฟ์เรียน 87.50-93.25% เพศเมีย น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย  $288.95 \pm 10.54$  กิโลกรัม ที่ได้รับการถ่ายพยาธิและฉีดวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยเรียบร้อยแล้วทุกกลุ่มทดลอง จำนวน 63 ตัว โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 7 ตัว เลี้ยงในคอกขนาด  $4 \times 11$  ตารางเมตร ซึ่งมีถึงน้ำอยู่ด้านในแต่ละคอก มีรางอาหารอยู่ด้านหน้าของแต่ละคอก และทุกคอกแขวนแร่ธาตุก้อนให้โคกินแร่ธาตุและน้ำได้ตลอดเวลา โคนมสาวจะได้รับอาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 09.00 น. และเวลา 16.00 น. ซึ่งให้อาหารแบบแยกจ่าย ใช้ระยะเวลาตลอดการทดลอง 90 วัน ณ สหกรณ์โคนมไทย-เดนมาร์ก อ่าวน้อย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยแบ่งโคออกเป็นแต่ละกลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 (ควบคุม) ได้รับเศษข้าวโพดหมัก (ประกอบด้วย เปลือกและซัง) ฟางข้าว และอาหารข้น ในปริมาณ 10, 3 และ 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 ได้รับ ECR (ประกอบด้วย เศษข้าวโพด เปลือกและกากสับประด ขานอ้อย และฟางข้าว โดยนำมาผสมรวมกันในสัดส่วนที่เหมาะสม แล้วเติมกากน้ำตาลเอทานอล (vinasses) ในปริมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ ลงไปคลุกคล้าให้เข้ากันแล้วบรรจุใส่ถุงหมักแบบไร้อากาศ ใช้ระยะเวลาหมักที่ 21-35 วัน)

ฟางข้าว และอาหารข้น ในปริมาณ 8, 2 และ 3 กิโลกรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ และกลุ่มที่ 3 ได้รับ ECR และอาหารข้น ในปริมาณ 14 และ 2 กิโลกรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ วิเคราะห์ความแปรปรวนของกลุ่มทดลองด้วยวิธีการการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ซึ่งการทดลองพบว่าน้ำหนักเริ่มต้นของโคมีผลต่อลักษณะที่ศึกษาจึงใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (analysis of covariance) โดยมีน้ำหนักเริ่มต้นของโคทดลองเป็นตัวแปรร่วม ประมาณค่าเฉลี่ยแบบลีสสแควร์ (LSMeans) ของแต่ละกลุ่มทดลองและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า LSMeans ในการปรับสำหรับการเปรียบเทียบหลายค่าด้วย Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Steel and Torrie, 1980) โดยปริมาณอาหารในแต่ละกลุ่มคิดตามปริมาณพลังงานและโปรตีนที่โคสาวควรได้รับเพื่อให้ใกล้เคียงกับความต้องการในการดำรงชีพ (NRC, 2001) และให้อยู่ในเกณฑ์ที่สอดคล้องกับนโยบายทางด้านต้นทุนในการผลิตจึงต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขของสหกรณ์ที่กำหนดไว้

### ศึกษาค่าการย่อยได้

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทดลองก่อนที่จะนำไปให้สัตว์กิน เพื่อวิเคราะห์วัตถุดิบ โปรตีนรวม ไขมัน เกล็ด เยื่อใย ปริมาณแร่ธาตุ และคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย (nitrogen free extract, NFE) โดยวิธี proximate analysis (AOAC, 1984) วิเคราะห์พลังงานรวม (gross energy, GE) ซึ่งได้จากการนำตัวอย่างอาหารไปวัดค่าพลังงานโดยใช้ SHIMADZU auto calculating adiabatic bomb calorimeter (SHIMADZU CA-4PJ, SHIMADZU Corporation, Japan) แล้วอ่านค่าความร้อนที่เกิดขึ้นเพื่อนำไปคำนวณในรูปของพลังงานความร้อน วิเคราะห์กรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acids, VFA) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี หรือจีซี (gas chromatography, GC) ตามวิธีของ Fenner and Elliot (1963) วิเคราะห์เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF) และลิกนินที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent lignin, ADL) โดยวิธี Detergent Analysis (Goering and Van Soest, 1970)

เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1977) ความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีการของ Bolsen *et al.* (1992)

สุ่มเก็บตัวอย่างมูลโคนมสาวทดแทน ทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง รวมจำนวน 18 ตัว จากส่วนทวารหนักใส่ถุงพลาสติกโดยตรง ซึ่งได้ทำการเก็บครั้งเดียวในช่วงวันสุดท้ายตอนสิ้นสุดการทดลอง ที่ 90 วัน และนำตัวอย่างที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเช่นเดียวกับอาหารทดลองเพื่อวิเคราะห์วัตถุดิบ อินทรีย์วัตถุ โปรตีนรวม ตามวิธีของ AOAC (1984) วิเคราะห์ NDF, ADF ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970) โดยการใช้สารบ่งชี้ภายใน คือ ลิกนินและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (AIA) เพื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบ วิเคราะห์จากสัดส่วนของ AIA ในมูลและอาหาร ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1977) วิเคราะห์พลังงานย่อยได้ (digestible energy, DE) จากการนำค่าพลังงานที่ขับออกนอกร่างกายในรูปของอุจจาระ ไปหักออกจากพลังงานทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร พลังงานที่ขับออกในรูปของอุจจาระ (fecal energy, FE) วัดค่าได้โดยนำตัวอย่างของอุจจาระไปวัดค่าใน Bomb calorimeter แล้วคูณด้วยปริมาณของอุจจาระที่ขับออกทั้งหมด แล้วนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณตามสมการ  $DE = GE - FE$  (Anderson *et al.*, 1991)

สุ่มเก็บและบันทึกปริมาณปัสสาวะที่ขับออกมาทั้งหมดจากโคนมสาวทดแทน 3 กลุ่มการทดลอง รวมจำนวน 18 ตัว ซึ่งได้ทำการเก็บครั้งเดียวในช่วงวันสุดท้ายตอนสิ้นสุดการทดลอง ที่ 90 วัน ทำการเก็บโดยใช้กรวยผูกยึดติดกับตัวโคและมีสายยางต่อไปยังภาชนะที่รองรับปัสสาวะ ซึ่งมีกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 โมลาร์ (1 M  $H_2SO_4$ ) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เพื่อให้ปัสสาวะมีสภาพความเป็นกรด ( $pH < 3$ ) ลดการระเหยของแอมโมเนียและหยุดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างปัสสาวะไว้ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของปัสสาวะทั้งหมด เก็บใส่ขวดตัวอย่างนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Chen and Gomes (1995) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเช่นเดียวกับอาหารทดลองและมูล

ตามวิธีของ AOAC (1984); Goering and Van Soest (1970); Van Keulen and Young (1977) แล้วนำตัวอย่างที่สุ่มเก็บไว้มาทำการวิเคราะห์หาพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy, ME) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากการนำค่าพลังงานที่สูญเสียออกมาในรูปของปัสสาวะ ไปหักออกจากพลังงานที่ย่อยได้ของอาหาร พลังงานที่ถูกขับออกมาในรูปของปัสสาวะ (urinary energy, UE) จะวัดได้จากการนำเอาตัวอย่างของปัสสาวะไปวัดค่าใน Bomb calorimeter แล้วคูณด้วยปริมาณปัสสาวะทั้งหมดที่ขับออกมา แล้วนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณตามสมการที่เสนอโดย McDonald *et al.* (2005) ดังนี้  $ME = DE - UE$  หรือ  $GE - FE - UE$

### การเก็บตัวอย่างเลือด

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 90 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดของโคนมสาวทดแทน ทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง รวมจำนวน 18 ตัว โดยเก็บตัวอย่างเลือดบริเวณเส้นเลือดดำที่โคนหาง (caudal vein) ทำการเก็บครั้งเดียวในช่วงวันสุดท้ายตอนสิ้นสุดการทดลอง ที่ 90 วัน ซึ่งเข้าวันสุดท้ายของการทดลองจะงดให้อาหารก่อนการเจาะเลือด (ทำการเก็บในช่วงเวลาที่ 0 ก่อนให้อาหาร) หลังจากนั้นจึงให้อาหารตามกลุ่มทดลอง และทำการเจาะเลือดอีกครั้งหลังจากโคกินอาหารไปแล้ว (ทำการเก็บในช่วงเวลาที่ 4 หลังให้อาหาร) ตัวละ 8 มิลลิลิตร โดยแยกใส่หลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่เคลือบด้วยซีเตียมฟลูออไรด์ ในปริมาณ 4 มิลลิลิตร เพื่อเก็บพลาสมาสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือด (blood glucose, BG) ตามวิธีของ Tiffany *et al.* (1972) แยกใส่หลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่ไม่เคลือบสารป้องกันเลือดแข็งตัว ในปริมาณ 4 มิลลิลิตร แล้วนำเลือดไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบ เป็นเวลา 15 นาที เพื่อเก็บส่วนซีรัม และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด (blood urea nitrogen, BUN) ตามวิธีของ Schmid and Forstner (1986) และระดับฮอร์โมนไตรไอโดไทโรนิน (triiodothyronine, T3) ด้วยวิธีการ electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) โดยใช้เครื่อง Roche Elecsys 1010/2010 และ Modula analytic E170 (Elecsys module)

## การประเมินประสิทธิภาพการผลิต

นำผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหารที่ใช้ในการทดลองมาคำนวณความต้องการทางด้านโภชนาเพื่อจะได้นำไปใช้ในการเลี้ยงโคในช่วงตลอดระยะเวลาการทดลอง จากนั้นบันทึกปริมาณการกินอาหารของโค โดยการชั่งน้ำหนักปริมาณอาหารที่ให้และปริมาณอาหารที่เหลือในช่วงเช้าของวันถัดไปทุก ๆ วัน เพื่อกำหนดปริมาณวัตถุดิบที่ได้รับต่อตัวต่อวัน ปริมาณวัตถุดิบที่ได้รับโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว และคำนวณโปรตีนที่ได้รับ ในโคทดลองทั้ง 3 กลุ่มจำนวน 63 ตัว และได้ทำการชั่งน้ำหนักในวันแรกและวันสุดท้ายของการทดลองที่ 90 วัน ในโคทดลองทุกตัวทั้งหมด เพื่อกำหนดการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวันของโคตลอดการทดลอง และวัดคะแนนความสมบูรณ์ร่างกาย ตามวิธีของ NRC (2001) โดยผู้วิจัยคนเดียวทุกเดือนเพื่อลดความคลาดเคลื่อนของข้อมูลแล้วบันทึกผลตามแบบฟอร์ม

## ต้นทุนทางเศรษฐกิจ

ราคาของวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั่วไปในท้องตลาดที่เปลี่ยนแปลง มีผลโดยตรงต่อต้นทุนที่ใช้ในกระบวนการผลิต ควรคำนวณต้นทุนอาหารสัตว์ และการวิเคราะห์ต้นทุน รวมถึงกำไรจากการใช้กลุ่มอาหารทดลองที่มีความแตกต่างกัน อาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลองมีต้นทุนในการเลี้ยง ดังนี้ ECR มีราคา 3.00 บาท/กิโลกรัม เศษข้าวโพดหมักมีราคาประมาณ 2.00 บาท/กิโลกรัม ฟางข้าวมีราคาประมาณ 2.75 บาท/กิโลกรัม และอาหารข้นมีราคาประมาณ 8.10 บาท/กิโลกรัม (14% โปรตีน) เพื่อนำมาคำนวณต้นทุนการผลิต (สุภาวดี, 2559) การวิเคราะห์ต้นทุนค่าใช้จ่ายทางเศรษฐกิจในการเลี้ยงโคนมสาวทดแทน

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

### คุณค่าทางโภชนาของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยอาหารข้น เศษข้าวโพดหมัก ฟางข้าว และ ECR ซึ่งมีค่าองค์ประกอบทางเคมีในอาหารแต่ละชนิด ดังนี้ อาหารข้นมีวัตถุดิบ

โปรตีนรวม ไชมัน เถ้า NDF, ADF, ADL และพลังงานรวม เท่ากับ 87.20, 14.83, 7.47, 9.12, 40.08, 26.32, 9.27 เปอร์เซ็นต์ และ 3,836.41 แคลอรี/กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1) โดยในการทดลองได้ใช้อาหารข้นที่ระดับโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ ตลอดการทดลอง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับระดับโปรตีนในอาหารของโคนมสาวรุ่นที่แนะนำโดย AFFRCS (1999) และ NRC (2001) ที่มีค่าเท่ากับ 12 และ 14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในส่วนของเศษข้าวโพดหมัก ฟางข้าว ECR ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดแลคติก กรดอะซิติก และกรดบิวทิริก ยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของพืชหมักที่มีคุณภาพดี ซึ่งจะพิจารณาจากปริมาณของกรดแลคติกเป็นสำคัญ (Elferink *et al.*, 2000; Minson, 1990) นอกจากนี้ปริมาณน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของพืชหมักเป็นอีกปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการทำงานของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก หากมีปริมาณน้ำตาลมากและอยู่ในสภาพที่เหมาะสมจะส่งผลให้เกิดกรดแลคติกได้เร็วขึ้น (Leng, 1990) โดยแบคทีเรียชนิดนี้จะทำให้พืชหมักมีกลิ่นหอม รสดี มีความน่ากินสูง และยังพบว่าสามารถช่วยปรับความเป็นกรด-ด่างในพืชหมักอยู่ที่ระดับ 3.8-5.0 (Elferink *et al.*, 2000) ใกล้เคียงกับ Andrew *et al.* (1979) และ Tumwasorn *et al.* (1996) รายงานว่าพืชอาหารสัตว์หมักจะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.6-4.2 กรดแลคติก 3-13 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติกและกรดบิวทิริกในปริมาณที่ต่ำ การทำพืชอาหารสัตว์หมักเป็นการถนอมพืชในสภาพที่ก่อให้เกิดกรดแลคติกในปริมาณที่เพียงพอต่อการคงสภาพของพืชหมักเพื่อสามารถเก็บไว้ใช้ได้นาน ซึ่งต้องมีความชื้นพอเหมาะ และได้รับการอัดแน่นในถังหมักที่ปิดสนิท ซึ่งสามารถนำมาเลี้ยงสัตว์ได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อตัวสัตว์ นอกจากนี้การนำอาหารหยาบไปหมักก่อนนำไปให้สัตว์จะทำให้สัตว์สามารถกินอาหารได้มากขึ้น และมีความน่ากินเพิ่มขึ้น ส่วนแร่ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม มีค่าที่ใกล้เคียงกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 และจัดว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อร่างกายมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของสัตว์ (Minson, 1990)

Table 1. The chemical composition of diets used in the experiment (%DM)

| Items                            | Concentrate | Corn by-products silage | Rice straw | ECR      |
|----------------------------------|-------------|-------------------------|------------|----------|
| Chemical composition (%DM basis) |             |                         |            |          |
| Dry matter                       | 87.20       | 20.47                   | 93.15      | 25.82    |
| Crude protein                    | 14.83       | 7.56                    | 3.84       | 8.89     |
| Ether extract                    | 7.47        | 1.27                    | 1.60       | 4.43     |
| Ash                              | 9.12        | 8.83                    | 15.37      | 7.80     |
| Crude fiber                      | 19.41       | 29.73                   | 37.82      | 25.96    |
| Nitrogen free extract            | 36.37       | 52.61                   | 41.37      | 52.92    |
| Neutral detergent fiber          | 40.08       | 72.48                   | 73.38      | 54.93    |
| Acid detergent fiber             | 26.32       | 36.98                   | 43.81      | 32.10    |
| Acid detergent lignin            | 9.27        | 4.97                    | 3.51       | 6.22     |
| Gross energy (cal/g)             | 3,836.41    | 3,924.79                | 3,455.21   | 3,824.11 |
| pH                               | —           | 3.80                    | —          | 3.55     |
| Lactic acid                      | —           | 2.44                    | —          | 4.61     |
| Acetic acid                      | —           | 6.64                    | —          | 5.65     |
| Butyric acid                     | —           | 3.08                    | —          | 2.56     |
| Calcium                          | 1.87        | 0.39                    | 0.50       | 0.42     |
| Phosphorus                       | 0.34        | 0.25                    | 0.21       | 0.05     |
| Potassium                        | 0.95        | 0.80                    | 1.11       | 1.63     |
| Magnesium                        | 0.08        | 0.07                    | 0.07       | 0.08     |
| Zinc                             | 0.02        | <0.01                   | <0.01      | <0.01    |
| Sulfur                           | 0.34        | 0.18                    | 0.24       | 0.11     |

### ประสิทธิภาพการผลิต

จากการศึกษาโคที่ได้รับอาหารในแต่ละกลุ่มพบว่าปริมาณวัตถุแห้งที่ได้รับทั้งหมดของทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าเท่ากับ  $7.33 \pm 0.01$ ,  $6.55 \pm 0.01$  และ  $5.36 \pm 0.01$  กิโลกรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน ตามลำดับ ( $P < 0.01$ ) ทั้งนี้เป็นผลมาจากกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีการให้อาหารขึ้นในปริมาณที่มากกว่ากลุ่มที่ 3 อีกทั้งยังได้รับฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบ โดยกลุ่มที่ 3 มีการให้ ECR อย่างเดียวเป็นอาหารหยาบ ซึ่ง ECR มีวัตถุแห้ง เท่ากับ 25.82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าฟางข้าวที่มีวัตถุแห้ง เท่ากับ 93.15 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) ส่งผลให้เมื่อคิดเป็นปริมาณวัตถุแห้งที่ได้รับทั้งหมดจึงมีค่าที่ต่ำกว่าทั้งสองกลุ่ม

เมื่อคิดปริมาณวัตถุแห้งที่ได้รับทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว พบว่ากลุ่มที่ 1 มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยมีค่าเท่ากับ  $2.54 \pm 0.01$ ,  $2.27 \pm 0.01$  และ  $1.86 \pm 0.01$

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 การที่โคกลุ่มที่ 3 มีค่าที่ต่ำนั้นเนื่องจากปริมาณความชื้นในอาหาร ECR สูงกว่า กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับ NRC (2001) ที่ได้รายงานไว้ว่าความชื้นในอาหารที่เพิ่มขึ้น 1% จะทำให้ปริมาณวัตถุแห้งลดลง 0.002% ของน้ำหนักตัว อย่างไรก็ตามปริมาณวัตถุแห้งที่ได้รับทั้งหมดของโคทดลองทุกกลุ่มหากคิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว พบว่าค่อนข้างมีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของสัตว์ โดยทั่วไปโคสาวมีปริมาณการกินได้เฉลี่ย 2.00-2.50 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ขึ้นกับเยื่อใยและคุณภาพอาหารหยาบ (NRC, 2001) และโปรตีนที่ได้รับของทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าโคนมสาวกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีค่าสูงกว่าโคนมสาวกลุ่มที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) มีค่าเท่ากับ 0.64, 0.64 และ 0.58 กิโลกรัมวัตถุแห้ง/ตัว/วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่อย่างไรก็ตามระดับโปรตีนที่ได้รับจากอาหารของโคแต่ละกลุ่มมีปริมาณ

Table 2. Least squares means and standard error of production efficiency in dairy replacement heifers with receiving different feed treatment

| Items                                      | Treatments               |                          |                          | P-value |
|--------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
|                                            | T1                       | T2                       | T3                       |         |
| Number of animals (head)                   | 21                       | 21                       | 21                       | –       |
| Time period of experiment (day)            | 90                       | 90                       | 90                       | –       |
| Initial body weight (kg/head) <sup>1</sup> | 290.90 ± 52.95           | 285.57 ± 38.80           | 290.38 ± 34.99           | 0.8996  |
| Final body weight (kg/head)                | 326.66 ± 3.12            | 313.04 ± 3.13            | 321.47 ± 3.10            | 0.0829  |
| Body weight change (kg/head)               | 34.39 ± 3.11             | 27.47 ± 3.13             | 31.10 ± 3.09             | 0.0829  |
| Average daily gain (g/head/day)            | 382.07 ± 34.63           | 305.26 ± 34.79           | 345.48 ± 34.44           | 0.0829  |
| Initial body condition score               | 2.39 ± 0.04              | 2.50 ± 0.04              | 2.40 ± 0.04              | 0.1056  |
| Final body condition score                 | 3.02 ± 0.04              | 2.88 ± 0.04              | 3.04 ± 0.04              | 0.0863  |
| Body condition score change                | 0.61 ± 0.03 <sup>a</sup> | 0.38 ± 0.03 <sup>b</sup> | 0.64 ± 0.03 <sup>a</sup> | 0.0030  |
| Dry matter intake (kgDM/head/day)          |                          |                          |                          |         |
| – Concentrate                              | 2.62 <sup>a</sup>        | 2.62 <sup>a</sup>        | 1.74 <sup>b</sup>        | 0.0001  |
| – Corn by-products silage                  | 1.86                     | –                        | –                        | –       |
| – Rice straw                               | 2.85 <sup>a</sup>        | 1.86 <sup>b</sup>        | –                        | 0.0001  |
| – TMF                                      | –                        | 2.07 <sup>b</sup>        | 3.62 <sup>a</sup>        | 0.0001  |
| Total dry matter intake (kgDM/head/day)    | 7.33 ± 0.01 <sup>a</sup> | 6.55 ± 0.01 <sup>b</sup> | 5.36 ± 0.01 <sup>c</sup> | 0.0001  |
| Total dry matter intake (% body weight)    | 2.54 ± 0.01 <sup>a</sup> | 2.27 ± 0.01 <sup>b</sup> | 1.86 ± 0.01 <sup>c</sup> | 0.0001  |
| Protein intake (kgDM/head/day)             | 0.64 <sup>a</sup>        | 0.64 <sup>a</sup>        | 0.58 <sup>b</sup>        | 0.0001  |

Least squares means ± standard error

<sup>1</sup> Means ± standard deviation, <sup>a,b,c</sup> Least squares means in the same row with different superscripts significantly differ ( $P < 0.01$ )

ใกล้เคียงกับคำแนะนำของ AFFRCS (1999) and NRC (2001) ซึ่งโคนมสาวที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนต่างกัน จะมีค่าความสมดุลไนโตรเจนไม่ต่างกัน จึงทำให้มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการในการดำรงชีพและการเจริญเติบโตของโคสาว โดยทั่วไปโคสาวมีความต้องการโปรตีนเฉลี่ยวันละ 0.60-0.80 กิโลกรัมวัตถุดิบแห้ง/ตัว/วัน (NRC, 2001)

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของโคกลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 มีค่าเท่ากับ  $382.07 \pm 34.63$ ,  $305.26 \pm 34.79$  และ  $345.48 \pm 34.44$  กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่าอัตราการเจริญเติบโตของการทดลองนี้ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากโคมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวที่ต่ำ อันเนื่องมาจากการทดลองนี้อยู่ในช่วงฤดูฝนจึงทำให้พื้นคอกชื้นแฉะโคไม่ได้พักผ่อนอย่างเต็มที่ จึงอาจจะส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของโค

แต่อย่างไรก็ตามโคทั้ง 3 กลุ่ม มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยจะสัมพันธ์กับพลังงานย่อยได้และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (ตารางที่ 3) พบว่าทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าใกล้เคียงกัน แต่โคกลุ่มที่ได้รับ ECR อย่างเดียว มีค่าพลังงานที่ได้รับสูงกว่ากลุ่มอื่นอาจแสดงได้ว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีคุณภาพสูง จะมีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีคุณภาพรองลงมา (McDonald *et al.*, 2005)

จากการศึกษาโคกลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 มีคะแนนความสมบูรณ์ร่างกายเริ่มต้น และคะแนนความสมบูรณ์ร่างกายสิ้นสุด ไม่ต่างกัน ส่วนการเปลี่ยนแปลงคะแนนความสมบูรณ์ร่างกาย พบว่าโคกลุ่มที่ 3 มีค่าสูงกว่าโคกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) มีค่าเท่ากับ  $0.64 \pm 0.03$ ,  $0.61 \pm 0.03$  และ  $0.38 \pm 0.03$  ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 การที่โคกลุ่มที่ 3 มีการเปลี่ยนแปลงคะแนนความสมบูรณ์ร่างกาย

สูงกว่าโคกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 อาจเนื่องมาจากโคกลุ่มที่ 3 ได้รับพลังงานจากการย่อยได้ดีกว่าโคทั้งสองกลุ่ม (ตารางที่ 3) นั้นแสดงให้เห็นว่าถึงแม้ว่าโคจะได้รับปริมาณอาหารที่จำกัดแต่ก็ได้รับพลังงานที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย การที่โคได้รับอาหารที่มีคุณภาพสูง จะมีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีคุณภาพพร่องลงมา (McDonald *et al.*, 2005) ส่งผลให้โคกลุ่มที่ 3 มีการเปลี่ยนแปลงคะแนนความสมบูรณ์ร่างกายที่สูง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงคะแนนความสมบูรณ์ร่างกายมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มหรือสูญเสียน้ำหนักตัวของโคนมสามารถบ่งบอกถึงสภาวะโภชนาการที่สัตว์ได้รับ (Waltner *et al.*, 1993) โดยปกติคะแนนความสมบูรณ์ร่างกาย (1 = ผอมมาก ถึง 5 = อ้วนมาก) ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดการทดลองของโคนมสาวมีค่าเฉลี่ย 2.41-3.05 (Edmonson *et al.*, 1989)

### การย่อยได้

จากการศึกษาโคที่ได้รับอาหารทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าการย่อยได้ปรากฏของโภชนะ เช่น วัตถุดิบ อินทรีย์วัตถุ โปรตีนรวม NDF และ ADF ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในส่วนของพลังงานย่อยได้ พลังงานใช้ประโยชน์ได้ และโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด ไม่ต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยกลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 มีพลังงานที่ย่อยได้

เท่ากับ  $1.98 \pm 0.09$ ,  $2.22 \pm 0.09$  และ  $2.31 \pm 0.09$  Mcal/kgDM ตามลำดับ พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ เท่ากับ  $1.55 \pm 0.09$ ,  $1.80 \pm 0.09$  และ  $1.89 \pm 0.09$  Mcal/kgDM ตามลำดับ และโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด เท่ากับ  $45.02 \pm 2.11$ ,  $50.39 \pm 2.13$  และ  $52.50 \pm 2.10$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

การที่โคได้รับอาหารจากกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีการย่อยได้ที่ต่ำกว่าเนื่องมาจากการได้รับการเสริมฟางข้าว ซึ่งฟางข้าวมีองค์ประกอบพวกเยื่อใย เช่น NDF และ ADF มีค่าเท่ากับ 73.38 และ 43.81 เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง (ตารางที่ 1) ซึ่งถือว่ามีในปริมาณที่สูงกว่าอาหารกลุ่มที่ 3 จึงมีผลต่อค่าการย่อยได้ ประกอบกับมีปริมาณโปรตีนและความนำกินต่ำ (Leng, 1990) ดังเช่น ชลธง และคณะ (2559) รายงานว่าสูตรอาหารผสมสำเร็จที่มีการเพิ่มปริมาณกากเอทานอลแห้งในระดับที่สูงทำให้มีปริมาณเยื่อใยในสูตรอาหารสูงขึ้น ซึ่งอาจส่งผลต่อความสามารถของการย่อยได้ของวัตถุดิบ โดยในอาหารโคนมที่มีระดับ NDF และ ADF ที่สูงจะส่งผลให้ความสามารถของการย่อยได้วัตถุดิบลดลง จึงส่งผลทำให้กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีการย่อยได้ที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ 3 เนื่องจากจุลินทรีย์ในกระเพาะเข้าสู่สายเยื่อใยจากอาหารได้น้อยลง นอกจากนี้ อาหารหยาบ ECR ยังมีส่วนประกอบของจุลินทรีย์ที่ได้จากกากน้ำตาลเอทานอลในกระบวนการผลิต และ

**Table 3.** Least squares means and standard error of nutrient digestibility in dairy replacement heifers with receiving different feed treatment

| Items                                | Treatments       |                  |                  | P-value |
|--------------------------------------|------------------|------------------|------------------|---------|
|                                      | T1               | T2               | T3               |         |
| Apparent digestibility (%)           |                  |                  |                  |         |
| – Dry matter                         | $51.47 \pm 2.27$ | $55.52 \pm 2.28$ | $55.26 \pm 2.25$ | 0.4343  |
| – Organic matter                     | $53.11 \pm 2.36$ | $57.12 \pm 2.37$ | $56.70 \pm 2.34$ | 0.4756  |
| – Crude protein                      | $53.26 \pm 3.06$ | $52.94 \pm 3.41$ | $51.72 \pm 3.37$ | 0.2225  |
| – Neutral detergent fiber            | $43.92 \pm 3.39$ | $47.95 \pm 3.08$ | $47.10 \pm 3.04$ | 0.3783  |
| – Acid detergent fiber               | $45.43 \pm 2.84$ | $46.99 \pm 2.86$ | $48.52 \pm 2.82$ | 0.7549  |
| Energy intake                        |                  |                  |                  |         |
| – Digestible energy (Mcal/kgDM)*     | $1.98 \pm 0.09$  | $2.22 \pm 0.09$  | $2.31 \pm 0.09$  | 0.1162  |
| – Metabolizable energy (Mcal/kgDM)** | $1.55 \pm 0.09$  | $1.80 \pm 0.09$  | $1.89 \pm 0.09$  | 0.1159  |
| Total digestible nutrient (%)        | $45.02 \pm 2.11$ | $50.39 \pm 2.13$ | $52.50 \pm 1.10$ | 0.1202  |

Least squares means  $\pm$  standard error, \* DE =  $(F_i \times GE) - (F \times E_f)$ , \*\* ME =  $(F_i \times GE) - (F \times E_f) - (U \times E_u)$

$F_i$  = Feed intake,  $F$  = feces,  $U$  = urine,  $GE$  = dietary energy,  $E_f$  = Fecal energy,  $E_u$  = urine energy



ส่วนของเศษสับปะรด จึงส่งผลต่อความน่ากิน (Guthrie and Wagner, 1988; Promma *et al.*, 1993) การที่มีส่วนผสมของเศษสับปะรดจะทำให้อาหารหมักมีความน่ากินเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีกลิ่นหอมของกรด ซึ่งอาหาร ECR เป็นอาหารหยาบที่ได้ผ่านกระบวนการหมักจึงมีแลคติกแอซิดแบคทีเรียอยู่สูงส่งผลให้อาหารหยาบหมักมีปริมาณกรดแลคติกสูงตามไปด้วย ส่งผลให้การย่อยได้ของอาหารสูงขึ้น และทำให้โคได้รับพลังงานที่สูงขึ้นตามไปด้วย (Wheeler and Mulcahy, 1989) ซึ่งการย่อยได้และพลังงานที่ได้รับของโคทั้ง 3 กลุ่ม อยู่ในช่วงที่ปกติ โดยทั่วไปพืชอาหารสัตว์ในเขตร้อนส่วนมากจะมีค่าการย่อยได้ต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ (Leng, 1990)

### การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในเลือด

จากการศึกษาปริมาณกลูโคสในเลือดของโคทั้ง 3 กลุ่ม ก่อนการให้อาหารที่ 0 ชั่วโมง และหลังการให้อาหารที่ 4 ชั่วโมง พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 63.30-71.74 mg/dl ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4 แต่โคทั้ง 3 กลุ่มแต่มีแนวโน้มปริมาณกลูโคสในเลือดที่เพิ่มขึ้นหลังการให้อาหารไปแล้ว 4 ชั่วโมง ( $P>0.05$ ) ความเข้มข้นของปริมาณกลูโคสในเลือดขึ้นอยู่กับสภาวะร่างกายของสัตว์และชนิดของอาหารที่สัตว์ได้รับ โดยเฉพาะพืชอาหารสัตว์ที่มีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะไหลผ่านเข้าสู่กระเพาะรูเมนโดยถูกจุลินทรีย์ภายในกระเพาะย่อยสลายได้เป็นกรดไขมันที่ระเหยได้ ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก และถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด โดยผ่านทาง hepatic portal vein โดยเฉพาะกรดกรดโพรพิโอนิกจะถูกเปลี่ยนเป็นปริมาณกลูโคสในเลือดที่ต่ำประมาณ 19-60 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดโคเป็นตัวที่บ่งบอกถึงความสามารถของพลังงานในร่างกาย โดยการสร้างกลูโคสจะขึ้นอยู่กับสภาวะของสัตว์และชนิดของอาหารที่กิน (Riis, 1983) โดยปกติความเข้มข้นของกลูโคสในสัตว์เคี้ยวเอื้องมีค่าประมาณ 45-80 mg/dl (Frandsen *et al.*, 2009) ซึ่งผลที่ได้ของโคทั้ง 3 กลุ่มทดลองก็อยู่ในช่วงที่เพียงพอ แสดงว่าโคสามารถใช้ประโยชน์จากพลังงานในอาหารที่ได้รับได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลทำให้เนื้อเยื่อต่างๆ ทำงานได้ตามปกติ

ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดของโคทั้ง 3 กลุ่ม ก่อนการให้อาหารที่ 0 ชั่วโมง และหลังการให้อาหารที่ 4 ชั่วโมง พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 6.68-10.21 mg/dl ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดของโคทั้ง 3 กลุ่ม มีแนวโน้มสูงขึ้นหลังการให้อาหารไปแล้ว 4 ชั่วโมง โดยปกติปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้องจะอยู่ที่ระหว่าง 6.3-12.5 mg/dl (Singh *et al.*, 2002) แสดงให้เห็นว่าปริมาณยูเรียไนโตรเจนของโคทั้ง 3 กลุ่มมีค่าอยู่ในช่วงปกติ ซึ่งเป็นผลมาจากสัตว์ได้รับปริมาณโปรตีนจากอาหารที่เพียงพอต่อการดำรงชีพและการเจริญเติบโต การที่โคกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดที่สูง เนื่องจากอาหารที่ได้รับมีโปรตีนสูง จึงทำให้มีอัตราการสังเคราะห์ยูเรียสูง ซึ่งปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดเป็นตัววัดความเข้มข้นของแอมโมเนียในกระเพาะรูเมนที่ดีในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Khon, 2007) สอดคล้องกับ Van Soest (1987) รายงานว่าปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดอาจสูงได้เนื่องจากสัตว์อยู่ในสภาวะที่ได้รับอาหารที่มีระดับไนโตรเจนต่ำหรือได้รับอาหารในปริมาณที่จำกัด ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะหมักจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นแอมโมเนียส่วนเกินจะถูกส่งเข้าสู่ระบบเลือดทำให้สัตว์มีปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดสูงขึ้น โดยสัดส่วนระหว่างไนโตรเจนต่อพลังงาน มีอิทธิพลต่อยูเรียไนโตรเจนในเลือด โดยจะขึ้นอยู่กับระดับของอาหารที่กิน และการสลายโปรตีนในกระเพาะรูเมน การได้รับโปรตีนในปริมาณสูงจึงส่งผลให้ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดสูงตามไปด้วย (Riis, 1983) โดยหลังจากกินอาหารเข้าไปแล้วปริมาณแอมโมเนียในกระเพาะหมักจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และสูงขึ้นภายในเวลา 1-2 ชั่วโมง หลังจากนั้นแอมโมเนียส่วนเกินจะเข้าสู่ระบบเลือด และหลังกินอาหารช่วง 3-4 ชั่วโมง ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดจะเพิ่มขึ้นสูงสุด (Khon, 2007) เช่นเดียวกับ Higginbotham *et al.* (1989) รายงานว่าปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดจะขึ้นอยู่กับปริมาณและความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารที่สัตว์ได้รับ ซึ่งปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดยังเป็นตัวชี้วัดถึงการใช้ประโยชน์ของโปรตีนในอาหาร (Tiffany *et al.*, 1972)

Table 4. Least squares means and standard error of blood metabolites in dairy replacement heifers with receiving different feed treatment

| Items                       | Treatments                  |                             |                              | P-value |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------|
|                             | T1                          | T2                          | T3                           |         |
| Blood glucose (mg/dl)       |                             |                             |                              |         |
| – 0 h-post feeding          | 66.00 ± 2.26                | 66.47 ± 2.27                | 63.30 ± 2.25                 | 0.4959  |
| – 4 h-post feeding          | 67.16 ± 3.81                | 71.74 ± 3.78                | 68.26 ± 5.25                 | 0.5727  |
| Blood urea nitrogen (mg/dl) |                             |                             |                              |         |
| – 0 h-post feeding          | 7.19 ± 0.47                 | 6.80 ± 0.48                 | 6.68 ± 0.47                  | 0.7357  |
| – 4 h-post feeding          | 10.21 ± 0.52                | 9.12 ± 0.53                 | 8.68 ± 0.53                  | 0.2048  |
| Triiodothyronine (ng/dl)    |                             |                             |                              |         |
| – 0 h-post feeding          | 196.72 ± 16.44              | 147.75 ± 16.52              | 186.86 ± 16.35               | 0.1835  |
| – 4 h-post feeding          | 212.72 ± 14.65 <sup>a</sup> | 154.82 ± 14.72 <sup>b</sup> | 192.63 ± 14.57 <sup>ab</sup> | 0.0510  |

Least squares means ± standard error, <sup>a,b</sup> Least squares means in the same row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ )

ระดับฮอร์โมนไทรไอดไทโรนีนของโคกลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ก่อนการให้อาหารที่ 0 ชั่วโมง พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่หลังการให้อาหารที่ 4 ชั่วโมง พบว่ามีค่าเท่ากับ  $212.72 \pm 14.65$ ,  $154.82 \pm 14.72$  และ  $192.63 \pm 14.57$  ng/dl ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เนื่องจากระดับฮอร์โมนไทรไอดไทโรนีนมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการสร้างพลังงานและความคุมอัตราเมตาบอลิซึมพื้นฐาน ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และวิตามิน โดยจะมีผลต่อการทำงานของทุกระบบภายในร่างกาย เช่น ระบบหัวใจ ระบบย่อยอาหาร และระบบระบายความร้อน เป็นต้น นอกจากนี้ยังทำให้อัตราการใช้อาหารเพื่อสร้างพลังงาน รวมถึงอัตราการสร้างและการสลายโปรตีนของร่างกายเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนฮอร์โมนไทรอกซีนเป็นฮอร์โมนไทรไอดไทโรนีน อาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต และโปรตีนมีผลต่อการสังเคราะห์ไทรอยด์ฮอร์โมน โดยคาร์โบไฮเดรตจะกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนไทรอกซีน โปรตีนจะกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนไทรอกซีนเป็นฮอร์โมนไทรไอดไทโรนีน หากระดับไทรอยด์ฮอร์โมนในร่างกายสัตว์อยู่ในระดับที่เหมาะสมจะมีผลกระตุ้นการหมุนเวียนของโปรตีน (protein turnover) ส่งผลให้สัตว์ในระยะรุ่นมีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว แต่หากมีที่ระดับสูงเกินไปจะกระตุ้นการสลายโปรตีนมากกว่าการสร้างและสะสม หรือถ้าสัตว์ได้รับอาหารไม่เพียงพอจะทำให้เกิดการ

สลายตัวของโปรตีน และไขมันของร่างกายเช่นกันส่งผลให้น้ำหนักตัวลดลง การขาดอาหารจะมีผลทำให้ระดับของไทรอยด์ฮอร์โมนลดลง (Singh *et al.*, 2002) นอกจากนี้ฮอร์โมนไทรไอดไทโรนีนยังทำหน้าที่กระตุ้นเมตาบอลิซึมของเซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั้งร่างกาย ซึ่งจะทำให้หน้าที่ร่วมกับโกรทฮอร์โมนในการเร่งเสริมสร้างการเจริญเติบโตของร่างกาย ซึ่งระดับฮอร์โมนไทรไอดไทโรนีนจะมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงของสัตว์ด้วย (Minson, 1990) ซึ่งจะเห็นได้ว่าโคกลุ่มที่ 2 มีค่าการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว เท่ากับ  $27.47 \pm 3.13$  กิโลกรัม/ตัว ซึ่งมีค่าต่ำกว่าโคกลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 1 เท่ากับ  $31.10 \pm 3.09$  และ  $34.39 \pm 3.11$  กิโลกรัม/ตัว (ตารางที่ 2)

### ต้นทุนทางเศรษฐกิจ

เปรียบเทียบต้นทุนการผลิตโคนมสาวทดแทนที่ได้รับอาหารทั้ง 3 กลุ่ม ได้ผลดังนี้ ค่าโคแรกเข้า คิดตามราคาซื้อของสหกรณ์โคนมไทย-เดนมาร์ก อ่าวน้อย ที่ราคา 40 บาท/กิโลกรัม ค่ายาและเวชภัณฑ์ ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ วิตามิน คิดตามที่เคยแต่ละกลุ่มใช้ ค่าน้ำเชื้อและอุปกรณ์ คิดตามราคาของสหกรณ์โคนมไทย-เดนมาร์ก อ่าวน้อย จำกัด ที่ราคา 200 บาท/ดีส์ ค่าอาหารข้น ใช้อาหารสำเร็จรูปของสหกรณ์โคนมไทย-เดนมาร์ก อ่าวน้อย จำกัด ราคา 8.10 บาท/กิโลกรัม ค่าอาหารหยาบ ได้แก่ เศษข้าวโพดหมัก ราคา 2.00 บาท/กิโลกรัม ฟางข้าว ราคา

2.75 บาท/กิโลกรัม และอาหาร ECR ราคา 3.00 บาท/กิโลกรัม

จากการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของการเลี้ยงโคนมสาวทดแทนที่ได้รับอาหารกลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ตลอดจนการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่ามีต้นทุนค่าอาหารเท่ากับ  $4,584.26 \pm 2.80$ ,  $4,841.31 \pm 2.82$  และ  $5,237.91 \pm 2.79$  บาท/ตัว ( $P < 0.01$ ) จะเห็นได้ว่าโคกลุ่มที่ 3 มีต้นทุนค่าอาหารที่สูงกว่าโคทั้งสองกลุ่ม เนื่องจากกลุ่มที่ 3 มีต้นทุนค่าอาหารหยาบที่สูงกว่าซึ่งมีค่าเท่ากับ  $3,779.91 \pm 2.79$  บาท/ตัว ส่วนกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีค่าเท่ากับ  $2,397.26 \pm 2.80$  และ  $2,654.31 \pm 2.82$  บาท/ตัว อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) และมีต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อตัว ของทั้ง 3 กลุ่ม เท่ากับ  $17,277.14 \pm 59.20$ ,  $17,512.55 \pm 59.49$  และ  $18,109.66 \pm 58.89$  บาท/ตัว ตามลำดับ ( $P < 0.01$ ) ซึ่งจะเห็นได้ว่าต้นทุนค่าพันธุ์สัตว์จะเป็นต้นทุนที่สูงที่สุด และรองลงมาจะเป็นต้นทุนค่าอาหาร จึงส่งผลให้กลุ่มที่ 3 มีต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อตัวสูงกว่าทั้งสองกลุ่ม ส่งผลให้การให้อาหารหยาบ ECR อย่างเดียว (กลุ่มที่ 3) จะมีต้นทุนค่าอาหารต่อการเพิ่มน้ำหนัก 1 กิโลกรัม เท่ากับ 168.42 บาท/ตัว ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อการเพิ่มน้ำหนัก

1 กิโลกรัม ของกลุ่มที่ 3 มีค่าเท่ากับ 582.30 บาท/ตัว สูงกว่ากลุ่มที่ 1 ที่มีค่าเท่ากับ 502.39 แต่ต่ำกว่ากลุ่มที่ 2 ที่มีค่าเท่ากับ 637.52 บาท/ตัว

## สรุป

การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของโคทั้งสามกลุ่มไม่ต่างกัน แต่โคกลุ่มที่ได้รับอาหารหยาบ ECR อย่างเดียว มีการเปลี่ยนแปลงคะแนนความสมบูรณ์ร่างกาย พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ และโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมดสูงกว่าโคทั้งสองกลุ่ม การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในเลือดของโคทั้งสามกลุ่มอยู่ในช่วงปกติและไม่แตกต่างกัน ต้นทุนการผลิตทั้งหมดต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวของโคที่ได้รับอาหารหยาบ ECR อย่างเดียว มีค่าต่ำกว่าโคในกลุ่มที่ 2 ดังนั้นการเลี้ยงโคด้วยอาหารหยาบ ECR จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรในการเลือกใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบหมักทดแทนในช่วงขาดแคลนพืชอาหารสัตว์เลี้ยงโคนมสาวทดแทน เพื่อให้ได้โครีดนมที่ผลิตน้ำนมได้มากขึ้นในอนาคตต่อไป

Table 5. Least squares means and standard error of production cost and economic return in dairy replacement heifers with receiving different feed treatment during the experimental period (baht/head)

| Items                                  | Treatments                         |                                    |                                    | P-value |
|----------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------|
|                                        | T1                                 | T2                                 | T3                                 |         |
| Animal breed cost                      | 12,312.24 $\pm$ 73.57              | 12,389.30 $\pm$ 73.92              | 12,456.55 $\pm$ 73.17              | 0.4399  |
| Medicine and the medical supplies cost | 30.82 $\pm$ 7.58                   | 33.94 $\pm$ 7.62                   | 31.91 $\pm$ 7.54                   | 0.9587  |
| Frozen semen and equipment cost        | 349.82 $\pm$ 39.90                 | 248.01 $\pm$ 40.09                 | 383.29 $\pm$ 39.68                 | 0.1347  |
| Concentrate cost                       | 2,187.00 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>   | 2,187.00 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>   | 1,458.00 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>   | 0.0001  |
| Roughage cost                          | 2,397.26 $\pm$ 2.80 <sup>c</sup>   | 2,654.31 $\pm$ 2.82 <sup>b</sup>   | 3,779.91 $\pm$ 2.79 <sup>a</sup>   | 0.0001  |
| Feed costs                             | 4,584.26 $\pm$ 2.80 <sup>c</sup>   | 4,841.31 $\pm$ 2.82 <sup>b</sup>   | 5,237.91 $\pm$ 2.79 <sup>a</sup>   | 0.0001  |
| Total production costs per head        | 17,277.14 $\pm$ 59.20 <sup>b</sup> | 17,512.55 $\pm$ 59.49 <sup>b</sup> | 18,109.66 $\pm$ 58.89 <sup>a</sup> | 0.0004  |
| Total production costs (21 cows)       | 362,819.94                         | 367,763.55                         | 380,302.86                         | —       |
| Feed costs per weight gain             | 133.30                             | 176.24                             | 168.42                             | —       |
| Total production costs per weight gain | 502.39                             | 637.52                             | 582.30                             | —       |

Least squares means  $\pm$  standard error, <sup>abc</sup> Least squares means in the same row with different superscripts significantly differ ( $P < 0.01$ )

## คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณอย่างสูงต่อบริษัท ริช แอนด์ กรีน จำกัด ที่ให้การสนับสนุนทุนในการทดลอง และ สหกรณ์โคนมไทย-เดนมาร์ก อำเภอเมือง จำกัด จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์ ที่ให้การสนับสนุนสถานที่และ สัตว์ทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

ฉลอง วชิราภากร จันทิรา วงศ์เณร อนุสรณ์ เฑียรทอง และ กันยา พลแสน. 2559. ผลของกากเอทานอลแห้ง ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ผลผลิตและองค์ประกอบนํ้ามันใน โคให้นม. วารสารเกษตร 32(2): 247-259.

ศรเทพ ธัมมาสาร. 2550. คุณค่าทางอาหารของกากน้ำตาล เอทานอลและผลการทดลอง. หน้า 6-18. ใน: รายงานการสัมมนาพิเศษ เรื่อง การใช้ กากน้ำตาลเอทานอลในการเลี้ยงสัตว์เพื่อลด ต้นทุนการผลิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุภาวดี แหยมคง. 2559. ต้นทุนและผลตอบแทนการผลิต โคเนื้อของเกษตรกรในอำเภอบัวชุม และ อำเภอพรหมพิราม จังหวัดพิษณุโลก. วารสาร เกษตร 32(3): 401-407.

AFFRCS. 1999. Japanese Feeding Standard for Dairy Cattle. Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF), Japan.

Anderson, J., B.S. Capper and N.R. Bromage. 1991. Measurement and prediction of digestible energy value in feedstuffs for the herbivorous fish tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). British Journal of Nutrition 66: 37-48.

Andrew, S.M., J.H. Clark and C.L. Davis. 1979. Feeding value of opaque-2 corn grain and

corn silage for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 62: 1619-1625.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14<sup>th</sup> ed. AOAC, Arlington, VA.

Bolsen, K.K., C. Lin, B.E. Brent, A.M. Feyerherm, J.E. Urban and W.R. Aimutis. 1992. Effect of silage additive on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silage. Journal of Dairy Science 75: 3066-3083.

Chen, X.B. and M.J. Gomes. 1995. Estimation of Microbial Protein Supply to Sheep and Cattle Based on Urinary Excretion of Purine Derivatives-An Overview of the Technical Details. International Feed Resource Unit, Rowett Research Institute, Aberdeen.

Edmonson, A.J., I.J. Lean, L.D. Weaver, T. Farver and G. Webster. 1989. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. Journal of Dairy Science 72: 68-78.

Elferink, S.J.W.H.O., F. Driehuis, J.C. Gottschal and S.F. Spoelstra. 2000. Silage fermentation processes and their manipulation, pp. 17-30. In: Proceedings of the FAO Electronic Conference on Tropical Silage. Plant Production and Protection, FAO, Rome.

Fenner, H. and J.M. Elliot. 1963. Quantitative method for determining the steam volatile fatty acids in rumen fluid by gas chromatography. Journal of Animal Science 22: 624-627.

Frandsen, R.D., W.L. Willke and A.D. Fails. 2009. Anatomy and Physiology of Farm Animals. 7<sup>th</sup> ed. Wiley-Blackwell, Ames. 528 p.

Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (apparatus, reagents, procedures and some application). USDA

- Handbook Agricultural Research Service No. 379, Washington, D.C.
- Guthrie, M.J. and D.G. Wagner. 1988. Influence of protein or grain supplementation and increasing levels of soybean meal on intake, utilization and passage rate of prairie hay in beef steers and heifers. *Journal of Animal Science* 66: 1529-1537.
- Higginbotham, G.E., M. Torabi and J.T. Huber. 1989. Influence of dietary protein concentration and degradability on performance of lactating cows during hot environmental temperatures. *Journal of Dairy Science* 72: 2554-2564.
- Khon, R. 2007. Use of milk or blood urea nitrogen to identify feed management inefficiencies and estimate nitrogen excretion by dairy cattle and other animals, pp. 1-15. *In: Proceedings of Florida Ruminant Nutrition Symposium*. Gainesville, FL.
- Leng, R.A. 1990. Factors affecting the utilization of poor quality forage by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutrition Research Reviews* 3(1): 277-303.
- McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh and C.A. Morgan. 2005. *Animal Nutrition*. 6<sup>th</sup> ed. Longman Scientific and Technical, New York.
- Minson, D.J. 1990. *Forage in Ruminant Nutrition*. Academic Press, San Diego.
- National Research Council (NRC). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7<sup>th</sup> rev. ed. National Academy Press, Washington, D.C. 408 p.
- Park, R.S. and M.D. Stronge. 2005. *Silage Production and Utilisation*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen. 288 p.
- Pomma, S., S. Tuikumpee, P. Jeenklum and T. Indratula. 1993. Effect of varying dietary levels of total digestible nutrients, protein and fiber on the growth of crossbred holstein heifers fed urea-treated rice straw diets under two feeding systems. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 6(1): 91-97.
- Riis, P.M. 1983. *Dynamic Biochemistry of Animal Production*. Elsevier Science, Amsterdam.
- Schmid, M. and V. Forstner. 1986. *Laboratory Testing in Veterinary Medicine Diagnosis and Clinical Monitoring*. 3<sup>rd</sup> ed. Boehringer Mannheim, Mannheim. 253 p.
- Singh, A.S., D.T. Pal, B.C. Mandal, P. Singh and N.N. Pathak. 2002. Studies on changes in some of blood constituents of adult crossbred cattle fed different levels of extracted rice bran. *Pakistan Journal of Nutrition* 1(2): 95-98.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 2<sup>nd</sup> ed. McGraw-Hill, Aucklan.
- Tiffany, T.O., J.M. Jansen, C.A. Burtis, J.B. Overton and C.D. Scott. 1972. Enzymatic kinetic rate and end point analyses of substrate by the use of a GeMSAEC fast analyzer. *Clinical Chemistry* 18(8): 829-840.
- Tumwasorn, S., P. Climee, W. Pirunsam, B. Chompoonsri and S. Sritawee. 1996. Production of silage from sweet corn waste for small farm dairy cattle operation. *Thai Journal of Agricultural Science* 29(4): 595-601.
- Van Keulen, J. and B.A. Young. 1977. Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science* 44: 282-287.

- Van Soest, P.J. 1987. Nutritional Ecology of the Ruminant: Ruminant Metabolism, Nutritional Strategies, the Cellulolytic Fermentation and the Chemistry of Forage and Plant Fiber. Cornell University Press, Ithaca.
- Waltner S.S., J.P. McNamara and J.K. Hillers. 1993. Relationships of body condition score to production variables in high producing holstein dairy cattle. Journal of Dairy Science 76: 3410-3419.
- Wheeler, J.L. and C. Mulcahy. 1989. Consequences for animal production of cyanogenesis in sorghum and hay. Tropical Grasslands 23: 193-202.
-

# การเปรียบเทียบสมรรถภาพการขุน คุณภาพซาก และเนื้อของโคลูกผสมระหว่างพันธุ์พื้นเมืองกับชาร์โรเลส์ แบล็คแองกัส และบราห์มัน

## Comparison of Fattening Performance, Carcass and Meat Quality of Charolais, Black Angus, and Brahman Crossbred with Thai Native Cattle

ธนาพร บุญมี<sup>1</sup> นิราภรณ์ ชัยวัง<sup>2</sup> ณัฐพันธ์ กันธิยะ<sup>3</sup> และ สันชัย จตุรสิทธา<sup>4</sup>  
Thanaporn Bunmee<sup>1</sup>, Niraporn Chaiwang<sup>2</sup>, Nuttapan Kantiya<sup>3</sup> and Sanchai Jaturasitha<sup>4</sup>

<sup>1</sup>สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา 56000

<sup>1</sup>Division of Animal Sciences, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao 56000, Thailand

<sup>2</sup>สาขาเทคโนโลยีและพัฒนากาเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50300

<sup>2</sup>Division of Agricultural Technology and Development, Faculty of Agricultural Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50300, Thailand

<sup>3</sup>สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดแพร่ กรมปศุสัตว์ จ.แพร่ 54000

<sup>3</sup>Phrae Provincial Livestock Office, Department of Livestock Development, Phrae 54000, Thailand

<sup>4</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>4</sup>Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

\*Corresponding author: Email: yho\_009@hotmail.com

(Received: 4 January 2017; Accepted: 24 April 2017)

**Abstract:** The purpose of this research was to compare fattening performance, carcass and meat quality of Charolais, Black Angus and Brahman crossbred with Thai native cattle. For selecting breed appropriate for fattening in Thailand and alternative purpose of substitute imported beef high quality. This experiment was conducted by using steer of Thai native × Charolais (N×C), Thai native × Black Angus (N×A) and Thai native × Brahman (N×B) cattle fattening 8-10 month, 8 heads per group. The average initial age was 2 year 6 months and 2 year 8 months, respectively. They were fed concentrate grass and water ad libitum and recorded fattening performance. At the average weight of 550-700 kg, they were slaughtered and dressed for comparison of carcass quality between breeds. The results revealed that fattening period of N×B and N×C cattle significantly longer than N×A ( $P<0.001$ ) cattle. For weight gain found that N×C was the highest significantly and following by N×A and N×B. Furthermore, average daily gain (ADG) found that N×A was the highest following by N×C (no significant difference) N×B ( $P<0.001$ ) respectively. Moreover, carcass traits of three crossbred cattle found that live weight, hot carcass weight, cold carcass weight and dressing percentage of N×B was the least ( $P<0.001$ ). For meat quality, fat percentage and sensory evaluation had no significant difference between N×A and N×C cattle. The results of water holding capacity found that drip loss of N×A cattle was the highest ( $P=0.036$ ). In addition to the shear force value of N×A was the least ( $P<0.001$ ) following by N×C and N×B cattle. The conclusion of this study both of taurus crossbred had not differ of marbling percentage and sensory evaluation but N×A was the highest growth performance and tenderness. Moreover, N×C was the best potential carcass quality.

**Keywords:** Fattening performance, carcass quality, meat quality, marbling, Thai native crossbred cattle

**บทคัดย่อ:** การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสมรรถภาพการขุน คุณภาพซาก และเนื้อของโคลูกผสมพื้นเมืองชาร์โรเลส์ แบล็คแองกัส และบราห์มัน เพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการขุนสำหรับการเลี้ยงในประเทศไทย และเป็นทางเลือกในการผลิตเพื่อทดแทนการนำเข้าเนื้อโคคุณภาพดีจากต่างประเทศ การทดลองนี้ใช้โคเพศผู้ตอนลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ โคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส และโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน ขุนเป็นเวลา 8-10 เดือน แบ่งเป็นกลุ่มการทดลองละ 8 ตัว อายุเริ่มต้นเข้าขุนเฉลี่ย 2 ปี 6 เดือน-2 ปี 8 ตามลำดับ โดยให้อาหารข้น หญ้า และน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ทำการวัดสมรรถภาพการขุน และเมื่อน้ำหนักเฉลี่ย 550-700 กิโลกรัมนำมาฆ่าและตัดแต่งซากเพื่อเปรียบเทียบคุณภาพเนื้อและซากระหว่างพันธุ์ ผลการวิจัยพบว่า ระยะเวลาที่ใช้ขุนของโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน และโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ มากกว่าโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส ( $P<0.001$ ) สำหรับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นพบว่าโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์มีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส และโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน นอกจากนี้อัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันพบว่า โคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส มีค่ามากที่สุด รองลงมาคือโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ ( $P>0.05$ ) และ โคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน ( $P<0.001$ ) สำหรับคุณภาพซากของโคลูกผสมทั้ง 3 พันธุ์พบว่า น้ำหนักมีชีวิต น้ำหนักซากอุ่น น้ำหนักซากเย็น และเปอร์เซ็นต์ซากของโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มันมีค่าน้อยที่สุด ( $P<0.001$ ) สำหรับคุณภาพเนื้อด้านเปอร์เซ็นต์ไขมัน และการประเมินทางด้านการตรวจชิ้นเนื้อ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส กับโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ จากการศึกษาความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อพบว่าโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส มีค่าการสูญเสียจากการเก็บรักษามากที่สุด ( $P=0.036$ ) ส่วนทางด้านของค่าแรงตัดผ่านเนื้อ พบว่าโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส มีค่าน้อยที่สุด ( $P<0.001$ ) รองลงมาคือ โคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ และโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน ตามลำดับ จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าโคลูกผสมสายเลือดยุโรปไม่มีความแตกต่างในส่วนของเปอร์เซ็นต์ไขมันแทรกและด้านการตรวจชิ้นเนื้อ แต่โคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัสจะมีสมรรถภาพด้านการเจริญเติบโตและมีความนุ่มของเนื้อสูงที่สุด สำหรับโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์จะมีประสิทธิภาพด้านคุณภาพซากมากที่สุด

**คำสำคัญ:** สมรรถภาพการขุน คุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ ไขมันแทรกในกล้ามเนื้อ โคลูกผสมพื้นเมือง

## คำนำ

ประเทศไทยมีการนำเข้าเนื้อโคขุนจากต่างประเทศปีละหลายล้านบาท เพื่อบริการแก่นักท่องเที่ยวชาวต่างประเทศและคนไทย สาเหตุที่ต้องนำเข้าเพราะประเทศไทยผลิตเนื้อโคขุนที่คุณภาพดีไม่เพียงพอความต้องการของตลาด ดังนั้นเหตุผลสำคัญสำหรับเกษตรกรไทยที่ต้องผลิตโคขุนคือเพื่อลดการนำเข้าหรือผลิตเพื่อทดแทนการนำเข้า ปี 2560 คาดว่ามีปริมาณการผลิต 1.038 ล้านตัว หรือ 174.36 พันตัน เพิ่มขึ้นจากปี 2559 เนื่องจากราคาโคเนื้อที่สูงขึ้นในปี 2557-2558 ประกอบกับมีความต้องการจากตลาดทั้งในประเทศและประเทศเพื่อนบ้าน รวมถึงมีการส่งเสริมการเลี้ยงโคเนื้อจากภาครัฐ ที่ช่วยเพิ่มศักยภาพการผลิตโคเนื้อ ส่งผลให้เกษตรกรหันมาเลี้ยงโคเนื้อกันมากขึ้น อีกทั้งรัฐบาลยังมี

โครงการส่งเสริมให้ชาวนาที่อยู่นในพื้นที่ที่ไม่เหมาะสมในการปลูกข้าวเปลี่ยนอาชีพมาเลี้ยงโคเนื้ออีกด้วย นอกจากนี้กองทุนปรับโครงสร้างการผลิตภาคการเกษตรเพื่อเพิ่มขีดความสามารถการแข่งขันของประเทศ หรือ กองทุน FTA ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ยังได้อนุมัติโครงการเพิ่มศักยภาพการผลิตเนื้อโคขุนคุณภาพสูง ของกรมส่งเสริมสหกรณ์ ตลาดภายในประเทศที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยตลาดยังคงนิยมบริโภคเนื้อโคแบบชาบูหรือปิ้งย่าง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) การปรับปรุงพันธุ์โคให้มีโครงร่างใหญ่ โตเร็ว ซึ่งเหมาะกับการขุนมากยิ่งขึ้น ทั้งนี้การขุนโค หมายถึง การนำโคมาเลี้ยงให้เติบโตอย่างรวดเร็วโดยอาหารข้นและอาหารหยาบเพื่อให้มีการพัฒนาโครงสร้างเนื้ออย่างรวดเร็ว เนื่องจากเนื้อโคขุนจะมีความนุ่มและชุ่มฉ่ำกว่าเนื้อโคทั่วไปเพราะมีไขมันแทรกตามเส้นใยกล้ามเนื้อ (marbling) มาก ซึ่งเป็นที่



ต้องการของตลาดเนื้อคุณภาพสูง สำหรับโคเนื้อสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่เกษตรกรนิยมนำมาผสมพันธุ์กับสายพันธุ์พื้นเมืองนั้น มีหลายพันธุ์ โดยโคลูกผสมแต่ละพันธุ์มีลักษณะเด่นและด้อยแตกต่างกันไป คือ โคลูกผสมบราห์มัน มีขนาดรูปร่างใหญ่ปานกลาง ทนต่อสภาพแวดล้อมของประเทศไทย และมีการเจริญเติบโตดีกว่าโคพื้นเมืองซึ่งเกษตรกรนิยมเลี้ยง แต่มีข้อเสียคือมีอัตราการผสมติดต่ำ มีไขมันแทรกน้อย (สุกัญญา และคณะ, 2556) เปอร์เซ็นต์ซากเฉลี่ยอยู่ที่ 51.9 (นิราภรณ์ และคณะ, 2554)

โคพื้นเมืองเป็นสัตว์ที่เกษตรกรเลี้ยงเพื่อผลิตเนื้อสำหรับบริโภคภายในประเทศ เป็นสัตว์ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิต โดยเฉพาะในสภาพการผลิตที่มีอากาศร้อนชื้นเมื่อทำการเสริมอาหารให้กับโคพื้นเมืองทั้งอาหารข้นและอาหารหยาบนั้น สามารถเพิ่มน้ำหนักตัวได้ถึง 500-600 กรัมต่อวัน (ดวงกมล และสุทธิพงศ์, 2559) สำหรับโคลูกผสมชาร์โรเลส์นั้น จะมีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว ซากมีขนาดใหญ่ เนื้อนุ่มมีไขมันแทรกค่อนข้างมาก แต่มีข้อเสียคือ หากเป็นลูกผสมสายเลือดสูง ๆ มักจะไม่ทนต่อสภาพอากาศร้อนชื้น ทำให้โคกินอาหารได้น้อยลง อัตราการเจริญเติบโตด้อยลงไปอีกทั้งหากผสมกับแม่โคพื้นเมืองที่มีขนาดเล็กจะทำให้เกิดปัญหาการคลอดยาก สำหรับในด้านคุณภาพซาก Opatpatanakit *et al.* (2008) รายงานว่า ชิ้นส่วนตัดแต่งจากซากของโคพื้นเมือง โคพันธุ์บราห์มันสายเลือดสูง และโคพันธุ์ชาร์โรเลส์สายเลือดสูงพบว่าโคพื้นเมืองมีเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงรวมใกล้เคียงกับโคพันธุ์ บราห์มันและสูงกว่าโคพันธุ์ชาร์โรเลส์ แต่มีเปอร์เซ็นต์กระดูกมากที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์ไขมันน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับทุกสายพันธุ์ จากรายงานของ Papaleo Mazzucco *et al.* (2016) พบว่าโคลูกผสม 50% ลิมูซีน มีน้ำหนักซากสูงที่สุดเมื่อเทียบกับโคลูกผสมแองกัส กับ เฮียฟอร์ด ที่ระดับสายเลือดของแองกัส เท่ากับ 25, 50, 75 และ 100% เฮียฟอร์ด และ 100% แองกัสตามลำดับ จะเห็นได้ว่าความแตกต่างของสายพันธุ์มีผลโดยตรงต่อคุณภาพซากอย่างชัดเจน ในแง่การเลี้ยงแม่โคเนื้อเพื่อผลิตลูกโคขุนพันธุ์ดี และการเลี้ยงลูกโคเนื้อพันธุ์ดีเพื่อเลี้ยงเป็นโคขุนต่อไป แต่เนื่องจากมีปัจจัยจำนวนมากที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อเช่น ปัจจัยเฉพาะของตัวสัตว์ การ

จัดการก่อนและหลังฆ่าสัตว์ (สัญญา, 2550) จากเหตุผลนี้เองมีนักวิจัยจำนวนมากที่พยายามควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อคุณภาพเนื้อ และเมื่อทุกปัจจัยถูกจัดการให้อยู่ในรูปแบบเดียวกัน พันธุ์จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพซากและเนื้อ ซึ่งส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมเลี้ยงเป็นโคขุนคือโคเนื้อลูกผสมบราห์มันหรือชาร์โรเลส์ (เช่น โคลูกผสมไทยพื้นเมือง 25% บราห์มัน 25% ชาร์โรเลส์ 50% โคลูกผสมบราห์มัน 50% และชาร์โรเลส์ 50% หรือโคลูกผสมบราห์มัน 50% และแองกัส 50% แต่ข้อมูลทางด้านคุณภาพซากและเนื้อของโคลูกผสมขุนที่เลี้ยงด้วยอาหารข้นและอาหารหยาบคุณภาพดีเป็นเวลา 8-10 เดือน มีค่อนข้างจำกัด งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมรรถภาพการขุน คุณภาพซากและเนื้อของโคลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองชาร์โรเลส์ แบล็คแองกัส และบราห์มัน

## อุปกรณ์และวิธีการ

ในการทดลองนี้ศึกษาข้อมูลสมรรถภาพการขุน คุณภาพซากและเนื้อของโคขุนเพศผู้ตอนพันธุ์ต่าง ๆ โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มการทดลอง กลุ่มการทดลองละ 8 ตัว (รวม 24 ตัว) ดังนี้ กลุ่มการทดลองที่ 1 โคลูกผสมพื้นเมืองและชาร์โรเลส์ 50% (พื้นเมือง x ชาร์โรเลส์) กลุ่มการทดลองที่ 2 โคลูกผสมพื้นเมืองและแบล็คแองกัส 50% (พื้นเมือง x แบล็คแองกัส) กลุ่มการทดลองที่ 3 โคลูกผสมพื้นเมืองและบราห์มัน 50% (พื้นเมือง x บราห์มัน) โดยอายุเริ่มต้นเข้าขุนเฉลี่ย 2 ปี 6 เดือน ถึง 2 ปี 8 เดือน น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 319-395 กิโลกรัม ทุกกลุ่มการทดลองจะได้รับอาหารหยาบอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โดยอาหารข้นที่ให้เป็นอาหารทางการค้าที่มีระดับโปรตีนประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์อย่างเต็มที่ 2 มื้อต่อวัน เป็นเวลา 8-10 เดือน จนได้น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย 543-687 กิโลกรัม สำหรับการศึกษาด้านสมรรถภาพการขุน ทำการบันทึกน้ำหนักโคทุกตัวในวันที่เริ่มการทำการทดลอง และน้ำหนักสุดท้ายในวันที่ทำการฆ่า บันทึกปริมาณอาหารที่กิน (*feed intake*) เพื่อศึกษาสมรรถภาพการขุน บันทึกระยะเวลาในการขุน น้ำหนักก่อนและหลังการขุน เพื่อใช้ในการคำนวณสมรรถภาพการขุน และบันทึกอัตราการเจริญเติบโตต่อตัว การศึกษาคุณภาพซาก

ทำการศึกษาครั้งนี้นำโคในแต่ละกลุ่มการทดลอง เข้ามาเมื่อถึงน้ำหนักส่งตลาด (ประมาณ 650-700 กิโลกรัม) ซึ่งน้ำหนักโคมีชีวิต (live weight) อุดอาหารโคมาอย่างน้อย 12-24 ชั่วโมง แต่มีน้ำสะอาดให้ตลอดเวลา ชั่งน้ำหนักซากอุ่น และน้ำหนักซากเย็น (ภายหลังจากการแช่เย็นที่ 3 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คำนวณเปอร์เซ็นต์ซาก (dressing percentage) (สัญญาชัย, 2550) วัดความยาวซาก (carcass length) โดยการวัดจากตำแหน่งซี่โครงแรกถึงหัวกระดูก lumbar โดยใช้สายวัด หาพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน (loin eye area) จากเนื้อสันนอกบริเวณตำแหน่งซี่โครงซี่ที่ 12 และ 13 โดยใช้กระดาษลอกลาย ทำซ้ำ 2 ครั้งเพื่อใช้ในการวัดด้วยเครื่องวัดพื้นที่ (planimeter) ชั่งน้ำหนักของชิ้นส่วนซากทุกชิ้น น้ำหนักในแต่ละส่วนที่ได้จะนำไปคิดเทียบกับเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักมีชีวิต (percentage of live weight) (สัญญาชัย, 2550)

การศึกษาด้านคุณภาพของเนื้อ วัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity measurement) โดยการวัดค่า ดังนี้ 1. ค่าการสูญเสียน้ำจากการเก็บรักษา (drip loss) 2. ค่าการสูญเสียน้ำจากเนื้อจากการทำละลาย (thawing loss) 3. ค่าการสูญเสียน้ำหนักเนื้อจากการปรุงอาหาร (cooking loss) โดยนำกล้ามเนื้อสันนอกมาทำการชั่งน้ำหนักก่อนและหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง การทำละลาย และการปรุงอาหาร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียจากการเก็บรักษา การทำละลาย และการปรุงอาหาร ตามลำดับ สำหรับการประเมินด้านการตรวจชิม (sensory evaluation) การให้คะแนนการตรวจชิมจะพิจารณาตามวิธีของ ไพโรจน์ (2535) โดยนำกล้ามเนื้อสันนอกมาอบที่อุณหภูมิ 150 °C จนได้อุณหภูมิใจกลางเนื้อประมาณ 70 °C ตัดเนื้อให้มีขนาดเท่ากันมีลักษณะเป็นช่องขนาด 1 เซนติเมตร จากนั้นเสิร์ฟให้แก่ผู้ตรวจชิม ซึ่งได้ผ่านการฝึกฝนการตรวจชิม จำนวน 9 คน ผู้ตรวจชิมจะได้รับแบบ สอบถามการตรวจชิมเนื้อ และฟังการบรรยายขั้นตอนการตรวจชิมโดยละเอียด ซึ่งการให้คะแนนการตรวจชิมจะพิจารณา 4 ลักษณะ คือ ความนุ่ม (tenderness) ความชุ่มฉ่ำ (juiciness) กลิ่นและรสชาติ (flavourness) และความพอใจโดยรวม (acceptability) โดยมีการให้คะแนนตั้งแต่ 1 ถึง 9 ซึ่งหมายถึง ความพอใจ

น้อยที่สุดไปจนถึงพอใจมากที่สุด ผู้ตรวจชิมจะได้รับน้ำและขนมปังหลังจากทดสอบชิมเนื้อแต่ละชิ้น (ไพโรจน์, 2535) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (chemical composition analysis) ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความชื้น โปรตีน และไขมัน ด้วยวิธี proximate analysis (AOAC, 1995) ทำการวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear force value) ด้วยเครื่อง texture analyzer (TA-XT2i/50, UK) นำเนื้อที่ต้มสุกที่มีอุณหภูมิใจกลางเนื้อประมาณ 70 °C มาเจาะตามแนวเส้นใยกล้ามเนื้อด้วยเหล็กกลวงปลายกลม (core) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.27 เซนติเมตร วัดค่าแรงตัดผ่านด้วยเครื่อง texture analyzer (model TA.XT plus, Stable Micro System, Ltd., London, England) หัววัด 5 kN ด้วยความเร็ว 200 มิลลิเมตรต่อวินาที อ่านเป็นค่าสูงสุด (maximum force, N)

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1996)

### ผลการทดลอง

ผลการทดลองจากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาที่ใช้ในการขุนโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส ใช้ระยะเวลาในการขุนสั้นที่สุดเมื่อเทียบกับโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน และโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ ) สำหรับน้ำหนักเริ่มต้นในการขุน (Initial body weight) โคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน มีน้ำหนักที่น้อยกว่าโคลูกผสมกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ ) และเมื่อสิ้นสุดการขุนค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (body weight gain) ของโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส มีค่าสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น ส่วนค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน (average daily gain) โคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส และโคลูกผสม

พื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ มีค่าสูงกว่าโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ )

สำหรับการทดลองด้านคุณภาพซากจากตารางที่ 2 น้ำหนักมีชีวิตของโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส มีค่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มอื่นแต่โคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน แต่มีค่าต่ำกว่าโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ ) น้ำหนักซากอุ่นและซากเย็นของโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ มีค่าสูงที่สุดตามด้วยโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส และโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มันตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ซากของโคลูกผสมพื้นเมือง x

ชาร์โรเลส์ และโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มันมีค่าน้อยกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ ) ความหนาของชั้นไขมันสันหลังเปอร์เซ็นต์ไขมัน และพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันของโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน มีค่าน้อยกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ ) แต่โคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มันมีเปอร์เซ็นต์กระดูกมากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.001$ ) ส่วนค่าความยาวซากเปอร์เซ็นต์เนื้อแดง และเปอร์เซ็นต์หลังตัดแต่งโคลูกผสมทั้งสามกลุ่มมีค่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 1. Fattening performance obtained from three crossbred types

| Carcass traits             | Breed            |                  |                  | SEM <sup>1</sup> | P-Value |
|----------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------|
|                            | N x B            | N x C            | N x A            |                  |         |
| Number of animal           | 8                | 8                | 8                |                  |         |
| Fattening period (day)     | 354 <sup>a</sup> | 337 <sup>a</sup> | 270 <sup>b</sup> | 12.2             | < 0.001 |
| Initial body weight (kg)   | 319 <sup>b</sup> | 395 <sup>a</sup> | 371 <sup>a</sup> | 15.6             | < 0.001 |
| Body weight gain (kg)      | 221 <sup>b</sup> | 292 <sup>a</sup> | 236 <sup>b</sup> | 8.95             | < 0.001 |
| Average daily gain (g/day) | 624 <sup>b</sup> | 866 <sup>a</sup> | 874 <sup>a</sup> | 59.65            | < 0.001 |

N x B = Thai native x Brahman; N x C = Thai native x Charolais and N x A = Thai native x Black Angus

<sup>a,b</sup> Means within the same row with different superscripts differ significantly ( $P<0.05$ )

<sup>1</sup> Standard error of the means

Table 2. Carcass composition obtained from three crossbred types

| Carcass traits                   | Breed               |                     |                      | SEM <sup>1</sup> | P-Value |
|----------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|------------------|---------|
|                                  | N x B               | N x C               | N x A                |                  |         |
| Live weight (kg)                 | 543 <sup>b</sup>    | 687 <sup>a</sup>    | 612 <sup>ab</sup>    | 26.54            | < 0.001 |
| Hot carcass weight (kg)          | 298.65 <sup>b</sup> | 405.33 <sup>a</sup> | 348.84 <sup>ab</sup> | 8.56             | < 0.001 |
| Chill carcass weight (kg)        | 289.06 <sup>b</sup> | 393.17 <sup>a</sup> | 338.37 <sup>ab</sup> | 6.89             | < 0.001 |
| Carcass (%)                      | 53.32 <sup>b</sup>  | 57.22 <sup>a</sup>  | 55.28 <sup>a</sup>   | 1.23             | < 0.001 |
| Carcass length (cm)              | 134.56              | 141.98              | 139.67               | 10.56            | 0.250   |
| Back fat thickness (cm)          | 0.81 <sup>b</sup>   | 1.53 <sup>a</sup>   | 1.45 <sup>a</sup>    | 0.0041           | 0.015   |
| Loin eye area (cm <sup>2</sup> ) | 72.70 <sup>b</sup>  | 96.20 <sup>a</sup>  | 86.56 <sup>ab</sup>  | 3.25             | 0.025   |
| Lean percentage (%)              | 56.31               | 55.31               | 55.63                | 0.36             | 0.568   |
| Fat percentage (%)               | 20.82 <sup>b</sup>  | 23.84 <sup>a</sup>  | 22.41 <sup>a</sup>   | 0.21             | 0.014   |
| Bone percentage (%)              | 20.03 <sup>a</sup>  | 18.01 <sup>b</sup>  | 18.82 <sup>b</sup>   | 0.17             | 0.012   |
| Trim (%)                         | 3.52                | 3.64                | 3.99                 | 0.06             | 0.236   |

N x B = Thai native x Brahman; N x C = Thai native x Charolais and N x A = Thai native x Black Angus

<sup>a,b</sup> Means within the same row with different superscripts differ significantly ( $P<0.05$ )

<sup>1</sup> Standard error of the means

ผลด้านคุณภาพเนื้อแสดงดังตารางที่ 3 โคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มันมีเปอร์เซ็นต์ความชื้น และโปรตีนมากกว่ากลุ่มอื่น ๆ แต่มีเปอร์เซ็นต์ไขมันน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) สำหรับค่า pH 45 min และ pH 24 h ของโคลูกผสมทั้งสามกลุ่มพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้พบว่าโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเนื่องจากการเก็บรักษา (drip loss) และ ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเนื่องจากการปรุง (cooking

loss) สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนกลุ่มที่เหลือไม่แตกต่างกัน และค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียเนื่องจากการทำละลาย (thawing loss) ของทั้งสามกลุ่มการทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

การทดลองจากตารางที่ 4 เนื้อโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มัน มีค่าความนุ่มของเนื้อ (tenderness) ค่าความชุ่มฉ่ำ (juiciness) และ ค่าความพึงพอใจโดยรวม (overall acceptability) น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มอื่นมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มี

**Table 3. Meat quality obtained from three crossbred types**

| Criteria                   | Breed              |                    |                    | SEM <sup>1</sup> | P-Value |
|----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------|
|                            | N x B              | N x C              | N x A              |                  |         |
| Chemical Composition (%)   |                    |                    |                    |                  |         |
| Moisture                   | 74.21 <sup>a</sup> | 72.12 <sup>b</sup> | 72.01 <sup>b</sup> | 0.24             | 0.018   |
| Protein                    | 23.17 <sup>a</sup> | 22.86 <sup>b</sup> | 22.89 <sup>b</sup> | 0.15             | 0.035   |
| Fat                        | 1.95 <sup>b</sup>  | 4.46 <sup>a</sup>  | 4.35 <sup>a</sup>  | 0.46             | 0.021   |
| pH 45 min                  | 6.55               | 6.48               | 6.37               | 0.025            | 0.489   |
| pH 24 h                    | 5.84               | 5.79               | 5.66               | 0.019            | 0.478   |
| Water Holding Capacity (%) |                    |                    |                    |                  |         |
| Drip loss                  | 4.14 <sup>b</sup>  | 4.77 <sup>b</sup>  | 5.34 <sup>a</sup>  | 0.45             | 0.036   |
| Thawing loss               | 8.23               | 8.31               | 8.34               | 0.028            | 0.875   |
| Cooking loss               | 20.15 <sup>b</sup> | 19.38 <sup>c</sup> | 21.08 <sup>a</sup> | 0.78             | 0.042   |

N x B = Thai native x Brahman; N x C = Thai native x Charolais and N x A = Thai native x Black Angus

<sup>a,b</sup> Means within the same row with different superscripts differ significantly ( $P<0.05$ )

<sup>1</sup> Standard error of the means

**Table 4. Sensory perception and shear value obtained from three crossbred types**

| Criteria                        | Breed              |                    |                    | SEM <sup>1</sup> | P-Value |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------|
|                                 | N x B              | N x C              | N x A              |                  |         |
| Sensory Evaluation <sup>2</sup> |                    |                    |                    |                  |         |
| Tenderness                      | 5.24 <sup>b</sup>  | 6.54 <sup>a</sup>  | 6.88 <sup>a</sup>  | 0.054            | 0.0018  |
| Juiciness                       | 5.89 <sup>b</sup>  | 6.58 <sup>ab</sup> | 6.99 <sup>a</sup>  | 0.056            | 0.003   |
| Flavourness                     | 5.69               | 5.89               | 5.65               | 0.062            | 0.897   |
| Overall acceptability           | 5.54 <sup>b</sup>  | 6.02 <sup>a</sup>  | 6.12 <sup>a</sup>  | 0.034            | < 0.001 |
| Shear force value (N)           | 89.48 <sup>a</sup> | 78.65 <sup>b</sup> | 72.58 <sup>c</sup> | 0.045            | < 0.001 |

N x B = Thai native x Brahman; N x C = Thai native x Charolais and N x A = Thai native x Black Angus

<sup>a,b</sup> Means within the same row with different superscripts differ significantly ( $P<0.05$ )

<sup>1</sup> Standard error of the means

<sup>2</sup> 1 = highly unfavorable, 5 = average, 9 = highly favorable

นัยสำคัญทางสถิติ และโคลูกผสมพื้นเมือง x บราห์มันมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (shear force value) มากที่สุด ( $P=0.001$ ) ตามด้วยโคลูกผสมพื้นเมือง x ชาร์โรเลส์ และโคลูกผสมพื้นเมือง x แบล็คแองกัส ( $P>0.05$ )ตามลำดับ ส่วนค่ากลิ่นของเนื้อ (flavourness) ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของทั้งสามกลุ่มการทดลอง

## วิจารณ์

ปัจจัยอันเนื่องมาจากตัวสัตว์นั้นส่งผลต่อคุณภาพซากและเนื้อโคโดย Cross *et al.* (1984) พบว่าอิทธิพลของเพศ พันธุ์ และอายุ มีผลต่อคุณภาพซากและความน่ารับประทานของเนื้อโคพันธุ์ชาร์โรเลส์ ซิมเมนทอล แองกัส นอกจากนี้ยังมีการวิจัยอีกมากมายที่สนับสนุนแนวความคิดนี้ เช่นในการทดลองในประเทศอังกฤษ (Kempster *et al.*, 1982, 1988) ประเทศนิวซีแลนด์ (Morris *et al.*, 1990) และประเทศสหรัฐอเมริกา (Wheeler *et al.*, 1996, 2005) จากผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์ที่ต่างกันมีผลต่อระยะเวลาการขุน น้ำหนักเริ่มต้น ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน คุณภาพซากและส่วนประกอบของซาก ความหนาของชั้นไขมันสันหลัง เปอร์เซ็นต์ไขมัน และพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน สำหรับผลการศึกษาพันธุ์กรรมมีผลต่อสมรรถภาพการขุน และคุณภาพซากพบว่าน้ำหนักมีชีวิตของโคลูกผสมพื้นเมืองไทย x ชาร์โรเลส์ และโคลูกผสมพื้นเมืองไทย x แบล็คแองกัส พบว่า ลูกผสมพื้นเมืองไทย x ชาร์โรเลส์ มีน้ำหนักมีชีวิตที่มากกว่าเนื่องจากระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงนานกว่า เพราะต้องรอให้ถึงน้ำหนักที่เมื่อขายซากไปจะได้ราคาและคุณภาพซากและเนื้อที่ดี ทั้งที่อัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันของโคลูกผสมพื้นเมืองไทย x แบล็คแองกัสมีค่ามากกว่าลูกผสมพื้นเมืองไทย x ชาร์โรเลส์ แตกต่างกับการทดลองของ Barton *et al.* (2006) ที่พบว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวันของโคพันธุ์แองกัสมีค่าน้อยกว่าโคพันธุ์ชาร์โรเลส์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งยังพบว่า น้ำหนักมีชีวิตของโคพันธุ์ชาร์โรเลส์มีค่ามากกว่า โคพันธุ์แองกัสอีกด้วย สำหรับผลการทดลองด้านคุณภาพซากพบว่าโคพื้นเมืองลูกผสม *Bos taurus* (โคลูกผสมพื้นเมืองไทย x ชาร์โรเลส์ และ โค

ลูกผสมพื้นเมืองไทย x แบล็คแองกัส) ให้คุณภาพซากที่ดีกว่าโคพื้นเมืองลูกผสม *Bos indicus* (โคลูกผสมพื้นเมืองไทย x บราห์มัน) งานวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับ Waritthitham *et al.* (2010a, 2010b) ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพซากและเนื้อโคลูกผสมพื้นเมืองไทย x บราห์มัน กับ โคลูกผสมพื้นเมืองไทย x ชาร์โรเลส์ โดยพบว่าโคลูกผสมพื้นเมืองไทย x ชาร์โรเลส์ ให้คุณภาพซากที่ดีกว่าทั้งในด้านเปอร์เซ็นต์ซากและน้ำหนักซากที่มากกว่า จะเห็นได้ว่าความแตกต่างของสายพันธุ์มีผลโดยตรงต่อคุณภาพซากอย่างชัดเจน เช่นเดียวกับรายงานของ Papaleo Mazzucco *et al.* (2016) พบว่าโคลูกผสมลิมุซีน (50% ลิมุซีน + 25% แองกัส + 25% เฮียฟอร์ด) มีน้ำหนักมีชีวิตสูง น้ำหนักซากที่สุดเมื่อเทียบกับโคลูกผสมแองกัส กับ เฮียฟอร์ด ที่ระดับสายเลือดของ แองกัส เท่ากับ 25, 50, 75 และ 100% เฮียฟอร์ด และ 100% แองกัส ตามลำดับ จากรายงานของ Costa *et al.* (2013) พบว่าโค Alentejana มีค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) สูงกว่า ( $P<0.001$ ) ส่งผลให้น้ำหนักซากอุ่นที่สูงกว่าโค Barrosã อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P<0.001$ ) นอกจากนี้ความเครียดที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการฆ่ามีระดับที่แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อระดับเปอร์เซ็นต์ซาก (O'Neill *et al.*, 2006) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานอื่น ๆ ที่บ่งชี้ให้เห็นว่าพันธุ์กรรมของสัตว์มีผลต่อน้ำหนักทั้งขณะที่มีชีวิตและซาก ทั้งนี้การรายงานเกี่ยวกับน้ำหนักซากอุ่น พบว่าโคชาร์โรเลส์ และ ลิมุซีน มีน้ำหนักซากเฉลี่ย 395 และ 405 กิโลกรัมซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับโคซิมเมนทอล และ แองกัส ที่น้ำหนักซากเท่ากับ 339 และ 275 กิโลกรัม ตามลำดับ (Chambaz *et al.*, 2003) เช่นเดียวกับการรายงานของ Vieira *et al.* (2007) พบว่าโคลิมุซีน และ Brown Swiss มีความแตกต่างของน้ำหนักซากอุ่นอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่มีความแตกต่างกับโค Asturiana de los Valles ( $P<0.05$ ) การทดลองนี้พบว่าพันธุ์กรรมมีผลต่อความหนาของชั้นไขมันสันหลัง พื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน เปอร์เซ็นต์ไขมัน โดยโคพื้นเมืองลูกผสม *Bos taurus* มีค่ามากกว่าโคพื้นเมืองลูกผสม *Bos indicus* เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการ

ใช้อาหารดีกว่า และจากการศึกษาของ Jaturasitha *et al.* (2009) รายงานว่าเมื่อน้ำหนักโคเพิ่มสูงขึ้นจะมีค่าพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันที่มากขึ้นด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Waritthitham *et al.* (2010a) พบว่าโคที่เข้าฆ่าที่น้ำหนักเฉลี่ย 600, 550 และ 500 กิโลกรัมมีความแตกต่างของพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 93.8, 84.6 และ 77.5 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ รวมถึงโคลูกผสมชาร์โรเลส์ × พื้นเมืองมีพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันเฉลี่ยเท่ากับ 94.0 ตารางเซนติเมตร ซึ่งมากกว่าโคลูกผสมบราห์มัน × พื้นเมืองที่มีค่าเท่ากับ 77.9 ตารางเซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P<0.01$ ) สอดคล้องกับการรายงานของ Elzo *et al.* (2012) พบว่าพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันของโคบราห์มัน โคลูกผสม ( $\frac{3}{4}$  แองกัส ×  $\frac{1}{4}$  บราห์มัน) และโคลูกผสม ( $\frac{1}{2}$  แองกัส ×  $\frac{1}{2}$  บราห์มัน) มีความแตกต่างจากโคพันธุ์แองกัส อย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.0047$  ถึง  $P<0.0001$ ) เช่นเดียวกับพื้นที่หน้าตัดของโคพันธุ์ แองกัส, โคลูกผสม ( $\frac{3}{4}$  แองกัส ×  $\frac{1}{4}$  บราห์มัน) โคพันธุ์แองกัส โคลูกผสม ( $\frac{1}{2}$  แองกัส ×  $\frac{1}{2}$  บราห์มัน) และ โคลูกผสม ( $\frac{1}{4}$  แองกัส ×  $\frac{3}{4}$  บราห์มัน) มีความแตกต่างจากโคพันธุ์บราห์มัน อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P<0.0057$  ถึง  $P<0.0001$ ) รวมถึงการรายงานของ Papaleo Mazzucco *et al.* (2016) พบว่าโคลูกผสม 50% ลิมุซัน (50% ลิมุซัน + 25% แองกัส + 25% เฮียฟอร์ด) มีพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ  $56.3 \pm 0.6$  ตารางเซนติเมตร และการรายงานของ Irshad *et al.* (2013) พบว่าค่าอัตราพันธุกรรม (heritability) ของไขมันหุ้มซากมีค่าตั้งแต่ 0.25-1 สอดคล้องกับการรายงานของ Highfill *et al.* (2012) ค่าเฉลี่ยของความหนาไขมันหุ้มซากของโค *Bos taurus* มีค่าเท่ากับ 1.20 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าโค *Bos indicus* ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.90 เซนติเมตร อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P<0.01$ ) รวมถึงการทดลองของ Bartoň *et al.* (2007) พบว่าโคสาวพันธุ์ ลิมุซัน มีระดับของความหนาไขมันหุ้มซากที่สูงกว่าโคสาวพันธุ์ชาร์โรเลส์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P<0.005$ )

ผลด้านคุณภาพเนื้อแสดงดังตารางที่ 3 พบว่าความแตกต่างทางพันธุกรรมมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อ โดยพบว่าค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อแปรปรวนตามปริมาณไขมัน

จากการทดลองนี้พบว่าปริมาณไขมันโคลูกผสมพื้นเมืองไทย × ชาร์โรเลส์ และโคลูกผสมพื้นเมืองไทย × แบล็คแองกัส มีปริมาณไขมันในเนื้อมากกว่าซึ่งสอดคล้องกับไขมันในซากที่มากกว่าด้วยเช่นกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Waritthitham *et al.* (2010b) ปริมาณไขมัน และความชื้นของลูกผสม ชาร์โรเลส์ × พื้นเมืองมีปริมาณสูงกว่า และต่ำกว่าลูกผสมบราห์มัน × พื้นเมืองตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง Prado *et al.* (2008) รายงานว่าลูกผสมโคแบล็คแองกัส ที่มีความแตกต่างของแม่พันธุ์ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของปริมาณความชื้นและโปรตีน แต่มีปริมาณองค์ประกอบไขมันมีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้มีการรายงานของ Bartoň *et al.* (2007) พบว่าเนื้อโคพันธุ์ ลิมุซัน มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าโคพันธุ์ชาร์โรเลส์ อย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับการรายงานของ Brugiapaglia *et al.* (2014) พบว่าโคพันธุ์ Friesian มีปริมาณความชื้นและโปรตีนต่ำกว่าโคพันธุ์ Piemontese ( $P<0.05$ ) ทั้งนี้พบว่าโคพันธุ์ Friesian ปริมาณไขมันสูงกว่าโคพันธุ์ ลิมุซัน และโคพันธุ์ Piemontese ( $P<0.05$ ) สอดคล้องกับการศึกษาของ Dunne *et al.* (2004) รายงานว่าความแตกต่างของแหล่งพันธุกรรม มีผลทำให้ไขมันในเนื้อและโปรตีน มีความแตกต่างกัน ( $P\leq 0.001$ ) ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสามารถตัดสินได้จาก ค่าการสูญเสียน้ำขณะเก็บรักษา (drip loss) การสูญเสียน้ำเนื่องจากการปรุงอาหาร (cooking loss) ค่าการสูญเสียน้ำจากการละลาย (thawing loss) และค่าการสูญเสียน้ำจากการต้ม (boiling loss) ซึ่งค่าความสามารถในการอุ้มน้ำมีความแตกต่างกันไปตามชนิดกล้ามเนื้อ ชนิดสัตว์ และความแตกต่างขององค์ประกอบและโครงสร้าง รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในเนื้อสัตว์ซึ่งมีผลทำให้โปรตีนเสียสภาพไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ มีสาเหตุมาจากค่า pH ลดต่ำลงจนเกือบถึงค่า isoelectric point สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ drip loss จะเกิดหลังสัตว์ตาย ส่วน cooking loss เป็นการสูญเสียน้ำจากการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากอุณหภูมิในขณะปรุงอาหาร และสิ่งแวดล้อมขณะทำอาหารเช่น น้ำ เกลือ เป็นต้น (Nollet and Toldra, 2009) ในการทดลองนี้พบว่าค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของโคลูกผสมพื้นเมือง × บราห์มัน อาจเนื่องมาจากมีความสามารถทนความเครียด

และความร้อนได้ดีกว่าโคลูกผสมยุโรปมีค่าการสูญเสียระหว่างเก็บรักษาน้อยกว่า แต่ค่าการสูญเสียไขมันขณะปรุงอาหารมากกว่าเนื่องจากปัจจัยจากไขมันในเนื้อน้อยเมื่อนำมาปรุงจึงมีการสูญเสียมากกว่าเนื่องจากสอดคล้องกับ Waritthitham *et al.* (2010a) พบว่าโคลูกผสมพื้นเมืองกับชาร์โรเลส์ มีความสามารถในการกักน้ำได้ดีกว่าโคลูกผสมพื้นเมืองกับบราห์มัน อาจเนื่องมาจากปริมาณไขมันที่สูงซึ่งสามารถกักน้ำไว้ในเนื้อได้ดีกว่า นอกจากนี้ระดับของคอลลาเจนในเนื้อยังมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการกักน้ำของเนื้อ สอดคล้องกับการรายงานของ Chávez *et al.* (2012) พบว่าค่า cooking loss ของโค *Bos taurus* มีค่าต่ำกว่าของโค *Bos indicus* อย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.001$ ) จากตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสของโคทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกันในด้านความนุ่ม ความชุ่มฉ่ำ การยอมรับโดยรวม และค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ โดยโคลูกผสมพื้นเมือง × บราห์มันมีค่าแรงตัดผ่านมากที่สุด หมายความว่ามีความเหนียวมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลจากการตรวจชิ้นได้คะแนนต่ำที่สุด และจากผลของไขมันแทรกในเนื้อีมีผลความความนุ่มของเนื้อโคลูกผสมพื้นเมือง × บราห์มันก็พบว่ามีค่าน้อยที่สุดด้วย จากรายงานของ Highfill *et al.* (2012) พบว่าความเหนียวนุ่มด้วยการเปรียบเทียบค่าแรงตัดผ่าน (Warner-Bratzler shear force) ของเนื้อระหว่างโคลูกผสม *Bos taurus* × *Bos taurus* และ *Bos taurus* × *Bos indicus* พบว่าเนื้อโค *Bos taurus* × *Bos taurus* มีค่าแรงตัดผ่านต่ำกว่า *Bos taurus* × *Bos indicus* ( $P<0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับผลของระดับไขมันแทรก (intramuscular fat) สอดคล้องกับการทดลองของ Elzo *et al.* (2012) ได้ทำการทดสอบความแตกต่างของระดับสายพันธุ์โค พบว่าเนื้อโคที่ได้จากโคบราห์มันมีความนุ่มน้อยกว่าโคลูกผสมโคแบล็คแองกัส × บราห์มัน ที่มีระดับเลือดโคแบล็คแองกัสที่สูงขึ้น ( $P<0.001$ ) นอกจากนี้พันธุกรรมยังส่งผลต่อความเหนียวนุ่มของเนื้อ โดยพบว่าโค *Bos indicus* จะมีเนื้อนุ่มน้อยกว่าโค *Bos taurus* (Ibrahim *et al.*, 2008) เนื่องจากเอนไซม์ calpastatin ในโค *Bos indicus* มีมากกว่าโคกลุ่ม *Bos taurus* โดยเอนไซม์ calpastatin จะไปยับยั้งเอนไซม์ calpain ที่มีคุณสมบัติทำให้เนื้อนุ่ม ดังนั้นเนื้อโค *Bos taurus* มีความนุ่มและคุณภาพของเนื้อ

ดีกว่าโคกลุ่ม *Bos indicus* (จุฑารัตน์ และญาณิน, 2548) อย่างไรก็ตามการรายงานของ Gagaoua *et al.* (2016) พบว่าโคสายพันธุ์ แองกัส × Friesian, Belgian – Blue × Friesian, ฟอโค Holstein, ลิมุซ็อง, Blond d' Aquitaine, แองกัส, โคขุน Belgian – Blue × Holstein และ ชาร์โรเลส์ × Friesian มีระดับความพึงพอใจโดยรวมของเนื้อที่แตกต่างกัน ( $P<0.001$ )

## สรุป

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าโคลูกผสมพื้นเมือง × บราห์มัน สมรรถภาพการขุน คุณภาพซากและเนื้อมีค่าต่ำกว่าโคลูกผสมสายพันธุ์อื่น สำหรับโคลูกผสมสายเลือดยุโรปไม่มีความแตกต่างในส่วนของการประกอบทางเคมี และด้านการตรวจชิ้น นอกจากนี้พบว่าโคลูกผสมพื้นเมือง × ชาร์โรเลส์จะมีประสิทธิภาพด้านคุณภาพซากมากที่สุด แต่โคลูกผสมพื้นเมือง × แบล็คแองกัสจะมีสมรรถภาพด้านการเจริญเติบโตและมีความนุ่มของเนื้อสูงที่สุดจึงเป็นทางเลือกให้เกษตรกรเลี้ยงโคลูกผสมพื้นเมือง × แบล็คแองกัส เนื่องจากการเจริญเติบโต และให้เนื้อคุณภาพ โดยเฉพาะความนุ่มของเนื้อที่มากกว่าโคลูกผสมสายพันธุ์อื่น

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ภายใต้สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา

## เอกสารอ้างอิง

- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ. 2548. คุณภาพของเนื้อโคภายใต้ระบบการผลิตและการตลาดของประเทศไทย. บริษัทสุทิเรีย ฟรินติ้งเฮาส์ จำกัด, กรุงเทพฯ. 84 หน้า.
- ดวงกมล กุศลเกียรติ และ สุทธิพงศ์ อริยะพงศ์สวรรค์. 2559. ผลของการใช้กามะเขือเทศแห้งในอาหารขึ้นต่อการย่อยได้ของโภชนะและสมรรถนะการ

- เจริญเติบโตของโคพื้นเมืองไทย. วารสารเกษตร 32(2): 261-271.
- นิราภรณ์ ชัยวัง ทศนีย์ อภิชาติสร่างกูร นววรรณ ชมชัยเดช ปรากูวรรณ์ คัมภีร์ ภักดีไทย วิวัฒน์ไชยชอุ่ม มิชาเอล วิคเค และ สัญชัย จตุรสิทธิ์ธา. 2554. คุณภาพซากและเนื้อของโคขาวลำพูนและโคลูกผสมบราห์มันที่เลี้ยงด้วยหญ้าแพงโกล่า. วารสารเกษตร 27(1): 69-76.
- ไพโรจน์ วิริยจารี. 2535. การวางแผนการวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 275 หน้า.
- สัจชัย จตุรสิทธิ์ธา. 2550. การจัดการเนื้อสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 4. โรงพิมพ์มิ่งเมือง, เชียงใหม่. 171 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2560. (ระบบออนไลน์) . แหล่งข้อมูล : [http://www.oae.go.th/download/document\\_tendency/agri\\_situation2560.pdf](http://www.oae.go.th/download/document_tendency/agri_situation2560.pdf) (25 กรกฎาคม 2560).
- สุกัญญา ยอดสร้อย นิราภรณ์ ชัยวัง เสาวลักษณ์ แยมหมื่นอาจ กรวรรณ ศรีงาม ทรงเกียรติสุวรรณศิริกุล และ สัจชัย จตุรสิทธิ์ธา. 2556. คุณภาพเนื้อของโคดอย และโคขาวลำพูนเปรียบเทียบกับโคลูกผสมบราห์มัน. แก่นเกษตร 41(1): 45-50.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Bartoň, L., M. Marounek, V. Kudrna, D. Bureš and R. Zahrádková. 2007. Growth performance and fatty acid profiles of intramuscular and subcutaneous fat from Limousin and Charolais heifers fed extruded linseed, Meat Science 76: 517-523.
- Brugiapaglia, A., C. Lussiana and G. Destefanis. 2014. Fatty acid profile and cholesterol content of beef at retail of Piemontese, Limousin and Friesian breeds. Meat Science 96: 568-573.
- Chambaz, A., M.R.L. Scheeder, M. Kreuzer and P.A. Dufey. 2003. Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. Meat Science 63: 491-500.
- Chávez, A., E. Pérez, M.S. Rubio, R.D. Méndez, E.J. Delgado and D. Díaz. 2012. Chemical composition and cooking properties of beef forequarter muscles of Mexican cattle from different genotypes. Meat Science 91: 160-164.
- Cross, H.R., J.D. Crouse and M.D. MacNeil. 1984. Influence of breed, sex, age and electrical stimulation on carcass and palatability traits of three bovine muscles. Journal of Animal Science 58: 1358-1365.
- Dunne, P.G., M.G. Keane, F.P.O' Mara, F.J. Monahan and A.P. Moloney. 2004. Colour of subcutaneous adipose tissue and M. longissimus dorsi of high index dairy and beef X dairy cattle slaughtered at two live weights as bulls and steers. Meat Science 68: 97-106.
- Elzo, M.A., D.D. Johnson, J.G. Wasdin and J.D. Driver. 2012. Carcass and meat palatability breed differences and heterosis effects in an Angus-Brahman multibreed population. Meat Science 90: 87-92.
- Gagaoua, M., E.M.C. Terlouw, D. Micol, J-F. Hocquette, A.P. Moloney, K. Nuernberg, D. Bauchart, A. Boudjellal, N.D. Scollan, R.I. Richardson and B. Picard. 2016. Sensory quality of meat from eight different types of cattle in relation with



- their biochemical characteristics. *Journal of Integrative Agriculture* 15(7): 1550-1563.
- Highfill, C.M., O. Esquivel-Font, M.E. Dikeman and D.H. Kropf. 2012. Tenderness profiles of ten muscles from F1 Bos indicus x Bos taurus and Bos taurus cattle cooked as steaks and roasts. *Meat Science* 90: 881-889.
- Ibrahim, R.M., D.E. Goll, J.A. Marchello, G.C. Duff, V.F. Thompson, S.W. Mares and H.A. Ahmad. 2008. Effect of two dietary concentrate levels on tenderness, calpain and calpastatin activities, and carcass merit in Waguli and Brahman steers. *Journal of Animal Science* 86: 1426-1433.
- Irshad, A., G. Kandeepan, S. Kumar, A. Ashish Kumar, M.R. Vishnuraj and V. Shukla. 2012. Factors Influencing Carcass Composition of Livestock: a Review. *Journal of Animal Production Advance* 3(5): 177-186.
- Jaturasitha, S., R. Norkeaw, T. Vearasilp, M. Wicke and M. Kreuzer. 2009. Carcass and meat quality of Thai native cattle fattened on Guinea grass (*Panicum maxima*) or Guinea grass legume (*Stylosanthes guianensis*) pastures. *Meat Science* 81(1): 155-162.
- Miguel, G.Z., H.F. Marcelo, O.R. Roberto, T.S. Carolina, P.S. Surendranath, B.G.F. Ana, L.C.D. Nara, V.C.G. Lucio, M.H. Juliana, K.B. Erika, S.S. Leticia, D.R. Flavio, R.S. Gustavo, D.M. Aline and V.S. Taciana. 2014. Immunocastration improves carcass traits and beef color attributes in Nellore and Nellore x Aberdeen Angus crossbred animals finished in feedlot. *Meat Science* 96: 884-891.
- Nollet, L.M.L. and F. Toldra. 2009. *Handbook of Muscle Foods Analysis*. CRC Press. 984 p.
- O'Neill, R.G., J.A. Woolliams, E.J. Glass, J.L. Williams and J.L. Fitzpatrick. 2006. Quantitative evaluation of genetic and environmental parameters determining antibody response induced by vaccination against bovine respiratory syncytial virus. *Vaccine* 24: 4007-4016.
- Opatpatanakit, Y., T. Supakitjanon, A. Faengfu and J. Sethakul. 2008. Smallholder beef production and carcass quality of native Thai cattle in south central Thailand. In *Asian- Australasian association of animal production societies. Proceedings of the 13<sup>th</sup> Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies*. Animal Husbandry Association of Vietnam, Hanoi.
- Papaleo Mazzucco, J., D.E. Goszczynski, M.V. Ripoli, L.M. Melucci, A.M. Pardo, E. Colatto, A. Rogberg-Muñoz, C.A. Mezzadra, G.J. Depetris, G. Giovambattista and E.L. Villarreal. 2016. Growth, carcass and meat quality traits in beef from Angus, Hereford and cross-breed grazing steers, and their association with SNPs in genes related to fat deposition metabolism. *Meat Science* 114: 121-129.
- Prado, I.N., J.A. Aricetti, P.P. Rotta, R.M. do Prado, D. Perotto, J.V. Visentainer and M. Matsushita. 2008. Carcass characteristics, chemical composition and fatty acid profile of the *Longissimus*

- muscle of bulls (*Bos taurus indicus* vs. *Bos taurus taurus*) finished in pasture systems. Asian-Australasian Journal of Animal Science 21: 1449-1457.
- SAS. 1996. SAS User's Guide. SAS institute Inc., Cary, NC.
- Vieira, C., A. Cerdeño, E. Serrano, P. Lavín and A.R. Mantecón. 2007. Breed and ageing extent on carcass and meat quality of beef from adult steers (oxen). Livestock Science 107: 62-69.
- Waritthitham A., C. Lambertz, H.J. Langholz, M. Wicke and M. Gauly. 2010a. Assessment of beef production from Brahman × Thai native and Charolais × Thai native crossbred bulls slaughtered at different weights. I: Growth performance and carcass quality. Meat Science 85: 191-195.
- Waritthitham A., C. Lambertz, H.J. Langholz, M. Wicke and M. Gauly. 2010b. Assessment of beef production from Brahman × Thai native and Charolais × Thai native crossbred bulls slaughtered at different weights. II: Meat quality. Meat Science 85: 196-200.
-

# Perilla Mint (*Perilla frutescens*): An Alternative Animal Feed to Enhance Omega-3 Fatty Acids in Meat and Eggs as Functional Food

งาชี้ม่อน: ทางเลือกอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มปริมาณกรดไขมันโอเมก้าสามในเนื้อสัตว์และไข่สำหรับเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ

Napatsorn Montha<sup>1</sup>, Winai Yothinsirikul<sup>2</sup>, Kittiphong Tippaya<sup>2</sup>, Kanchit Chompupan<sup>2</sup>,  
Christian Lambertz<sup>3</sup> and Sanchai Jaturasitha<sup>1\*</sup>  
นักัสสร มณฑา<sup>1</sup> วินัย โยธินศิริกุล<sup>2</sup> กิตติพงษ์ ทิพย์ะ<sup>2</sup> ครรชิต ชมพูนันท์<sup>2</sup>  
Christian Lambertz<sup>3</sup> และ สัญชัย จตุรสิทธา<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>1</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup>Faculty of Animal Science and Technology, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

<sup>2</sup>ภาควิชาสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

<sup>3</sup>Faculty of Science and Technology, Free University of Bozen-Bolzano, Bolzano, Italy

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

(Received: 6 March 2017; Accepted: 21 July 2017)

**บทคัดย่อ:** สุขภาพมนุษย์กลายเป็นเรื่องที่นำวิตกกังวลจากตัวเลขของจำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรคหลอดเลือดหัวใจทั่วโลกที่กำลังเพิ่มสูงขึ้น การบริโภคอาหารในลักษณะของอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง omega-3 ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาสุขภาพโดยการบริโภคสารอาหารที่ดีต่อสุขภาพ จากการรายงานข้อดีของกรดไขมันโอเมก้า (omega) 3, 6 และ 9 ในด้านการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้เป็นอย่างดี omega-3 เป็นกรดไขมันที่ทราบกันดีว่ามักพบในปลาทะเล แต่เมื่อไม่นานมานี้มีนักวิจัยรายงานว่าพบว้างาชี้ม่อน (*Perilla frutescens*) เป็นแหล่งกรดไขมัน omega-3 ที่มีศักยภาพสูงเช่นกัน โดยเฉพาะเมล็ดงาชี้ม่อนมีการรายงานว่าพบองค์ประกอบของ omega-3 สูงและเมื่อใช้เมล็ดงาชี้ม่อนและกากงาชี้ม่อน ร่วมในอาหารสัตว์ เช่น สุนัข และไก่ พบว่าสามารถเพิ่ม omega-3 ในเนื้อสุกร ไก่เนื้อ และไข่ได้ และข้อดีของงาชี้ม่อนยังสามารถลดต้นทุนการผลิตสัตว์ ได้เนื้อที่มีคุณค่าสูงกว่าแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ทดแทนแหล่งโปรตีนอื่นเช่น กากถั่วเหลือง นอกจากนี้เมล็ดงาชี้ม่อนยังมีสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซินต่ำกว่ากากถั่วเหลืองอีกด้วย ซึ่งถือว่าเป็นข้อดีในการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์

**คำสำคัญ:** งาชี้ม่อน ลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ

**Abstract:** Human health is an increasing concern reflected, for example, by a rising number of patients with diseases like coronary artery disease (CAD) worldwide. The consumption of functional food, which is rich in omega-3 fatty acid is one possibility to improve health through a better nutrition. In the literature, benefits of omega-3, -6 and -9 fatty acids in terms of reducing the risk for CAD are well described. Omega-3 is known to be rich especially in marine fish. Recently, researchers reported the plant perilla mint (*Perilla frutescens*) as another potential source of this fatty acid. Particularly, the seeds of this plant have been reported with high omega-3 contents. When used as feed in swine and chicken, perilla seed and meal were found to increase omega-3 fatty acid contents in meat and other animal products such as eggs. An advantage of perilla mint is that production costs are much lower than for other crops such as soybean. Furthermore, perilla seeds have low levels of trypsin inhibitors, which make it suitable for use as animal feed.

**Keywords:** Perilla mint, carcass characteristic, meat quality

## Introduction

In 2013 and 2014 consumption rate of eggs in Thailand was 167.8 and 177.3 eggs per person per year, respectively. During 5 years (2010-2014) consumption rate of egg in Thailand increased by 4.77% annually (Office of Agricultural Economics, 2014), mainly due to the fact that eggs are available at lower costs than other protein sources. Hence, improving nutrition through the consumption of eggs is an important issue for good health. Meat and poultry meat are 5 to 15 folds lower in omega-3 contents than seafood. Pork consumption of Thai people is further and further increasing and in 2013 Thai people consumed 14.0 kg per person per year, which increased to 14.88 kg in 2014. Poultry meat consumption in Thailand 2013 was 15.5 kg per person per year, increased by 7.73% in 2014 to 16.7 kg (Office of Agricultural Economics, 2015). This emphasizes the importance of egg and meat consumption as important source of protein for humans. However, it can cause negative effects in humans because of several compounds such as saturated fatty acids, cholesterol, toxic contaminations, nitrate-nitrite preservatives and

antibiotic. For example, saturated fatty acids and cholesterol contained in eggs and meat are causative for several diseases in human health.

Nowadays, the quality of animal products, especially from a human health perspective, is of increasing importance. One reason is the steady increase of coronary artery disease (CAD), the most important cause of cardiovascular mortality worldwide, with over 4.5 million deaths occurring in the developing countries alone and 29% of Patients in Thailand were cardiovascular disease which is the highest than other disease (WHO, 2014). One of the most important risk factors for CAD is the nutrition. The fatty acid composition, especially those of the saturated fatty acids, represents a major risk factor. Consuming food rich in saturated fatty acids (i.e., meat, butter, and cheese) increases the amount of low density lipoprotein (LDL) in the blood but also increases high density lipoprotein (HDL the "good" cholesterol) and decreases triglycerides (Mozaffarian *et al.*, 2010). The main functional difference between HDL and LDL is where they transport cholesterol to. LDL takes cholesterol from liver to the cells while HDL carries cholesterol excess from the blood stream into the liver for removing. The main structural

difference is that LDL particle is 50% cholesterol and 25% protein while an HDL particle is 20% cholesterol and 50% protein (Harvey and Ferrier, 2011). This in turn carries cholesterol to tissues, including the heart arteries, and is thus causative for atherosclerosis (LDL forms plaque in vessels and blocks the blood system) causing CAD (Sudheendran *et al.*, 2010). The main sources of saturated fatty acids in the food are animal products, such as milk, meat, and eggs. Also, several plant products such as chocolate and cocoa butter, coconut, and palm kernel oil are rich in saturated fatty acids. Consuming too much saturated fatty acid lead to CAD, heart stroke, heart disease, blood pressure, type 2 diabetes and many other diseases (de Souza *et al.*, 2015). Numerous previous studies reported positive effects of unsaturated fatty acids, namely  $\alpha$ -linolenic acid (omega-3) and linoleic acid (omega-6) (Lecarf, 2009), on human health by decreasing the risk for CAD and other diseases. Therefore, consumers worldwide are increasingly demanding food products that are rich in omega-3 fatty acids. Increased levels of omega-3 in eggs were realised by supplementation or adding several sources of omega-3 such as flaxseed, fish oil and microalgae (Fraeye *et al.*, 2012) in laying-hen diets. Thus, enhancing omega-3 levels in eggs and meat though the use of agricultural by-products such as perilla meal, which is rich in omega-3, may be one of the possibilities to produce healthy food for the consumer. It is well known people in Thailand consume rice are main course, that is different from westerner, their main course is meat. Therefore, meat enhance with omega-3 is an alternative for meat lover in Thailand and other countries which are like to meat.

Perilla mint is known by many names, including Chinese basil, purple mint, rattlesnake weed and beefsteak plant (Glenn *et al.*, 2010). The

plant can be found on pastures in Southern India, South Korea, northern Thailand, China, Japan, Vietnam and Taiwan (Hyun *et al.*, 2014). Perilla mint was found in the northern part of Thailand such as Chiang Mai, Chiang Rai, Phayao and Mae Hong Son, cultivated area are 1,360 acre can produce perilla seed 272,000 kg (Chairaungyost, 2012). As a traditional oilseed, it is belonging to the Family lamiaceae. It is widely used in households (CSIR, 1966) for sprinkle on top of soups, salads, sushi and pickles or garnishes (Li *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009; Ha *et al.*, 2012). The plant is an annual mint and blooms once a year in cool season, thus only one annual harvest is possible (Ampanchai *et al.*, 2008). The different parts of the plant are used for different purposes: leaves are known for their antioxidant and phenolic compounds, while seeds are rich in protein and fat. The tribal population in northeast India have been consuming perilla seed as well as oil without any negative effects being reported (Longvah *et al.*, 2000).

In the following, this article reviews the present knowledge on perilla mint when used as animal feed in order to improve the quality of meat and other animal products in terms of increasing the omega-3 fatty acid content.

#### Chemical composition of *Perilla frutescens*

As generally in plants, the different parts of perilla mint differ largely in their chemical composition. The protein and fat content of its seeds was 18.1 and 40.1%, respectively (Joshi *et al.*, 2015). Longvah and Deosthale (1991) reported similar values (protein 17%, fat 51%). Most vegetable oils are good sources of linoleic acid, but only few vegetable oils contain significant amounts of  $\alpha$ -linolenic acids. Among them, perilla oil which have the highest contents of  $\alpha$ -linolenic acid (omega-3),

amounting nearly 57% (Longvah and Deosthale, 1991), linoleic acid (omega-6) 14% and oleic acid (omega-9) ranging from 14-23% (Asif, 2011). Contents are even higher than in fish oil (Kim and Choi, 2005 ). In addition, the content of saturated fatty acids, namely palmitic acid (5-7%) and stearic acid (0-1%) is lower than in other sources of oil (Table 1). When taking the FAO/WHO/UNU (1985) pattern of essential amino acid requirement for infants as the reference (Table 2), the protein scores of egg and cow milk are 100, while perilla whole seed and perilla without hull are 63 and 66, respectively. The amino acid lysine was the limiting amino acid in both cases. The amino acid score of perilla whole seeds and kernel were comparable to sunflower (61) and peanut (69), both of which also have lysine as the limiting amino acid (Bodwell and Hopkins, 1985). Consequently, perilla seeds can be considered as a better source of essential amino

acids than soybean seed or sunflower meal (Table 2).

Perilla meal is a by-product of perilla seed after defatting. Protein contents are about 40.1% with 39% of the total content being essential amino acids. These levels are somewhat lower than in most animal products (beef 52, egg 55 and cow milk 54%) (Longvah and Deosthale, 1998). Perilla meal has compared to other plants such as soybean meal, sunflower meal, canola meal, cotton seed meal and sesame meal similar protein levels. It is therefore a good protein source for animal diets and good for eliminating agricultural by-products (Kusanteay and Uriyapongson, 2016).

#### Benefits of omega-3 fatty acids on human health

Mono- and polyunsaturated fatty acids are also known as omega fatty acids. Omega-3 fatty acids are polyunsaturated fatty acids where the first

**Table 1. Fatty acid composition from different sources of oil (% of fatty acid)**

| Fatty acid                         | Beef tallow              | Corn oil            | Perilla seed    | Perilla oil              | Fish oil            | Sunflower oil             | Soybean oil             | Palm oil                |
|------------------------------------|--------------------------|---------------------|-----------------|--------------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>Saturated fatty acid</b>        |                          |                     |                 |                          |                     |                           |                         |                         |
| Myristic (C14:0)                   | 3.96                     | -                   | -               | -                        | -                   | -                         | -                       | 0.88                    |
| Palmitic (C16:0)                   | 28.36                    | 11.85               | 5-7             | 6.80                     | 25.66               | 5.73                      | 12.0                    | 46.16                   |
| Stearic (18:0)                     | 20.87                    | -                   | 0-1             | 2.07                     | 6.65                | 3.47                      | 5.0                     | 5.07                    |
| Arachidic (20:0)                   | -                        | 0.54                | -               | -                        | -                   | 0.54                      | 1.0                     | 0.41                    |
| <b>Unsaturated fatty acid</b>      |                          |                     |                 |                          |                     |                           |                         |                         |
| Palmitoleic (16:1)                 | 2.79                     | -                   | -               | -                        | 5.50                | 0.02                      | -                       | 0.13                    |
| Oleic (18:1)                       | 44.02                    | 28.94               | NA              | 15.23                    | 13.82               | 26.45                     | 19-34                   | 37.18                   |
| Linoleic (18:2)(n-6)               | -                        | 57.29               | 14              | 2.07                     | 1.62                | 62.33                     | 48-60                   | 9.08                    |
| $\alpha$ -linolenic (18:3) (n-3)   | -                        | 0.93                | 57              | 61.30                    | 1.08                | -                         | 2-10                    | 0.36                    |
| Eicosapentaenoic acid (20:5) (n-3) | -                        | -                   | NA              | -                        | 32.72               | -                         | -                       | -                       |
| Docosahexaenoic acid (22:6)(n-3)   | -                        | -                   | NA              | -                        | 6.47                | -                         | -                       | -                       |
| Source                             | Kim <i>et al.</i> (2005) | Kim and Choi (2005) | Peiretti (2011) | Kim <i>et al.</i> (2005) | Kim and Choi (2005) | Rosa <i>et al.</i> (2009) | Su <i>et al.</i> (2015) | Su <i>et al.</i> (2015) |

**Table 2. Essential amino acids from different sources (mg/g protein)**

| Essential<br>amino acid | EAA<br>recommendati<br>on for human<br>(FAO/WHO/UN<br>U, 1985) | Perilla seed                    | Soybean<br>seed       | Sunflower<br>meal            | Peanut meal                       | Egg                                   | Cow milk                              |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Histidine               | 22                                                             | 31                              | 12                    | 8.8                          | 6                                 | 22                                    | 27                                    |
| Isoleucine              | 18                                                             | 41                              | 21.6                  | 15.2                         | 8.3                               | 54                                    | 47                                    |
| Leucine                 | 25                                                             | 62                              | 36.2                  | 21.9                         | 15.3                              | 86                                    | 95                                    |
| Lysine                  | 22                                                             | 37                              | 29.6                  | 14.6                         | 8.5                               | 70                                    | 78                                    |
| Methionine+             | 29                                                             | 26                              | 13.2                  | 15.9                         | 5.9                               | 57                                    | 33                                    |
| Cysteine                |                                                                |                                 |                       |                              |                                   |                                       |                                       |
| Phenylalanine+          | 34                                                             | 55                              | 40                    | 25.2                         | 21.9                              | 93                                    | 102                                   |
| Tyrosine                |                                                                |                                 |                       |                              |                                   |                                       |                                       |
| Threonine               | 30                                                             | 34                              | 19.3                  | 12                           | 8.1                               | 47                                    | 44                                    |
| Tryptophan              | 7                                                              | 11                              | 6.5                   | -                            | 2.3                               | 17                                    | 14                                    |
| Valine                  | 31                                                             | 35                              | 22.2                  | 17.5                         | 9.9                               | 66                                    | 64                                    |
| Source                  | FAO/WHO/UNU<br>(1985)                                          | Longvah and<br>Deosthale (1998) | ENV/JM/MONO<br>(2001) | Rosa <i>et al.</i><br>(2009) | Settaluri <i>et al.</i><br>(2012) | Longvah<br>and<br>Deosthale<br>(1998) | Longvah<br>and<br>Deosthale<br>(1998) |

double bond is located at the third carbon from the methyl end of the fatty acid chain. Marine animals are rich in the two long-chain omega-3 fatty acids docosahexaenoic acid (DHA; 22:6) and eicosapentaenoic acid (EPA; 20:5). Plants usually contain the omega-3 fatty acid,  $\alpha$ -linolenic acid (18:3) as omega-3. Several studies have reported that  $\alpha$ -linolenic acids and its derivatives are beneficial for the human health and fulfill essential physiological functions (Tinoco, 1982; Zollner, 1986; Crawford, 1987; Budowski, 1988; Neuringer *et al.*, 1988). The consumption is, for example, known to lower blood lipid concentration, reduce the risk for thrombosis, prevent Alzheimer's disease, decrease the risk for vascular disease and sudden death from ventricular fibrillation and tachycardia (Azin and

Behnood, 2014). Omega-3 fatty acids fulfill neuroprotective actions in Parkinson's disease and exhibit protective effects in Alzheimer's disease, too (Asif, 2011). Omega-3 fatty acids prevent the neurotoxin-induced decrease of dopamine that normally occurs. Therefore, the dopamine system that was disrupted will cause Parkinson's disease (Talbot and Hughes, 2006).  $\alpha$ -linolenic acid is the precursor of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) families, linoleic acid (C18:2n-6) and  $\alpha$ -linolenic acid (C18:3n-3) are finally transformed to EPA and DHA in vivo (Weizhuo *et al.*, 2013). The ratio of linoleic acid and  $\alpha$ -linolenic acid in the diet is important for converting into long chain polyunsaturated fatty acids, including EPA and DHA (Diwakar *et al.*, 2008). As above-mentioned, these

affect the development of the human brain. Both EPA and DHA have several effects on inhibiting development of atherosclerosis, decrease triglyceride level and raise levels of HDL (high density lipoprotein "good cholesterol") in blood plasma, but do not lower plasma cholesterol levels (Conner, 2001). Moreover, the impact of them may be primarily in preventing or relieving arrhythmia. Harris *et al.* (2009) reported cardiac mortality to be reduced by about 35% by modest EPA+DHA consumption. Although, omega-3 fatty acid, DHA and EPA have many advantages for the health but if consumed excessively (normally over 3 g per day), especially in patient that at the same time consume aspirin or warfarin, will increase bleeding or hemorrhagic stroke (only in cases of very large doses) and reduced glycemic control among diabetics (Lewis, 2008; Kromann and Green, 1980). According to the Food and Nutrition Board 2015 (Ornish, 2016) the acceptable intake for n-3 fatty acid is 1.6 g/day and 1.1 g/day for men and women, respectively (Asif, 2011).

#### Use of perilla mint as animal feed

Perilla mint was used as protein source but in their seed compound with a lot of oil. Fats and oils are a chemically diverse group of compounds. They have the highest average energy density among all macro nutrients. Therefore, fat is an important energy in diet and improve palatability and texture of diet in addition decrease dustiness and easy to make pellets. But they have limit level to use in animal diet such as not over 7% in swine diet because it causes flow ability problems preclude with swine (Shannon, 2016), in poultry not over 4% because it effect to decrease digestibility (Tancharoenrat, 2014). Perilla mint is not have only benefit but also have negative effect, some research reported about toxicity of

perilla mint especially, perilla's leaves is important problem in cattle poisoning that cause pulmonary edema (Brenner, 1993) because perilla ketone substance which found in leaves stem flower and root (Wilson *et al.*, 1977; Glenn *et al.*, 2010). Planta are most toxins when farmer cut and dried for hay late in summer, during flowering and seed production because flowering structure are the most dangerous but the ketone was not found in seed from perilla mint. Perilla ketone is not only harmful in ruminant but also toxic in small ruminant and mice (Glenn *et al.*, 2010).

Perilla mint was used as feed in animals for studying the mechanism of digestion or immunology. The common model species were rats or mice which are easy to manage and observe. Ihara *et al.* (1998) used the oil of safflower and perilla feed in male Wistar rats, 3-weeks old, and observed the lipid metabolism. Two diets either containing safflower oil (SO, high linoleic acid) or perilla oil (PO, high  $\alpha$ -linolenic acid) were compared. These diets were fed to rats for 3, 7, 20 and 50 days. The results showed that the level of cholesterol, triglycerides and total lipid in the PO-diet group were lower than in the SO-group feeding the diets for 7 days. This experiment demonstrated that  $\alpha$ -linolenic acid plays an important role in the regulation of serum cholesterol and the magnitude of regulation is more powerful when compared to linoleic acid.

Perilla mint has been used to feed animals because of its low costs and abundance throughout East Asia. Oita *et al.* (2008) studied the extraction and digestion of *Perilla frutescens*. In their experiment water-and NaCl-soluble protein fraction contained less trypsin inhibitors than that of soybeans.

As mentioned above, perilla seed and meal are suited as animal feed. Perilla seed was used in



polyunsaturated fatty acids (PUFA) enriched diets for growing rabbit aged of 73 days in order to increase the content of n-3 PUFA. Peiretti *et al.* (2010) fed perilla seed to rabbits at a proportion of 10% of the diet. Their results showed that neither digestibility of energy (DE) nor digestibility of protein (DP) and the ratio of DP/DE differed when compared with soybean meal. In during the growth stage of swine fattening, Thirty-one three-way crossbred Landrace×Large White×Duroc pigs, perilla meal was included into diets at 10, 15 and 20% (fresh matter). The 10%-group required the least amount of time to reach the target weight (110 kg) and showed the highest value for daily gain. In contrast, the control group without perilla showed the highest carcass percentages. The 15%-group showed medium back fat thickness. The 20%-group had a thinner back fat thickness of the shoulder than the other groups. Regarding the fatty acid composition of perineal fat, back fat, intermuscular fat and intramuscular fat positive correlations with increasing perilla meal proportions were found. The content of C18:3 increased, while the ratio of n-6/n-3 decreased. Furthermore, the ratio of C18:2/C18:0 and unsaturated fatty acid content also increased in a dose-dependent manner (Yamada *et al.*, 2007). Furthermore, Zang *et al.* (2003) added *Perilla frutescens* in laying hen diets at 8, 12, 16 and 20% (fresh matter), respectively. The results showed that the contents of PUFA increased to 20.42, 23.61, 24.07 and 24.62% in 8, 12, 16 and 20% supplemented groups, respectively, in contrast to 17.03% in the control group ( $P>0.05$ ). The content of omega-3 fatty acid in yolk increased to 6.88, 8.72, 9.86 and 9.95% in the correspondent groups, being significantly higher than in the control group (1.21%,  $P<0.01$ ). There was no significant difference in the total cholesterol (TCH). *Perilla frutescens* could be supplemented in the diet in order to increase the

content of PUFA and omega-3 fatty acid, improve the ratio of omega-6 to omega-3 and PUFA to SFA, and decrease TCH and the cost. Likewise, Saito *et al.* (2006) studied feeding perilla oil and seed meal in laying hens and observed  $\alpha$ -linolenic acid contents in yolk egg. The  $\alpha$ -linolenic acid contents of the egg yolks in perilla oil and perilla meal at the dietary levels of 0, 2.5, 5, 7.5 and 10% each were 0.20, 1.20, 1.64, 2.59 and 3.00 mg/100 mg egg yolk, and 0.17, 0.21, 0.28, 0.32 and 0.39 mg/100 mg egg yolk, respectively. It was suggested that perilla seeds may be the most suitable feed for the production of eggs with high  $\alpha$ -linolenic acid content from an economical point of view. Considering eggs are a rich source of dietary cholesterol and cardiovascular disease patient cannot eat egg over one egg per day (Nestel *et al.*, 2017). But if we improve fatty acid profile in egg by increase omega-3 it will be a good alternative for cardiovascular disease patient and general person because omega-3 can respect to primary and secondary prevention of coronary heart disease (Clayton *et al.*, 2015). So if they eat egg compound with omega-3 maybe reduce the risk cause cardiovascular disease in normal human and patient can eat egg by decrease concern.

Several researches indicated perilla seed and meal can improve fatty acid composition in meat and egg by increasing unsaturated fatty acid, especially omega-3 that has many benefits for human health. Using perilla mint in animal feed is still not pervasive to use in animal feed because the limitation of it such as fiber composition is quite high (problem with monogastric animal), cultivation in some area and harvest once time per year. It is interesting to use for increase value in meat and egg due to the property is high with protein and omega-3.

## Conclusion

Seeds of perilla mint, of which all parts of the plant can be used as animal feed, are rich in  $\alpha$ -linolenic acid. Through its use as feed, omega-3 fatty acid concentrations in meat and other animal products, i.e., eggs, can be increased, which in turn has positive effects on human health and is known to reduce the risk of different diseases such as coronary artery disease. Additionally, leaves are rich in various bioactive and phenolic compounds and seed meal can be used as protein source. Feeding perilla mint can minimize the contamination with methyl-mercury, which is caused by feeding fish meal. Overall, the use of perilla mint as animal feed has many advantages from a human health perspective and is economically efficient.

## References

- Ampanchai, S., S. Nuglor, P. Puddhanon, P. Supapornhem and V. Champa. 2008. Effect of storage conditions on seed quality and oil content of *Perilla frutescens* (L.) Britt. in the upper north of Thailand. *Agricultural Science Journal* 39(3): 421-424.
- Asif, M. 2011. Health effects of omega-3,6,9 fatty acids: *Perilla frutescens* is a good example of plant oils. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine Journal* 11(1): 51-59.
- Azin, M.N. and B. Behnood. 2014. Omega-3 Supplements and Cardiovascular Diseases. *National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease* 13(1): 6-14.
- Bodwell, C.E. and D.T. Hopkins. 1985. Nutritional characteristics of oilseed proteins. pp. 221-257. *In*: A.M. Altschul and H.L. Wilcke (eds.). *New Protein Foods*. Volume 5. Seed Storage Protein. Academic Press, New York.
- Brenner, D.M. 1993. Perilla: botany, uses, and genetic resources. pp. 322-328. *In*: J. Janick and J.E. Simon (eds.). *New Crops*. John Wiley and Sons, New York.
- Budowski, P. 1988.  $\omega$ -3 fatty acids in health and disease. *World Review of Nutrition and Dietetics* 57: 214-274.
- Clayton, Z.S., E. Fusco and M. Kern. 2017. Egg consumption and heart health: A review. *Nutrition* 37: 79-85.
- Connor, W.E. 2001. n-3 Fatty acids from fish and fish oil: panacea or nostrum?. *The American Journal of Clinical Nutrition* 74(4): 415-416.
- Council of Scientific Industrial Research (CSIR). 1966. *The Wealth of India: Raw Materials*. Publications and Information Directorate, Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.
- Crawford, M.A. 1987. The requirements of long chain n-6 and n-3 fatty acids for the brain. pp. 270-295. *In*: W.E.M. Land (ed.). *Proceedings of the AOCS short course on polyunsaturated fatty acids and eicosanoids*. American Oil Chemists Society, Champaign, Illinois.
- de Souza, R., A. Mente, A. Maroleanu, A. Cozma, V. Ha, T. Kishibe, E. Uleryk, P. Budylowski, H. Schünemann, J. Beyene and S.S. Anand. 2015. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *British Medical Journal* 351: h3978.

- Diwakar, B.T., P.K. Dutta, B.R. Lokesh and K.A. Naidu. 2008. Bio-availability and metabolism of n-3 fatty acid rich garden cress (*Lepidium sativum*) seed oil in albino rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 78(2): 123-30.
- ENV/JM/MONO. 2001. Consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean: key food and feed nutrients and anti-nutrients. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds 5(9): 1-60.
- FAO/WHO/UNU. 1985. Joint Expert Consultation. Energy and Protein Requirements. Technical Report Series 724. WHO, Geneva.
- Fraeye, I., C. Bruneel, C. Lemahieu, J. Buyse, K. Muylaert and I. Foubert. 2012. Dietary enrichment of eggs with omega-3 fatty acids: A review. *Food Research International Journal* 48: 961-969.
- Gester, H. 1998. Can adults adequately convert alpha-linolenic acid (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)? *International Journal of Vitamin and Nutrition Research* 68: 159-173.
- Glenn, N., J. Bill and S. Brad. 2010. Beefsteake Plant (*Perilla* mint). *Purdue Weed Science*. Ws-043-w.
- Ha, T.H., J.H. Lee, M.H. Lee, B.W. Lee, H.S. Kwon, C.H. Park, K.B. Shim, H.T. Kim, I.Y. Baek and D.S. Jang. 2012. Isolation and identification of phenolic compounds from the seeds of *Perilla frutescens* (L.) and their inhibitory activities against  $\alpha$ -glucosidase and aldose reductase. *Food Chemistry* 135: 1317-1403.
- Harris, W.S., D. Mozaffarian, M. Lefevre, C.D. Toner, J. Colombo, S.C. Cunnane, J.M. Holden, D.M. Klurfeld, M.C. Morris and J. Whelan. 2009. Towards establishing dietary reference intakes for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Journal of Nutrition* 139(4): 804S-819S (supplement).
- Harvey R.A. and D.R. Ferrier. 2011. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 531 p.
- Hyun, J., T.K. Beom, S.S. Geun and S.K. Young. 2014. Structural characterization of phenolic antioxidants from purple perilla (*Perilla frutescens* var. *acuta*) leaves. *Food Chemistry*. 148: 267-272.
- Ihara, M., H. Umekawa, T. Takahashi and Y. Furuichi. 1998. Comparative effects of short- and long-term feeding of safflower oil and perilla oil on lipid metabolism in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 121: 223-231.
- Joshi, A., A. Sharma, D.P. Pandey and R.K. Bachheti. 2015. Physico-chemical properties of *Perilla frutescens* seeds. *Der Pharma Chemica* 7(5): 35-41.
- Kromann, N. and A. Green. 1980. Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. Incidence of some chronic diseases 1950-1974. *Acta Medica Scandinavica* 208(5): 401-406.
- Kusanteay, D. and S. Uriyapongson. 2016. Effect of dried tomato pomace in concentrate diets on nutrient digestibility and growth performance of Thai native cattle. *Journal of Agriculture* 32(2): 261-271.
- Lecerf, M.J. 2009. Fatty acids and cardiovascular disease. *Nutrition Reviews* 67(5): 273-83.

- Lewis, C.J. 2008. Letter regarding dietary supplement health claim for omega-3 fatty acids and coronary heart disease. (Online). Available: [http://deanornish.com/wp-content/uploads/the\\_Dark\\_Side\\_of\\_Good\\_Fats\\_Deans\\_Ornish.pdf?b70fc9](http://deanornish.com/wp-content/uploads/the_Dark_Side_of_Good_Fats_Deans_Ornish.pdf?b70fc9) (October 21, 2016).
- Li, Q., G. Yan and T. Ge. 2008. A fragmentation study of two compounds related to 4'-demethylepipodophyllotoxin in negative ion electrospray ionization by MSn ion-trap time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communication in Mass Spectrometry* 22(3): 373-378.
- Longvah, T. and Y.G. Deosthale.1991. Chemical and nutritional studies on Hanshi (*Perilla frutescens*) a traditional oilseed from northeast India. *Journal of the American Oil Chemists Society* 68: 781-784.
- Longvah, T. and Y.G. Deosthale.1998. Effect of dehulling, cooking and roasting on the protein quality of *Perilla frutescens* seed. *Food Chemistry* 63(4): 519-523.
- Longvah, T., Y.G. Deosthale and K.P. Uday. 2000. Nutritional and short term toxicological evaluation of perilla seed oil. *Food Chemistry* 70(1): 13-16.
- Meng, L., Y. Loazno, E. Gaydou and B. Li. 2009. Antioxidant activities of polyphenols extracted from *Perilla frutescens* varieties. *Molecules* 14(1): 133-140.
- Mozaffarian, D., R. Micha and S. Wallace. 2010. Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLOS Medicine Journal* 7(3): e1000252.
- Nestel, P., P. Clifton, D. Colquhoun, T.A. Mori and B. Thomas. 2015. Indications for omega-3 long chain polyunsaturated fatty Acid in the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Heart, Lung and Circulation* 24(8): 769-779.
- Neuringer, M., G.J. Anderson and W.E. Lonnor. 1988. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annual Review of Nutrition* 8: 517.
- Office of Agricultural Economics. 2014. Important situation of agriculture product and tendency in 2015 (chicken). Office of Agricultural Economics, Bangkok.
- Office of Agricultural Economics. 2015. Important situation of agriculture product and tendency in 2015 (swine). Office of Agricultural Economics, Bangkok.
- Oita, S., T. Kimura, Y. Shibuya, N. Nihei and K. Tanahashi. 2008. Extraction and digestibility of *Perilla frutescens* seed protein. *Japan Agricultural Research Quarterly* 42(3): 211-214.
- Ornish, D. 2016. The dark side of good fats in newsweek. (Online). Available: <:///C:/Users/Michael/Documents/Focus97/F9..otes/The%20Dark%20Side%20of%20Good%20Fats.htm> (December 19, 2016).
- Peiretti, P.G., F. Gai, G. Meineri, I. Zoccarato and L. Gasco. 2010. Apparent digestibility of compound diets with increasing levels of perilla (*Perilla frutescens* L.) seeds in rabbit. *Italian Journal of Animal Science* 9(81): 425-428.
- Peiretti, P. 2011. Fatty acid content and chemical composition of vegetative parts of perilla (*Perilla frutescens* L.) after different growth

- lengths. Research Journal of Medicinal Plants 5(1): 72-78.
- Rosa, P., R. Antoniassi, S. Freitas, H. Bizzo, D. Zanotto and M. Oliveira. 2009. Chemical composition of Brazilian sunflower varieties. Helia Journal 32(50): 145-155.
- Saito, K., M. Nomura and J. Kimura. 2006. Effect of feeding perilla oil, meal and leaves on fatty acid contents in egg yolk. (Online). Available: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=JP2002002526> (December 1, 2016).
- Settaluri, V.S.K., C.V.K. Kandala, N. Puppala and J. Sundaram. 2012. Peanuts and their nutritional aspects-a review. Food and Nutrition Sciences 3(12): 1644-1650.
- Shannon, M. 2016. Which fat source should I feed my pigs? (Online). Available: <http://swine.missouri.edu/nutrition/pigfatsource.htm> (December 16, 2016).
- Su, Y., Y. She, Q. Huang, C. Shi, Z. Li and C. Huang. 2015. The effect of inclusion level of soybean oil and palm oil on their digestible and metabolizable energy content determined with the difference and regression method when fed to growing pigs. Asian-Australasian Journal of Animal Science 28(12): 1751-1759.
- Sudheendran, S., C.C. Chang and R.J. Deckelbaum. 2010. N-3 vs. saturated fatty acids: Effects on the arterial wall. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 82(4-6): 205-209.
- Talbott, S.M. and K. Hughes. 2006. In The Health Professional's Guide to Dietary Supplements. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
- Tancharoenrat, P. 2014. Factors considered in using fat in broilers feed formulation. Thai Journal of Animal Science 1(3): 7-16.
- Tinoco, J. 1982. Dietary requirements and functions of  $\alpha$ -linolenic acid in animals. Progress in Lipid Research 21(1): 1-45.
- Weizhuo, T., S. Yanling, L. Yanze, W. Yingfeng and Z. Yqing. 2013. Fast extraction of bioactive fatty acids from the perilla seeds by SMASH tissue extraction. Pakistan Journal of Botany 45(2): 513-517.
- WHO (World Health Organization). 2014. Noncommunicable Diseases Country Profiles 2014. WHO Document Production Services Publishing, Geneva. 201 p.
- Wilson, B.J., J.E. Garst, R.D. Linnabary and R.B. Channell. 1977. Perilla ketone: a potent lung toxin from the mint plant, *Perilla frutescens*. Britton Science 197(4303): 573-574.
- Yamada, M., A. Soeta, S. Sekiguti, J. Aminaka, K. Yamada and K. Mutou. 2007. Effects of *Perilla* meal feeding on the growth, carcass characteristics, and fatty acid composition of fat tissue and muscle in fattening pigs. Japanese Journal of Swine Science 44(2): 45-53.
- Zang, S., T. Li, Y. Song and X. Wang. 2003. Effects of *Perilla frutescens* in diet of laying hens on polyunsaturated fatty acid (PUFA) in egg yolk. Animal Husbandry & Veterinary Medicine 35(6): 13-16.
- Zollner, N. 1986. Dietary  $\alpha$ -linolenic acid in man-an overview. Progress in Lipid Research 25: 177-180.

## ดัชนีบทความในวารสารเกษตร ฉบับที่ 1 และ 2 ปีที่ 33 (2560)

| ฉบับที่ 1 มกราคม - เมษายน 2560                                                                                                                                | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ปฏิสัมพันธ์เชิงพฤติกรรมของมอดเจาะผลกาแฟและมดในจังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย                                                                                      | 1    |
| การควบคุมหนอนเจาะลำต้นกาแฟ <i>Xylotrechus quadripes</i> Chevrolat (Coleoptera: Cerambycidae) ในสภาพแปลงปลูก                                                   | 9    |
| ปฏิกิริยาของข้าวลูกผสมกลับ BC <sub>4</sub> F <sub>3-4</sub> (ข้าวดอกมะลิ 105/อาบาญา) x ชัยนาท 1 กับเพลี้ยกระโดดหลังขาว                                        | 21   |
| การเลี้ยงเพิ่มปริมาณเรือด <i>Cimex hemipterus</i> (Fabricius) โดยใช้เทคนิคการให้อาหารผ่านเมมเบรน                                                              | 31   |
| การควบคุมไร <i>Suidasia pontifica</i> ด้วยความร้อนและฟอร์มาลดีไฮด์ร่วมกับกรดไพรูอินิกในอาหารสุกร                                                              | 39   |
| การใช้แอคติโนมัยซีทจากดินเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวของมะเขือเทศ                                           | 49   |
| ผลของอัลตราไวโอเลตบีต่อปริมาณแคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซินของพริกชี้หนูพันธุ์เรดเดวิลและซูเปอร์ฮอท F <sub>1</sub>                                                | 61   |
| ผลของยูเรียและแคลเซียมซัลเฟตต่อการเจริญเติบโตของเรพชืดที่ปลูกในภาคเหนือของประเทศไทย                                                                           | 71   |
| การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวหน้าพันธุ์ข้าวเจ้าเก่าไม่ไวต่อช่วงแสงและมีปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูง                                                                | 81   |
| ผลของการเสริมบีเทนแอนไฮดรัสในน้ำดื่มของไก่เนื้อต่อสมรรถภาพการผลิตการย่อยได้ของโภชนา- ลักษณะเลือด ลักษณะซาก และคุณภาพเนื้อ                                     | 91   |
| ความหลากหลายของจุลินทรีย์และนิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมนของกระบือปลักที่ได้รับฟางข้าวหรือหญ้าขนสด                                                                 | 109  |
| ระดับการแสดงออกตามฤดูกาลของยีนไวเทลโลจีนิและดัชนีความสมบูรณ์เพศของปลาหมอช้างเหยียบในกว๊านพะเยา จังหวัดพะเยา                                                   | 121  |
| องค์ประกอบทางโภชนาการและปริมาณสารอัลลิซินในกระเทียมผงสายพันธุ์ศรีสะเกษ เชียงใหม่ และจีน                                                                       | 131  |
| ปัจจัยที่มีผลต่อการแอนโธไซยานินที่สกัดได้จากเมล็ดแห้งข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงด้วยเทคนิคการสกัดด้วยน้ำที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด | 141  |
| ปริมาณฟักข้าวที่เหมาะสมในการทำน้ำสลดชนิดข้น                                                                                                                   | 153  |
| <b>ฉบับที่ 2 พฤษภาคม - สิงหาคม 2560</b>                                                                                                                       |      |
| การเปรียบเทียบคุณภาพและองค์ประกอบทางชีวเคมีของเมล็ดกาแฟอาราบิก้าอินทรีย์ที่ปลูกในระดับความสูงพื้นที่ที่แตกต่างกัน                                             | 163  |
| ผลของ GA <sub>3</sub> NAA และสารคล้ายบาสซิน (BS) ต่อขนาดและน้ำหนักของผลเงาะพันธุ์โรงเรียน                                                                     | 175  |
| วิธีการทำให้เซลล์แตกเพื่อการสกัดน้ำมันจากสาหร่ายขนาดเล็ก                                                                                                      | 185  |
| การประเมินคุณลักษณะทางอัลลิโลพาธิ์จากหญ้าไย่งต่อการยับยั้งการเติบโตของวัชพืชในสภาพแปลง                                                                        | 193  |
| ศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซิสต์เอนโดไฟต์ที่แยกจากข้าวในการควบคุมโรคไหม้ของต้นกล้าข้าว                                                           | 203  |
| ผลของลีโอนาร์โดต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและผลผลิตข้าว                                                                                                           | 215  |
| ผลของการใช้ปุ๋ยละลายช้าต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพเมล็ดพันธุ์ของข้าวโพดอาหารสัตว์ ในพื้นที่จังหวัดตาก                                                  | 225  |
| พฤติกรรมการใช้สารเคมีป้องกันและกำจัดศัตรูพืชในการผลิตมะเขือเทศของเกษตรกรในจังหวัดสกลนคร                                                                       | 235  |
| การเปรียบเทียบคุณภาพและภูมิคุ้มกันของน้ำนมเหลืองและน้ำนมของสุกรพื้นเมืองไทยและลูกผสม                                                                          | 245  |
| ผลของวัสดุหลบซ่อนต่ออัตราการรอดตายของกุ้งก้ามกราม                                                                                                             | 257  |
| การพัฒนาผลิตภัณฑ์เจอร์รี่ไก่รสกะเพรา                                                                                                                          | 267  |
| คุณสมบัติฟิโบริโอติกเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์หมุยเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สกัดจากหัวหอมแขกและรากชิโครี                                                           | 277  |
| การใช้แป้งข้าวกล้องฟรียูเลาตินซ์ทดแทนแป้งสาลีในขนมปังแผ่นอบกรอบ                                                                                               | 291  |
| การสกัดร่วมกับสารกักเก็บสารหอม 2-Acetyl-1-Pyrroline จากใบเตยด้วยแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการเกิดเจลลาตินในเซชันภายใต้สภาวะหมอนึ่งอัดไอเพื่อใช้เคลือบข้าวขาวพิจิตร   | 299  |



ใบบอกรับเป็นสมาชิกวารสารเกษตร  
ของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว (ชื่อ).....(สกุล).....

ในฐานะ ☐ ส่วนบุคคล  
☐ องค์กร/หน่วยงาน (ชื่อ).....

การสื่อสารที่ติดต่อได้ ☐ โทรศัพท์..... ☐ โทรศัพท์มือถือ.....  
☐ แฟกซ์..... ☐ e-mail.....

ที่อยู่ในการจัดส่งวารสาร : .....  
.....  
.....

มีความประสงค์บอกรับเป็นสมาชิกวารสารเกษตรเป็นเวลา (เห็นการเป็นสมาชิกตามระยะเวลาที่ต้องการ)

- ☐ สมาชิก 1 ปี ตั้งแต่ปี..... อัตราค่าสมาชิก 300 บาท  
☐ สมาชิก 2 ปี ตั้งแต่ปี..... อัตราค่าสมาชิก 600 บาท  
☐ สมาชิก 5 ปี ตั้งแต่ปี..... อัตราค่าสมาชิก 1,500 บาท

พร้อมนี้ข้าพเจ้าได้จัดส่ง ☐ ธนาณัติ ☐ โอนเงิน ☐ เงินสด มูลค่า.....บาท

☐ ธนาณัติสั่งจ่ายในนาม : คุณลาลิตยา นุ่มมีศรี  
ที่ทำการไปรษณีย์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50202

☐ โอนเงินเข้าบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารกรุงไทย สาขามหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ชื่อบัญชี Journal of Agriculture Chiangmai University เลขที่บัญชี 456-0-18544-1

พร้อมแฟกซ์หลักฐานการโอนเงิน มายังหมายเลขโทรศัพท์ 053-944040 ต่อ 12 หรือสแกนส่งทาง  
e-mail : agjournal22@gmail.com

หมายเหตุ :

1. ส่งใบบอกรับเป็นสมาชิกวารสารเกษตรไปที่ : กองบรรณาธิการวารสารเกษตร งานบริหารงานวิจัยและ  
วิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50202
2. ท่านที่ประสงค์จะส่งชื่อวารสารฉบับย้อนหลัง สามารถสั่งซื้อได้ในราคาฉบับละ 100 บาท (รวมค่าจัดส่ง)

นโยบายวารสารเกษตร: ออกตรงเวลา-พัฒนาระดับ impact factor- ผู้เขียนบทความที่ส่งลงตีพิมพ์ต้องสมัครเป็นสมาชิก

## คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ (ต่อ)

### รูปแบบในการใช้ภาษาอังกฤษในเนื้อเรื่องภาษาไทย

- ชื่อวิทยาศาสตร์ คำขึ้นต้นให้ใช้อักษรตัวใหญ่ และใช้อักษรตัวเอน  
*Meloidogyne incognita*
- ชื่อเฉพาะ ให้ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่ทุกคำ  
Berdmann, Marschner
- ภาษาอังกฤษทั้งในวงเล็บและนอกวงเล็บ ให้ใช้ตัวเล็ก  
completely randomized design , (transition period)
- ดัวย่อ ให้ใช้อักษรตัวใหญ่ทั้งหมด และควรมีคำเต็มบอกไว้ในการใช้ครั้งแรก  
(randomized complete block design, RCBD)
- หัวข้อเรื่อง ให้ขึ้นด้วยอักษรตัวใหญ่  
Abstract, Introduction
- คำแรกทีตามหลัง คำสำคัญ ให้ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่  
Keywords : Mango, chlorophyll

### การส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์

ให้ส่งบทความ Online เท่านั้น ได้ที่

<http://web.agri.cmu.ac.th/agjournal/submission/>

### การบอกรับเป็นสมาชิก

บอกรับเป็นสมาชิกได้จากใบบอกรับเป็นสมาชิกท้ายเล่ม หรือติดต่อกองบรรณาธิการโดยตรง

### การตอบรับบทความ

บทความทุกบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร ต้องผ่านการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิ ไม่น้อยกว่า 2 ท่าน

\*\* กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจและแก้ไขบทความที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร

\*\* The Editorial Board claims a right to review and correct all articles submitted for publishing

### สำนักงานและการติดต่อ (Office and Inquiries)

กองบรรณาธิการวารสารเกษตร

งานบริหารงานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
จังหวัดเชียงใหม่ 50200

โทร. 0 5394 4089-92 ต่อ 12

โทรสาร 0 5394 4089-92 ต่อ 12

Editorial Board, Journal of Agriculture,

Division of Research and International Affairs, Chiang Mai University, Chiang Mai

50200, Thailand

Tel: 0 5394 4089-92

Fax: 0 5394 4666

E-mail: [agjournal22@gmail.com](mailto:agjournal22@gmail.com)



# JOURNAL OF AGRICULTURE

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

## Volume 33, Issue 3 September - December 2017

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Analysis of Anthocyanin Components and Genetic Relationship of <i>Rhynchosyilis gigantea</i> (Lindl.) Ridl. Flower<br>Natdanai Sumaythachotphong, Korawan Sringarm, Weenun Bundithya and Nuttha Potapohn.....                                                                                       | 311 |
| Gene Segregation for Anthocyanin Contents in F2 Population Between Purple Glutinous Rice from Highland and<br>Pathum Thani 1 Grown at Lowland and Highland Locations<br>Pittawat Somboon, Chanakan Thebault Prom-u-thai, Tonapha Pusadee, and Sansanee Jamjod.....                                  | 323 |
| Effect of Bacteria-producing Indole-3-Acetic Acid (IAA) on Growth and Nutrient Contents of<br>Bird Chili ( <i>Capsicum annuum</i> L.)<br>Jiraporn Inthasan, Chatprawee Dechjirattanasiri and Pravit Boonmee.....                                                                                    | 333 |
| Characteristics of Indigenous <i>Azospirillum</i> spp. Associated with Peanut Nodules and Compatibility with<br><i>Bradyrhizobium</i> in Thailand<br>Punpaporn Kongkaew, Supamard Panichsakpatana, Phatchayaphon Meunchang and Achara Nuntagij.....                                                 | 345 |
| Expression Profiling of Cutinase and Endopolygalacturonic-related Genes in <i>Colletotrichum capsici</i><br>During Chili Fruit Infection<br>Sawita Suwannarat, Pattavipha Songkumarn, Siegrid Steinkellner and Somsiri Sangchote.....                                                               | 357 |
| Efficacy of Fine Tobacco Leaf Scrap and Stem for Controlling Some Insect Pests of Vegetables<br>Supakorn Wongsuk, Yaowaluk Chanbang and Jiraporn Kulsarin.....                                                                                                                                      | 367 |
| Efficacy of Carbon Dioxide for Controlling Flat Grain Beetle ( <i>Cryptolestes pusillus</i> ) in Rice and Its Egg Morphology<br>Putipat Kunpanyadilok, Piyawan Suttiaprapan and Yaowaluk Chanbang.....                                                                                              | 377 |
| Factors Affecting Farmers' Adoption of Organic Agricultural Practices, Mae Ho Phra Subdistrict,<br>Mae Taeng District, Chiang Mai Province<br>Narasinee Kaewlaima, Suraphol Sreshthaputra, Budsara Limnirankul and Prathanthip Kramol.....                                                          | 387 |
| Factors Affecting Farmers' Adoption in Good Agricultural Practices for Safe Vegetable Production in<br>Mae Tha Nuea Royal Project Development Center, Chiang Mai Province<br>Charuwan Footan, Suraphol Sreshthaputra, Wallratat Intrauccomporn and Tanachai Pankasemsuk.....                        | 397 |
| Farmers Adoption of Melon Planting Against Drought in Lat Bua Luang District, Phra Nakhon Si Ayutthaya Province<br>Nattawut Janthong and Phahol Sakkatat.....                                                                                                                                       | 405 |
| Development of Eyes Mask Containing Dragon Fruit Peel Extract<br>Pichapar O-Chongpian, Panee Pimpa and Pensak Jantrawut.....                                                                                                                                                                        | 415 |
| Diagnosis of Bacterial Fish Pathogens Outbreak in Tilapia Farms by PCR-RFLP<br>Jaturon Pongnumpai and Chanagun Chitmanat.....                                                                                                                                                                       | 427 |
| Restricted Feeding of Ensiled Crop Residue on Production and Economic Cost in Dairy Replacement Heifer<br>Arthit Panyasak, Somkiert Prasanpanich and Sornthep Tumwasorn.....                                                                                                                        | 437 |
| Comparison of Fattening Performance, Carcass and Meat Quality of Charolais, Black Angus,<br>and Brahman Crossbred with Thai Native Cattle<br>Thanaporn Bunmee, Niraporn Chaiwang, Nuttapan Kantiya and Sanchai Jaturasitha.....                                                                     | 451 |
| Review Article:<br>Perilla Mint ( <i>Perilla frutescens</i> ): An Alternative Animal Feed to Enhance Omega-3 Fatty Acids in Meat and<br>Eggs as Functional Food<br>Napatsorn Montha, Winai Yothinsirikul, Kittiphong Tippaya, Kanchit Chompupan, Christian Lambertz<br>and Sanchai Jaturasitha..... | 463 |

ISSN 0857-0841

