



วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 32 ฉบับที่ 3 กันยายน - ธันวาคม 2559

ความสามารถในการผสมข้ามชนิดและสกุลของว่านอึ้ง [*Eulophia macrobulbon* (Par. & Pchb. f.) Hook. f.]

และว่านหัวครุ [*E. spectabilis* (Dennst.) Suresh.]

พงษ์พันธ์ ปินตาแจ่ม ฉันทลักษณ์ ดิยาชน และ ณัฐา โพธาภรณ์.....299

การพัฒนาสายพันธุ์พริกหนุ่มเขียวเพศผู้เป็นหมันโดยวิธีการผสมกลับ

กิตติศักดิ์ วงศ์สิงห์ และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์.....309

ผลของพาโคไลบิวทราโซลต่อการเติบโตทางกิ่งใบของมะเกี๋ยง

ธัญวรัตน์ วงเวียน และ ดร.ณิ นพรหม.....321

การชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสบู่ดำ

วิภาญดา สายวงศ์ใจ ธนียา เจตยานุกรกุล และ ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข.....331

ผลของไนโตรเจนต่อคุณภาพของกุหลาบตัดดอกที่ผลิตในกระถาง

วรรณศิริ ดันต์ประศาสน์ และ ไชระยา ร่วมรังษี.....339

การผลิตหอมแดงปลอดเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ณัฐริกา วรรณรัตน์ และ เกวลิน คุณาศักดากุล.....347

ระบบสารสนเทศเพื่อการตัดสินใจและการจัดการเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero

(Hemiptera: Pseudococcidae) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกของประเทศไทย

รัชฎาวรรณ เงินกลิ่น และ เบญจคุณ แสงทองพราว.....357

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการควบคุมหนอนใยผัก

ปณรดี สุศิริรัตน์.....369

ผลของการใช้วัสดุปรับปรุงดินร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี

ของดินภายใต้ทรงพุ่มมะรุ่ม

จิราภรณ์ อินทสาร ฉัตรปวีณ์ เดชจิรัตน์ศิริ และ ประวิทย์ บุญมี.....379

ผลของการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์ต่อลักษณะการเจริญเติบโต คุณภาพซากและเนื้อของนกกระทาญี่ปุ่น

กฤตภาค บุรณวิทย์ และ มนตรี ปัญญาทอง.....391

ต้นทุนและผลตอบแทนการผลิตโคเนื้อของเกษตรกรในอำเภอวัดโบสถ์ และอำเภอมะนัง จังหวัดพิษณุโลก

สุภาวดี แหยมคง.....401

การสำรวจรูปแบบการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ในหมู่บ้านปางหลวง อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย

คณนา อาจสูงเนิน.....409

ผลของความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิดและวิธีการปั่นผสมต่อสมบัติของสารสกัดแอลกอฮอล์จากเห็ดที่เก็บในไลโอไฟซึม

อนันทิศา แสงสุริยวงษ์ มารุจ ลิ้มปะวัฒน์ ดาลัด ศิริวัน ภัสราภา แก้วเนิน และ วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์.....421

การวิเคราะห์หาสารสำคัญและฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้บางชนิด

พสุธร อุ่นอมรมาศ และ สรณะ สมโน.....435

การผลิตกรดฟอริกจากตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ

รัตนา ม่วงรัตน์.....447

ISSN 0857-0841

TCI กลุ่มที่ 1

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เรื่องที่ต้องพิมพ์

บทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการ ทางด้านเกษตรศาสตร์และสาขาที่เกี่ยวข้อง

การเตรียมต้นฉบับ

1. **ภาษา** เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ
2. **การพิมพ์** พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษขนาด A4 ด้วย ไมโครคอมพิวเตอร์โปรแกรม ไมโครซอฟท์ เวิร์ด ด้วยอักษร 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)** ให้อธิบายผลการศึกษาวิจัย 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** ไม่ควรอ้างอิงถึงเรื่องที่ไม่เกี่ยวข้องหรือห่างไกล ระบบที่ใช้อ้างอิงคือ ระบบชื่อ และปี (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 Johnny (2003)...หรือ...(Johnny, 2003) ถ้าผู้เขียนมี 2 คน ให้ใช้เป็น Johnny and Walker (2004) ...หรือ...(Johnny and Walker, 2004) หากมีมากกว่า 3 คน ให้ใช้เป็น Johnny *et al.* (2005)...หรือ...(Johnny *et al.*, 2005) สำหรับในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้ใส่ชื่อผู้เขียนทุกคนห้ามใช้คำว่า และคณะ หรือ *et al.*

5.2 **ในบัญชีเอกสารอ้างอิง** ให้เรียงลำดับเอกสารภาษาไทยก่อนภาษาอังกฤษ โดยเรียงตามลำดับอักษรในแต่ละภาษา ตามรูปแบบการเขียนมีดังนี้

1) วารสาร (Journals)

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

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

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

2) หนังสือ และตำรา (Books & Textbooks)

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

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

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

3) เรียงย่อในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องกันเขียน และมีบรรณธิการ

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

ดำรง เวกิจ และ สมบูรณ์ ทองสกุล. 2535. เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัด ศัตรูพืช. หน้า 22-42. ใน: สุวัฒน์ รวยศรี (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. สถาบันหรือหน่วยงานที่จัดพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด.

ทวีศักดิ์ ชัยภาส. 2544. แมลงศัตรูปลาน้ำจืดในประเทศไทย. 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).

คู่มือแนะนำรูปแบบในการใช้ภาษาอังกฤษในเนื้อเรื่องภาษาไทย และการส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์ได้ในนิตยสาร

วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

ผู้จัดพิมพ์	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Publisher	Faculty of Agriculture, Chiang Mai University
กำหนดการพิมพ์	วารสารราย 4 เดือน (3 ฉบับ/ปี) คือ ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม	Publication	Tri-annually Issue 1 January-April Issue 2 May-August Issue 3 September-December
วัตถุประสงค์	เพื่อเผยแพร่วิทยาการด้านการเกษตร และสาขาที่เกี่ยวข้อง	Objective	To disseminate academic knowledge in agriculture and related fields
ที่ปรึกษา	คณบดีคณะเกษตรศาสตร์ รองคณบดีฝ่ายวิจัย และวิเทศสัมพันธ์	Consultants	Dean, Faculty of Agriculture; Associate Dean for Research and International Affairs
บรรณาธิการ	ศ.ดร.สัญญาชัย จตุรสิทธิ์ธา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editor	Sanchai Jaturasitha, Dr.sc.agr., Prof. Chiang Mai University
รองบรรณาธิการ	รศ.ดร.เกวณีน คุณาศักดากุล มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Vice Editor	Kaewalin Kunasakdakul, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University
กองบรรณาธิการ ฝ่ายวิชาการ	รศ.ดร.ณัฐา โพธารมณ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร.ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร.สุนทร คำยอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร.ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร.สุรินทร์ นิลสำราญจิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร.บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร.เยาวลักษณ์ จันทร์บาง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร.ฉันทลักษณ์ ตียายน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร.จิรวรรณ กิจชัยเจริญ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร.วรรณพร ทะพิงค์แก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร.ชูชาติ สันทรทรัพย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editorial Board (Academic)	Nuttha Potapohn, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Sakda Jongkaewwattana, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Soontorn Khamyong, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Chanakan Prom-u-thai, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Surin Nilasamranchit, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Budsara Limnirankul, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Yaowaluk Chanbang, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Chantalak Tiyyon, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Jirawan Kitchaicharoen, Ph.D. Chiang Mai University Wanaporn Tapingkae, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Choochad Santasup, Ph.D. Chiang Mai University

กองบรรณาธิการ ฝ่ายการจัดการ	อ.ดร.สรณะ สมโน	Sarana Sommano, Ph.D.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Chiang Mai University
	ศ.ดร.จรัญ จันทลักขณา	Charan Chantalakhana, Ph.D., Prof.
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	Kasetsart University
	ศ.ดร.เมธา วรรณพัฒน์	Metha Wanapat, Ph.D., Prof.
	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	Khon Kaen University
	ศ.ดร.อังศุมาลย์ จันทราปัติย์	Angsumarn Chandrapatya, Ph.D., Prof.
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	Kasetsart University
	รศ.ดร.เสวียน เปรมประสิทธิ์	Savent Pampasit, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยนเรศวร	Naresuan University
	รศ.ดร.วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ	Weerathep Pongprasert, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยนเรศวร	Naresuan University
	ผศ.ดร.ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร	Pathipan Sutigoolabud, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยแม่โจ้	Maejo University
	รศ.ดร.สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร	Suchila Techawongstien, D.agr., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	Khon Kaen University
	รศ.ดร.เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล	Petcharat Thummabenjapone, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	Khon Kaen University
	รศ.บำเพ็ญ เขียวหวาน	Bumpen Keowan, Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมิกราช	Sukhothai Thammathirat Open University
	ผศ.ดร.เพ็ญพร เจนการกิจ	Penporn Jankarnkij, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	Kasetsart University
	ผศ.ดร.ไชยวรรณ วัฒนจันทร์	Chaiyawan Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	Prince of Songkla University
	รศ.ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน	Kriangsak Mengumphan, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยแม่โจ้	Maejo University
	ผศ.ดร.เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์	Saowakon Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	Prince of Songkla University
	ศ.ดร.ธวัชชัย ศุภดิษฐ์	Tawadchai Suppadit, Ph.D., Prof.
	สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์	Nation Institute of Development Administration
	นางลาลิตยา นุ่มมีศรี	Editorial Board Lalitaya Nummisri
	นางสาวอรนิชาณ์ ปารมี	(Management) Onnicha Paramee
	นายมานพ เปี้ยพรรณ	Manop Pearpun

บทบรรณาธิการ

สวัสดีครับท่านผู้อ่านทุกท่าน

ก่อนอื่นผมต้องขอแจ้งข่าวดีให้ทุกท่านได้ทราบว่าศูนย์อ้างอิงดัชนีวารสารไทย (Thai Journal Citation Index, TCI) ได้ประกาศค่า Impact Factor ประจำปี 2558 เมื่อวันที่ 15 กรกฎาคม 2559 นี้ โดยวารสารเกษตรมีค่า IF เป็น 0.393 ซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมากจากปีที่ผ่านมาเพราะมีค่า IF เพียง 0.177 ดังนั้นน่าจะเป็นเรื่องที่ดีที่วารสารเกษตรได้ยอมรับมาตรฐานคุณภาพเพิ่มขึ้น แสดงถึงความเชื่อมั่นจากผู้เขียนที่ได้อ้างอิงบทความวิจัยของวารสารเกษตรมากขึ้น ทั้งนี้ทางกองบรรณาธิการต้องขอขอบคุณผู้เขียนที่ได้ส่งบทความมาให้เรา รวมทั้งผู้ทรงคุณวุฒิจากทั้งภายในและภายนอก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้กรุณาให้ข้อคิดเห็นในเชิงวิชาการที่ชัดเจนและถูกต้อง ดังจะเห็นได้ว่าอัตราการปฏิเสธการตีพิมพ์บทความมีแนวโน้มสูงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เพราะการคัดกรองที่ต้องเน้นคุณภาพมาตรฐานนั่นเอง

สำหรับบทความในวารสารเกษตรฉบับนี้ เป็นฉบับที่ 3 ปีที่ 32 ประจำเดือนกันยายน-ธันวาคม 2559 มีบทความทั้งหมด 15 เรื่อง สาขาพืชสวน 5 เรื่อง โรคพืช 1 เรื่อง กัญญาวิทยา 2 เรื่อง ปฐพีศาสตร์ 1 เรื่อง สัตวศาสตร์ 2 เรื่อง ประมง 2 เรื่อง และอุตสาหกรรมเกษตร 2 เรื่อง ซึ่งล้วนแต่เป็นบทความวิจัยที่น่าสนใจยิ่ง ต้องขอขอบคุณคณะผู้เขียนทุกท่านที่ได้แบ่งปันงานวิจัยดี ๆ มาให้เป็นอาหารสมองครับ

พบกันใหม่ในฉบับหน้าครับ

ศ.ดร. สัมชัย จตุรสิทธิ์ธา

บรรณาธิการวารสารเกษตร

ความสามารถในการผสมข้ามชนิดและสกุลของว่านอิง [*Eulophia macrobulbon*
(Par. & Pchb. f.) Hook. f.] และว่านหัวครู [*E. spectabilis* (Dennst.) Suresh.]

Interspecific and Intergeneric Crossabilities of *Eulophia macrobulbon*
(Par. & Pchb. f.) Hook. f. and *E. spectabilis* (Dennst.) Suresh.

พงษ์นที ปินตาแจ่ม^{1/} จันทลักษณ์ ทิยาณ^{1/} และ ณัฐา โพธาภรณ์^{1/*}
Pongnatee Pintajam^{1/}, Chantalak Tiyaon^{1/} and Nuttha Potapohn^{1/*}

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: natorchid@gmail.com

(Received: 14 March 2016; Accepted: 1 July 2016)

Abstract: Interspecific and intergeneric crossabilities of *Eulophia macrobulbon* (Par. & Rchb. f.) Hook. f. and *E. spectabilis* (Dennst.) Suresh. were studied. Both terrestrial orchids were employed for intraspecific, interspecific, and intergeneric hybridizations with *Geodorum attenuatum* Griff. and *Spathoglottis affinis* de Vries. It was found that the percentage of intraspecific fruit set of these two species were 86.67 and 92.30%, respectively. Interspecific crossability between *E. macrobulbon* x *E. spectabilis* was not successful whereas cross between *E. spectabilis* x *E. macrobulbon* was 100% of fruit set. Crossability of *E. macrobulbon* x *G. attenuatum* and *E. spectabilis* x *G. attenuatum* were 21.43 and 100% of fruit set, respectively. Crosses between *E. macrobulbon* x *S. affinis* and *E. spectabilis* x *S. affinis* were not found. Chromosome counting of root tip showed that chromosome number of *E. macrobulbon* and *E. spectabilis* were $2n=48$ and $2n=52$, respectively.

Keywords: Breeding, chromosome number, hybridization, terrestrial orchids

บทคัดย่อ: ศึกษาความสามารถในการผสมข้ามชนิดและการผสมข้ามสกุลของว่านอิงและว่านหัวครู โดยนำกล้วยไม้ดินทั้งสองชนิดมาควบคุมให้มีการผสมภายในชนิด ผสมข้ามชนิดและผสมข้ามสกุลกับว่านจงนางและเอื้องดินใบหมาก พบว่าว่านอิงและว่านหัวครูที่นำมาผสมตัวเองมีการติดฝัก 86.67 และ 92.30% ตามลำดับ การผสมข้ามชนิดระหว่างว่านอิงและว่านหัวครู พบว่า คู่ผสมระหว่างว่านอิง x ว่านหัวครูไม่เกิดฝัก ในขณะที่คู่ผสมระหว่างว่านหัวครู x ว่านอิงติดฝัก 100% ส่วนการผสมข้ามสกุล พบว่า คู่ผสมระหว่างว่านอิง x ว่านจงนางและว่านหัวครู x ว่านจงนางติดฝัก 21.43 และ 100% ตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการติดฝักในคู่ผสมระหว่างว่านอิง x เอื้องดินใบหมากและว่านหัวครู x เอื้องดินใบหมาก จากการนับจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของว่านอิงและว่านหัวครู พบว่า มีจำนวนโครโมโซม $2n=48$ และ $2n=52$ ตามลำดับ

คำสำคัญ: การผสมพันธุ์ จำนวนโครโมโซม การผสมข้ามพันธุ์ กล้วยไม้ดิน

คำนำ

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย สามารถสร้างรายได้เข้าสู่ประเทศได้มากกว่า 3,000 ล้านบาทต่อปี (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ทั้งในรูปกล้วยไม้ตัดดอกและกล้วยไม้กระถาง ส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้ในกลุ่มอิงอาศัย (epiphytic orchids) เช่น กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) ส่วนกล้วยไม้ดิน (terrestrial orchids) ไม่เป็นที่รู้จักและมีการนำมาใช้ประโยชน์ทางการค้าไม่มากนัก แม้ว่าประเทศไทยมีกล้วยไม้ดินที่มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจได้หลายชนิด เช่น กล้วยไม้ดินสกุล *Calanthe*, *Eulophia*, *Geodorum*, *Paphiopedilum* และ *Spathoglottis* เป็นต้น (อบจันท์, 2545) กล้วยไม้สกุล *Eulophia* เป็นกล้วยไม้ที่อยู่ในวงศ์ย่อย Epidendroideae และอยู่ในเผ่า Cymbididae มีลำต้นใต้ดินแบบหัวเผือก (corm) ช่อดอกเป็นแบบช่อกระจุก (raceme) ปกติเจริญมาจากฐานของลำต้นเทียม มีก้านชูช่อดอกตั้งตรงและมีความยาวประมาณ 30-40 เซนติเมตร มีจำนวนดอกต่อช่อประมาณ 8-35 ดอก ขึ้นอยู่กับชนิดและมีสีหลากหลาย (Bose and Bhattacharjee, 1989) หัวพันธุ์ของกล้วยไม้สกุลนี้มี ความทนทาน สะดวกต่อการขนส่งและการปลูกเลี้ยง ทำให้กล้วยไม้สกุล *Eulophia* มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเป็นไม้ตัดดอกและไม้ประดับแปลง

แม้ว่ามีการศึกษาความสามารถในการผสมพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุลอื่นอยู่บ้างแล้ว เช่น การศึกษาความสามารถในการผสมข้ามชนิดและสกุลของกล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* และสกุล *Pecteilis* ของชิตชนก และคณะ (2555) พบว่า กล้วยไม้ดินทั้งสองสกุลมีความสามารถผสมตัวเองได้ดี แต่ความสามารถในการผสมข้ามชนิดและสกุลแตกต่างกันไปตามชนิดของกล้วยไม้ดิน โดยชนิดที่มีความสามารถผสมข้ามได้ดี ได้แก่ *H. erichmichaelii* pink, *H. rhodocheila*, *H. xanthocheila* ในปี พ.ศ. 2558 วิชรจัญญ์ และคณะ ได้ศึกษาความสามารถในการผสมข้ามสกุลย่อยของกล้วยไม้ดินรองเท้านารี พบว่า รองเท้านารีกลุ่ม *Brachypetalum*, *Polyantha* และ *Sigmatopetalum* สามารถผสมข้ามได้ทุกสกุลย่อยได้ 100% ในขณะที่ความสามารถในการผสมข้ามของสกุลย่อยอื่นแตกต่างกันไปตามคู่ผสมในแต่ละสกุลย่อย เป็นต้น แต่การศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการผสมพันธุ์ของกล้วยไม้ดินสกุล *Eulophia* มีอยู่น้อยมาก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาความสามารถในการผสมข้ามชนิดและผสมข้ามสกุลระหว่างกล้วยไม้ดินสกุล *Eulophia* กับกล้วยไม้ดินสกุลอื่นๆ ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับกล้วยไม้ดินสกุล *Eulophia* เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุลนี้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพันธุ์พืช

ว่านอึ้ง [*Eulophia macrobulbon* (Par. & Rchb. f.) Hook. f.] (ภาพที่ 1A) และว่านหัวครู [*E. spectabilis* (Dennst.) Suresh.] (ภาพที่ 1B) ที่ใช้เป็นพ่อและแม่พันธุ์ได้มาจากอำเภอแม่วง จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนว่านจูงนาง (*Geodorum attenuatum* Griff.) (ภาพที่ 1C) และเอื้องดินใบหมาก (*Spathoglottis affinis* de Vries) (ภาพที่ 1D) ได้มาจากโรงเรียนกล้วยไม้ สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ความสามารถในการผสมพันธุ์

1) การผสมภายในชนิด (intraspecific hybridization)

นำว่านอึ้งและว่านหัวครูผสมข้ามภายในชนิดเดียวกัน ถ่ายเรณูเวลา 8.00-10.00 นาฬิกา ใช้ไม้จิ้มฟันที่สะอาดเขี่ยเกสรเพศผู้ออกจากบริเวณบนสุดของเส้าเกสรของต้นพ่อพันธุ์และดึงฝาคอบเกสรเพศผู้ออกจากกลุ่มเรณู จากนั้นดันกลุ่มเรณูเข้าไปในเกสรเพศเมียซึ่งมีลักษณะเป็นแอ่งอยู่บริเวณด้านล่างของเส้าเกสรของต้นแม่พันธุ์ โดยผสมแต่ละคู่ผสมอย่างน้อย 5 ดอก บันทึกผลจากการติดฝักโดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การติดฝักจากจำนวนฝักที่ผสมติดเทียบกับจำนวนดอกที่ได้ทำการผสม

ศึกษาความมีชีวิตของเมล็ด (seed viability) โดยวิธีดัดแปลงจากวิธีของอรอนงค์ (2553) โดยย้อมเมล็ดด้วย 60% lacto-propionic orcein เวลา 10 นาที แล้วนำเมล็ดมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมล็ดที่มีชีวิตคือเมล็ดที่มีกลุ่มเซลล์ที่เจริญเป็นเอ็มบริโอตรงกลางเป็นสีขาว มีพื้นที่โดยรอบเมล็ดสีแดง เมล็ดที่มีลักษณะลิบและกลุ่มเซลล์ที่เจริญเป็นเอ็มบริโอยังไม่ติดสีเป็นเมล็ดที่ไม่มีชีวิต คู่ผสมละอย่างน้อย 3 ฝัก ฝักละ 5 ตัวอย่าง บันทึกความมีชีวิตของเมล็ดโดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตจากจำนวนเมล็ดที่มีชีวิตเทียบกับจำนวนเมล็ดทั้งหมดที่ปรากฏในสไลด์ จากนั้นนำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ผสม

ศึกษาการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ (seed germination) โดยนำฝักกล้วยไม้ดินที่เจริญเติบโตเต็มที่ (ฝักอายุ 5 เดือนสำหรับว่านอึ้ง ว่านหัวครู และว่านจูงนาง และฝักอายุ 1 เดือนสำหรับเอื้องดินใบหมาก) มาฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายคลอโรกซ์ (clorox) ความเข้มข้น 20% นาน 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งในตู้ปลอดเชื้อ ตัดหัวและผ่ากลางฝักกล้วยไม้ดินที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วใช้มีดเขี่ยเมล็ดลงในอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) (VW) เขี่ยเมล็ดให้ทั่วบริเวณพื้นผิวอาหาร จากนั้นใช้พลาสติคปิดปากขวดและนำไปวางบนชั้นที่ไม่มีแสง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสคู่ผสมละอย่างน้อย 3 ฝัก ฝักละ 3 ขวด บันทึกการงอกของเมล็ด

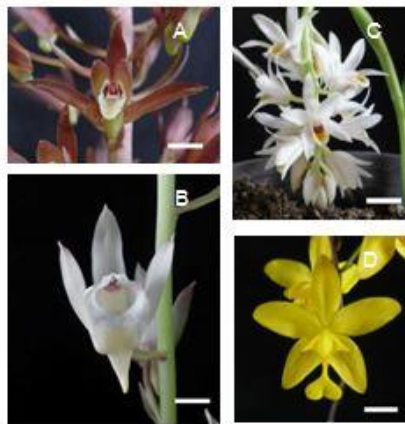


Figure 1 Terrestrial orchids used in hybridization: *Eulophia macrobulbon* (Par. & Rchb. f.) Hook. f. (A), *Eulophia spectabilis* (Dennst.) Suresh. (B), *Geodorum attenuatum* Griff. (C), and *Spathoglottis affinis* de Vries (D) (scale bar = 1 cm)

หลังจากเพาะเมล็ด 6 เดือน โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดจากพื้นที่ที่มีการงอกของเมล็ดต่อพื้นที่ขุดทั้งหมด (เมล็ดงอกเต็มพื้นที่ขุดทั้งหมด คือ 100% ในขณะที่เมล็ดไม่งอก คือ 0%) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ผสม

2) การผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization)

ผสมพันธุ์ข้ามชนิดระหว่างว่านอิงและว่านหัวครู พร้อมทั้งผสมสลับพ่อแม่ (reciprocal cross) โดยผสมแต่ละคู่ผสมอย่างน้อย 5 ดอก และบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการผสมภายในชนิด

3) การผสมข้ามสกุล (intergeneric hybridization)

นำว่านอิงและว่านหัวครูผสมพันธุ์ข้ามสกุลกับกล้วยไม้ดินสกุลอื่นที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน ได้แก่ ว่านจูงนางและเอื้องดินใบหมาก พร้อมทั้งผสมสลับพ่อแม่ โดยผสมแต่ละคู่ผสมอย่างน้อย 5 ดอก และบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการผสมภายในชนิด

เซลล์พันธุศาสตร์

ศึกษาจำนวนโครโมโซมว่านอิงและว่านหัวครูจากเนื้อเยื่อปลายรากด้วยวิธี Feulgen's squash ดัดแปลงจากวิธีของดวงทิพย์ (2539)

1) ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างราก

เก็บตัวอย่างรากของว่านอิงและว่านหัวครู ช่วงเวลา 8.00, 9.00, 10.00 และ 11.00 นาฬิกา แล้วนำมาแช่ใน acetic-alcohol fixative เวลา 7 นาที หลังจากนั้นย่อยผนังเซลล์ใน 1 N HCl อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที แล้วย้อมด้วยสี carbol fuchsin ให้ซึมเข้าเนื้อเยื่อปลายรากให้กระจายบนแผ่นสไลด์เพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์เกิดการทับซ้อนกัน ปิดแผ่นสไลด์ด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2) ระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดยวซีฟเซลล์

เก็บตัวอย่างรากในช่วงเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 1 นำตัวอย่างรากมาแช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12, 24 และ 36 ชั่วโมงเพื่อหยุดยวซีฟเซลล์ หลังจากนั้นนำตัวอย่างรากมาผ่าน

ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาโครโมโซมตามที่กล่าวไว้ข้างต้น นับจำนวนโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดละ 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละอย่างน้อย 10 เซลล์

ผลการทดลอง

ความสามารถในการผสมพันธุ์

1) การผสมภายในชนิด

การผสมตัวเองของว่านอิงและว่านหัวครู พบว่าว่านอิงและว่านหัวครูสามารถติดฝักได้ดี (86.67 และ 92.30% ตามลำดับ) และเมล็ดที่อยู่ในฝักมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตสูง (87.22 และ 97.68% ตามลำดับ) และสามารถงอกได้ดีเมื่อเพาะในสภาพปลอดเชื้อ (83.33 และ 95.50% ตามลำดับ) (ตารางที่ 1)

2) การผสมข้ามชนิด

การผสมข้ามชนิดระหว่างว่านอิงและว่านหัวครู พบว่า คู่ผสมระหว่างว่านอิงและว่านหัวครูสามารถติดฝักได้เมื่อใช้ว่านหัวครูเป็นต้นแม่พันธุ์ โดยมีความมีชีวิตของเมล็ดและการงอกของเมล็ด 98.13 และ 86.25% ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

3) การผสมข้ามสกุล

จากการศึกษาการผสมข้ามสกุลระหว่างกล้วยไม้ดินสกุล *Eulophia* กับกล้วยไม้ดินที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน พบว่า ว่านจูงนางสามารถผสมข้ามสกุลกับว่านอิงและว่านหัวครูได้ดี คือ มีเปอร์เซ็นต์การติดฝัก 85.71-100% และมีเมล็ดมีชีวิตภายในฝักที่สามารถงอกและเจริญเติบโตได้ในสภาพปลอดเชื้อ ยกเว้นคู่ผสมระหว่างว่านอิง x ว่านจูงนาง ติดฝักเพียง 21.43% และไม่พบเมล็ดที่มีชีวิตภายในฝัก (ตารางที่ 1)

การศึกษากการผสมข้ามสกุลของว่านอิงและว่านหัวครูกับเอื้องดินใบหมาก พบว่า ไม่ประสบความสำเร็จในการสร้างลูกผสมข้ามสกุล เนื่องจากมีเพียงคู่ผสมระหว่างเอื้องดินใบหมาก x ว่านอิงที่มีการติดฝัก 34.48% และไม่มีเมล็ดที่มีชีวิตอยู่ภายในฝัก (ตารางที่ 1)

เซลล์พันธุศาสตร์

1) ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างราก

ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายรากเพื่อหาช่วงเวลาที่ทำให้โครโมโซมว่านอึ้งและว่านหัวครุอยู่ในระยะเมทาเฟส พบว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายรากว่านอึ้งเป็นเวลา 9.00 นาฬิกา (ภาพที่ 2) และว่านหัวครุเป็นเวลา 10.00 นาฬิกา (ภาพที่ 3)

2) ระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดวงจรเซลล์

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดวงจรเซลล์โดยเก็บตัวอย่างปลายรากช่วงเวลาที่เหมาะสม แช่ตัวอย่างในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M

แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการหยุดวงจรเซลล์เนื้อเยื่อปลายรากของว่านอึ้งและว่านหัวครุ คือ 24 ชั่วโมง เนื่องจากสามารถเห็นโครโมโซมชัดเจน กระจายออกจากกัน และสามารถนับจำนวนได้ (ภาพที่ 4 และภาพที่ 5)

3) จำนวนโครโมโซม

การนับจำนวนโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า จำนวนโครโมโซมของว่านอึ้ง เท่ากับ $2n=48$ และจำนวนโครโมโซมของว่านหัวครุ เท่ากับ $2n=52$ (ตารางที่ 2)

Table 1 Percentage of fruit set, seed viability, and seed germination from intraspecific, interspecific, and intergeneric hybridizations of *Eulophia* and others

Female plant	Male plant	Number of hybridized flowers	Number of seed pods	Fruit set (%)	Seed viability (%)	Seed germination (%)
<i>E. macrobulbon</i>	<i>E. macrobulbon</i>	15	13	86.67	87.22 ±6.00	83.33 ±15.27
<i>E. spectabilis</i>	<i>E. spectabilis</i>	13	12	92.30	97.68 ±7.10	95.50 ±7.07
<i>E. macrobulbon</i>	<i>E. spectabilis</i>	20	0	0	¹	¹
<i>E. spectabilis</i>	<i>E. macrobulbon</i>	13	13	100	98.13 ±1.77	86.25 ±13.78
<i>G. attenuatum</i>	<i>E. macrobulbon</i>	13	12	92.31	87.29 ±7.85	57.50 ±10.82
<i>E. macrobulbon</i>	<i>G. attenuatum</i>	14	3	21.43	0	0
<i>G. attenuatum</i>	<i>E. spectabilis</i>	14	12	85.71	54.64 ±2.73	24.00 ±5.45
<i>E. spectabilis</i>	<i>G. attenuatum</i>	11	11	100	76.59 ±17.88	16.67 ±5.77
<i>S. affinis</i>	<i>E. macrobulbon</i>	29	10	34.48	0	0
<i>E. macrobulbon</i>	<i>S. affinis</i>	12	0	0	¹	¹
<i>S. affinis</i>	<i>E. spectabilis</i>	26	0	0	¹	¹
<i>E. spectabilis</i>	<i>S. affinis</i>	29	0	0	¹	¹

¹Data unavailable due to no fruit set

Table 2 Chromosome number of *Eulophia macrobulbon* and *E. spectabilis*

Plant	Chromosome number
<i>E. macrobulbon</i>	48.07 ±0.58
<i>E. spectabilis</i>	51.89 ±0.63

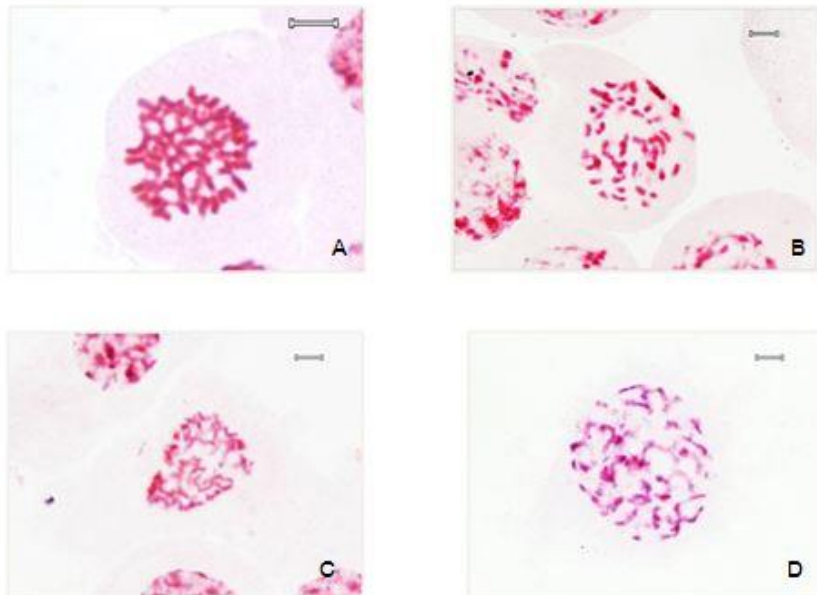


Figure 2 Somatic chromosomes in *Eulophia macrobulbon* root-tip cells collected at different times: 8:00 A.M. (A), 9:00 A.M. (B), 10:00 A.M. (C), and 11:00 A.M. (D) (scale bar = 5 μ m)

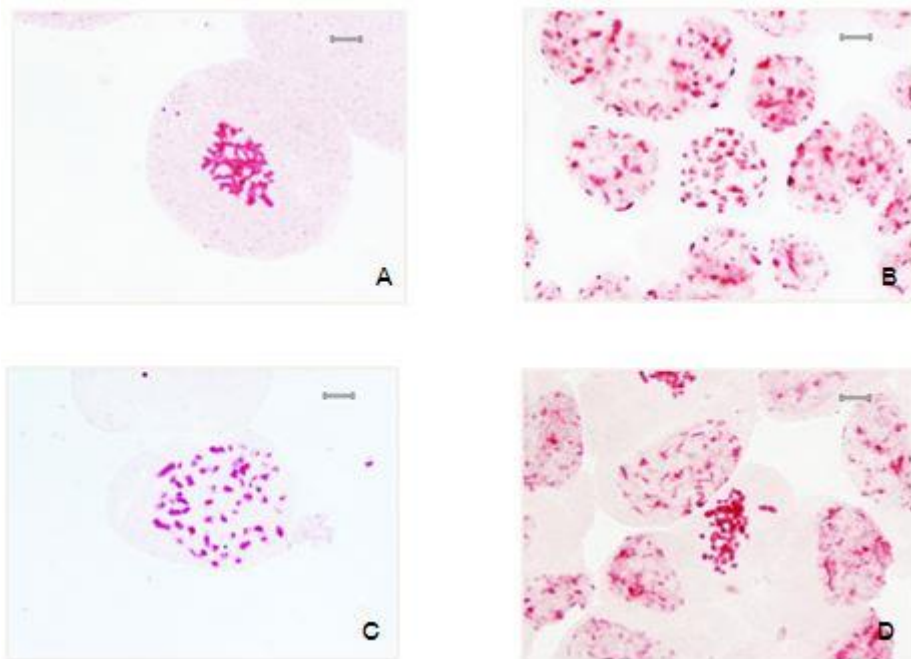


Figure 3 Somatic chromosomes in *Eulophia spectabilis* root-tip cells collected at different times: 8:00 A.M. (A), 9:00 A.M. (B), 10:00 A.M. (C), and 11:00 A.M. (D) (scale bar = 5 μ m)

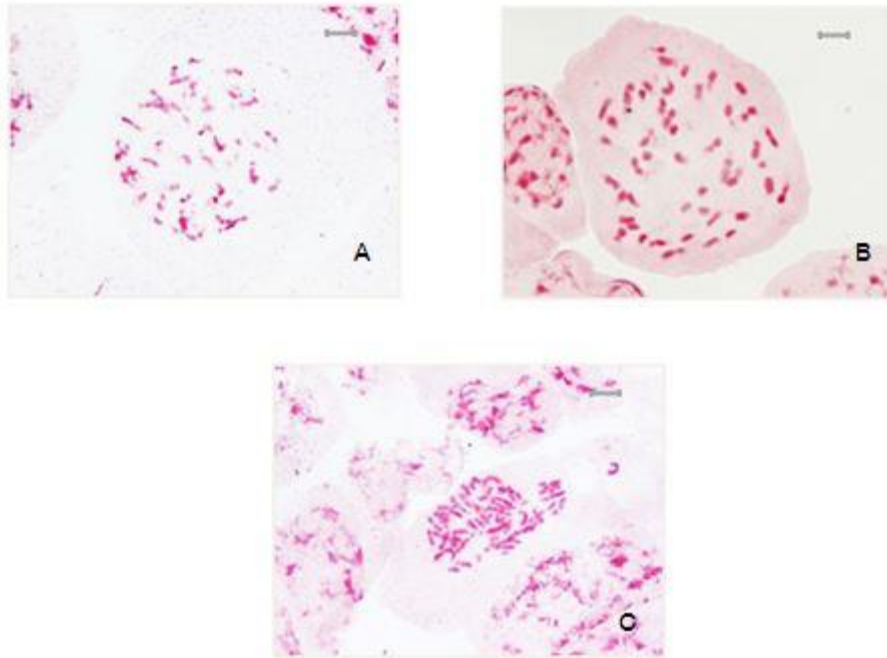


Figure 4 Somatic chromosomes in *Eulophia macrobulbon* root-tip cells soaked in pre-treatment solution at different durations: 12 hours. (A), 24 hours (B), and 48 hours (C) (scale bar = 5 μ m)

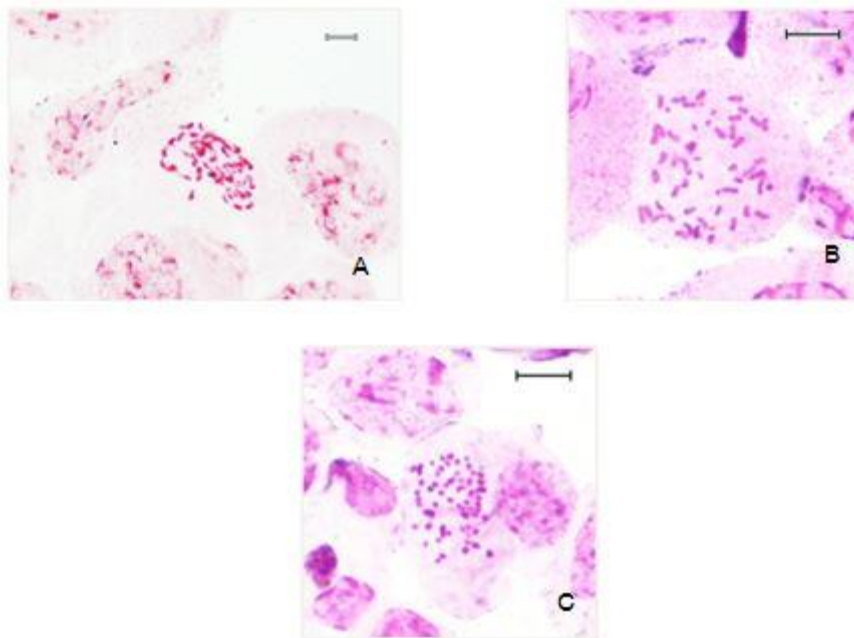


Figure 5 Somatic chromosomes in *Eulophia spectabilis* root-tip cells soaked in pre-treatment solution at different durations: 12 hours. (A), 24 hours (B), and 48 hours (C) (scale bar = 5 μ m)

วิจารณ์

การศึกษาความสามารถในการผสมตัวเอง การผสมข้ามชนิด และการผสมข้ามสกุลของว่านอึ้ง (*Eulophia macrobulbon* (Par. & Rchb. f.) Hook. f.) และว่านหัวครุ [*(Eulophia spectabilis* (Dennst.) Suresh.)] พบว่า กล้วยไม้ดินทั้งสองชนิดสามารถติดฝักได้ดีเมื่อผสมตัวเอง ดังเช่นที่พบใน *Habenaria erichmichaelii* Hance, *H. rhodocheila* Hance และ *H. xanthocheila* Ridl. โดยแต่ละชนิดมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูง (ชิดชนก และคณะ, 2555) แม้ว่าในธรรมชาติกล้วยไม้ส่วนใหญ่มีระบบป้องกันการผสมตัวเองทั้งด้านลักษณะทางระบบนิเวศ (ecological barrier) หรือด้านโครงสร้าง (structural barrier) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เนื้อเยื่อ rostellum (เนื้อเยื่อที่กั้นอยู่ตรงกลางระหว่างกลุ่มเรณูกับแองเทส เพตเมีย) ทำให้การผสมตัวเองเกิดขึ้นได้ยาก แต่สามารถเกิดขึ้นได้จากอาศัยพาหะ (pollinators) ช่วยเหลือส่วนในกลุ่มของกล้วยไม้ดิน พบว่า กล้วยไม้ดินบางชนิดมีความสามารถผสมตัวเองติดได้เอง จึงทำให้มีการติดฝักขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก เช่น *Corallorhiza odontorhiza* และ *Lister cordata* เป็นต้น (Dafni and Bernhardt, 1990)

การผสมข้ามชนิดระหว่างว่านอึ้งและว่านหัวครุ แสดงว่าคู่ผสมของกล้วยไม้ดินทั้งสองชนิดสามารถเกิดขึ้นได้ ถ้าใช้ว่านหัวครุเป็นต้นแม่พันธุ์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rajkumar et al. (2005) พบว่า คู่ผสมของ *Ascocentrum ampullaceum* (Roxb.) Schltr. var. *auranticum* และ *Vanda coerulea* Griff. สามารถทำได้เมื่อใช้ *V. coerulea* เป็นต้นแม่พันธุ์ แต่อย่างไรก็ตาม มังกร (2555) ได้รายงานว่ามีสาเหตุ 3 ประการที่ทำให้การผสมกล้วยไม้ไม่ประสบความสำเร็จได้แก่ จำนวนโครโมโซมของต้นพ่อแม่พันธุ์แตกต่างกันมาก ต้นพ่อพันธุ์หรือต้นแม่พันธุ์เป็นหมัน และกล้วยไม้ที่ใช้ผสมไม่เหมาะสมเป็นต้นพ่อแม่พันธุ์ เช่น ดอกของต้นแม่พันธุ์มีขนาดเล็กกว่าต้นพ่อพันธุ์มาก จึงมีท่อรังไข่ (ovary tube) เล็กและแคบเกินกว่าท่อของกลุ่มเรณู (pollen tube) สามารถผ่านได้ ทำให้การผสมไม่สำเร็จ ในทางตรงกันข้าม ถ้าดอกของ

ต้นแม่พันธุ์มีขนาดใหญ่เกินไปทำให้ท่อของกลุ่มเรณูของต้นพ่อพันธุ์ยาวไม่เพียงพอถึงรังไข่ได้ นอกจากนี้ กลุ่มเรณูที่มีขนาดเล็กเกินไปยังสร้างฮอร์โมนออกซินไม่เพียงพอให้การผสมข้ามชนิดสำเร็จ (ระพี, 2516)

การศึกษานี้พบว่า ว่านอึ้งและว่านหัวครุไม่เป็นหมัน เนื่องจากกล้วยไม้ดินทั้งสองชนิดสามารถผสมตัวเองได้และมีจำนวนโครโมโซมของว่านอึ้งและว่านหัวครุ เท่ากับ $2n=48$ และ $2n=52$ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันมากนัก จึงอาจไม่ใช่สาเหตุที่ทำให้การผสมข้ามชนิดไม่ประสบความสำเร็จเมื่อใช้ว่านอึ้งเป็นแม่พันธุ์ ดังนั้นสาเหตุจึงเกิดจากขนาดดอกของว่านอึ้งเล็กกว่าดอกของว่านหัวครุมาก ทำให้กล้วยไม้ดินชนิดนี้ไม่เหมาะสมเป็นต้นแม่พันธุ์เมื่อทำการผสมข้ามกับว่านหัวครุ สำหรับการผสมข้ามสกุลของกล้วยไม้ดินสกุล *Eulophia* กับกล้วยไม้ดินที่อยู่ในวงศ์ย่อยเดียวกัน แสดงให้เห็นว่า กล้วยไม้สกุลว่านจุนาง (*Geodorum*) สามารถผสมข้ามเข้ากับกล้วยไม้สกุล *Eulophia* ได้ดีกว่ากล้วยไม้สกุลเอื้องดินใบหมาก (*Spathoglottis*) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากจำนวนโครโมโซมของว่านจุนางมีจำนวนใกล้เคียงกับว่านอึ้งและว่านหัวครุมากกว่าเอื้องดินใบหมาก โดยจำนวนโครโมโซมของ *Geodorum attenuatum* เท่ากับ $2n=52$ (อมรรัตน์, 2551) และจำนวนโครโมโซมของ *Spathoglottis affinis* เท่ากับ $2n=40$ (วงศ์, 2553) นอกจากนี้ กล้วยไม้สกุล *Geodorum* (วงศ์ย่อย: Epidendroideae, เผ่า: Cymbidieae) ยังมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับกล้วยไม้สกุล *Eulophia* มากกว่ากล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* (วงศ์ย่อย: Epidendroideae, เผ่า: Collabieae) สอดคล้องกับรายงานของอดิศร (2547) ซึ่งได้กล่าวว่า ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การผสมพันธุ์ประสบความสำเร็จ

การพัฒนาของฝักไม่ได้เป็นตัวบ่งชี้ว่าการผสมพันธุ์ประสบความสำเร็จ ทั้งนี้การติดฝักสามารถพัฒนาขึ้นได้แม้ว่าไม่มีเมล็ดที่มีชีวิตอยู่ภายใน โดยเฉพาะฝักที่เกิดจากการผสมข้ามสกุล เนื่องจากฝักสามารถพัฒนาได้โดยการกระตุ้นของออกซินที่ได้จากกลุ่มเรณู ขณะที่เกิดการถ่ายเรณู (สมบุญ, 2548) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Arditti and Knauff (1969) รายงานว่า

ออกซินสามารถกระตุ้นให้รังไข่ของกล้วยไม้มีการพัฒนา
ได้ แม้ว่าไม่มีการปฏิสนธิเกิดขึ้น

สรุป

การศึกษาความสามารถในการผสมตัวเอง การ
ผสมข้ามชนิดและการผสมข้ามสกุลของว่านอึ้งและว่าน
หัวครู พบว่า กล้วยไม้ดินทั้งสองชนิดสามารถผสมตัวเอง
ได้ดี และการสร้างผสมข้ามชนิดระหว่างว่านอึ้งและว่าน
หัวครูสามารถทำได้เมื่อใช้ว่านหัวครูเป็นต้นแม่พันธุ์ ส่วน
การผสมข้ามสกุล พบว่า กล้วยไม้สกุล *Eulophia* ทั้งสอง
ชนิดสามารถผสมข้ามกับกล้วยไม้สกุล *Geodorum* ได้ แต่
การผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้สกุล *Eulophia* กับกล้วยไม้
สกุล *Spathoglottis* ไม่ประสบความสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

ชิดชนก ก่อเจดีย์ วิวัฒน์ บัณฑิตย์ จามจุรี โสติดิกุล และ
ณัฐา โพธารมณ์. 2555. ความสามารถในการ
ผสมข้ามชนิดและสกุลของกล้วยไม้ดินสกุล
ฮาเบนาเรียและสกุลเพคเทลิสบางชนิด. วารสาร
เกษตร 28(3): 263-272.

ดวงทิพย์ วิทยศักดิ์. 2539. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
กายวิภาควิทยา และเซลล์วิทยาของว่านสี่ทิศ.
วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชา
พืชสวน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 105
หน้า.

มังกร โลหะอุดม. 2555. มังกร โลหะอุดม. หน้า 32-33. ใน:
ภวพล ศุภนันถนันทน์ (บก.) รวมพลคนรัก
กล้วยไม้. อัมรินทร์ พรินตติ้งเอนด์พับลิชชิง.
กรุงเทพฯ.

ระพี สาคริก. 2516. การเพาะปลูกกล้วยไม้ใน
สภาพแวดล้อมของประเทศไทย. สำนักพิมพ์
ชวนพิมพ์, กรุงเทพฯ. 840 หน้า.

วิชรุณญ์ ทองคำ ณัฐา โพธารมณ์ และ ฉันทลักษณ์
ติยายน. 2558. ความสามารถในการผสมข้าม
สกุลย่อยของกล้วยไม้ รองเท้านารีบางชนิด.
วารสารเกษตร 31(3): 241-249.

วงศ์ บุญอารีย์. 2553. การผสมพันธุ์และจำนวน
โครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก.
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาวิชา
พืชสวน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 44
หน้า.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาพืช. พิมพ์ครั้งที่
ที่ 4. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 252 หน้า.

สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. สถานการณ์สินค้า
เกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2555. (ระบบ
ออนไลน์). แหล่งข้อมูล :
<http://www.oae.go.th/download/journal/trends2555.pdf> (18 กันยายน 2555).

อดิสร กระแสชัย. 2547. การปรับปรุงพันธุ์พืช. หน้า 112-
127. ใน: วิวัฒน์ บัณฑิตย์ (บก.). เอกสาร
ประกอบการสอนหลักการพืชสวน. คณะ
เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
เชียงใหม่.

อบฉันท ไทยทอง. 2545. กล้วยไม้เมืองไทย. อัมรินทร์
พรินตติ้งเอนด์พับลิชชิง, กรุงเทพฯ. 461 หน้า.

อมรรัตน์ ทองแสน. 2551. การศึกษาลักษณะและการผสม
พันธุ์ว่านจูนางที่รวบรวมจากป่าสงวนแห่งชาติ
ขุนแม่กวง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์
มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน.
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 174 หน้า.

อรอนงค์ วงศ์น่าน. 2553. ความสามารถในการผสมข้าม
หมู่ของกล้วยไม้สกุลเข็มปีเดียบบางชนิด.
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาวิชา
พืชสวน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 85
หน้า.

Arditti, J. and R.L. Knauff. 1969. The effect of auxin,
actinomycin D, ethionine, and puromycin on
post-pollination behavior by *Cymbidium*
(Orchidaceae) flowers. American Journal of
Botany 56: 620-628

Bose, T.K. and S.K. Bhattacharjee. 1989. Orchid of
India. Naya Prokash, Calcutta. 538 p.

Dafni, A. and P. Bernhardt. 1990. Pollination of
terrestrial orchids of southern Australia and

- the Mediterranean region. Journal of Evolutionary Biology 24: 193-252.
- Rajkumar, K., P.S. Sha Valli Khan and G.J. Sharma. 2005. Hybridization and *in vitro* culture of an orchid hybrid *Ascocenda* 'Kangla'. Scientia Horticulturae 108: 66-73.
- Vacin, E. and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solution. Botanical Gazette 110: 605-613.
-

การพัฒนาสายพันธุ์พริกหนุ่มเขียวเพศผู้เป็นหมันโดยวิธีการผสมกลับ

Development of Male Sterile Green Chili Lines by Backcross Method

กิตติศักดิ์ วงศ์สิงห์^{1/} และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์^{1/*}

Kitisak Wongsing^{1/} and Maneechat Nikornpun^{1/*}

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Plant and Soil Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

*Corresponding author: Email: maneechat.n@gmail.com

(Received: 13 October 2015; Accepted: 20 June 2016)

Abstract: This experiment focus on development of green chili lines which is male sterile by backcross method of chili varieties CA1445 and CA1450. They were crossed with male sterile varieties KY16 and PP32. The study revealed that prospective genotypes, CA1445 and CA1450 varieties, were maintainer and stable. It was found that the F₁ hybrid (KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448) gave the highest yield and fruit weight per plant. The second high yielding varieties were F₁ hybrid (KY16BC₃F₁CA1450 × CA1448) and commercial variety (MAEPING 80). Yields of the three varieties were not significantly different. The yields of these varieties were significantly difference from others F₁ hybrids, the female parents, and male parents. However; they were not significantly different from the female parent CA1447 and commercial variety (JAKRAPAT). The female parent KY16BC₃F₁CA1450, KY16BC₃F₁CA1445, PP32BC₃F₁CA1450 and PP32BC₃F₁CA1445 showed positive and significantly different of general combining ability for fruit number per plant, fruit weight, fruit length and fruit width. The male parent CA1447, CA1448 and CA1449 showed positive and significantly different of general combining ability for fruit number per plant, yield, fruit weight per plant and fruit length. Many of F₁ hybrids exhibited positive significantly different heterosis for yield, number per plant, fruit weight, fruit width, and fruit length. The F₁ hybrids, KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448 and PP32BC₃F₁CA1445 × CA1448 could be used in the future for the F₁ hybrid development program.

Keywords: Chili, F₁ hybrid, combining ability, heterosis

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มุ่งที่พัฒนาสายพันธุ์พริกหนุ่มเขียวเพศผู้เป็นหมันโดยวิธีการผสมกลับ ระหว่างพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน พันธุ์ CA1450 และ CA1445 กับแม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน พันธุ์ KY16 และ PP32 จากการตรวจสอบความมีชีวิตของเรณู พบว่า พันธุ์ CA1450 และ CA1445 มีพันธุ์กรรมแบบพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันและมีความเสถียร จากการศึกษาพบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ มีแนวโน้มให้ผลผลิตและน้ำหนักผลต่อต้นสูงสุด รองลงมาคือลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1448$ และพันธุ์แม่ปึง 80 ทั้งสามพันธุ์ให้ผลผลิต ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลูกผสมส่วนใหญ่ แม่พันธุ์ทั้งหมดและพ่อพันธุ์ส่วนใหญ่ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพ่อพันธุ์ CA1447 และพันธุ์จักรพรรดิ แม่พันธุ์ $KY16BC_3F_1CA1450$, $KY16BC_3F_1CA1445$, $PP32BC_3F_1CA1450$ และ $PP32BC_3F_1CA1445$ มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวกของจำนวนผลต่อต้น น้ำหนักผล ความยาวผล และความกว้างพ่พันธุ์ CA1447, CA1448 และ CA1449 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวกของจำนวนผลต่อต้น ผลผลิต น้ำหนักผลต่อต้น และความยาวผล ลูกผสมบางคู่ที่ได้จากพ่อแม่พันธุ์เหล่านี้ยังมีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวกของผลผลิต จำนวนผลต่อต้นและน้ำหนักผลเฉลี่ย ลูกผสมส่วนใหญ่แสดงความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวกของผลผลิต จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักผลความกว้างผล และความยาวผล ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ และ $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ เหมาะสมสำหรับใช้เป็นพันธุ์พริกลูกผสม

คำสำคัญ: พริก พันธุ์ลูกผสม ความสามารถในการรวมตัว ความดีเด่นของลูกผสม

คำนำ

พริก (*Capsicum* spp.) เป็นพืชในวงศ์ Solanaceae มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา (Purseglove, 1968) พริกเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย ใช้เพิ่มรสชาติ กลิ่น และสีของอาหาร ในปี 2553 มีพื้นที่เพาะปลูกพริกมากถึง 474,717 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2554) แต่ผลผลิตพริกยังไม่เพียงพอต่อความต้องการภายในประเทศ จากสถิติของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2554) ประเทศไทยนำเข้าพริกแห้งจากต่างประเทศ ตั้งแต่ปี 2552-2553 มูลค่าเฉลี่ย 889,523,000 บาท เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของผลผลิตและคุณภาพของผลผลิตพริกภายในประเทศ ซึ่งเกิดจากการที่เกษตรกรใช้พันธุ์พริกพื้นเมือง การใช้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะได้พริก คุณภาพดี ผลผลิตสูง และตรงตามความต้องการของตลาด แต่เมล็ดพันธุ์ลูกผสมมีราคาแพง เพราะต้องใช้แรงงานในการตอน เกสรเพศผู้ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง การใช้พันธุ์แม่ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมช่วยลดต้นทุนการผลิต (Meshram *et al.*, 1992) การผลิตเมล็ดพันธุ์พริก

ลูกผสมโดยอาศัยลักษณะเพศผู้เป็นหมันซึ่งถูกควบคุมโดยยีนใน ไชโทพลาซึมร่วมกับยีนด้อยในนิวเคลียส Peterson (1985) พบว่า พันธุ์กรรมที่ควบคุมความเป็นหมัน แสดงออกเมื่ออยู่ในไชโทพลาซึมแบบ S msms เท่านั้น ถ้ามียีนอื่นจะไม่แสดงออก พริกที่มียีนอื่นจะมีเกสรเพศผู้ปกติ ลักษณะเพศผู้เป็นหมันที่มียีนเพศผู้เป็นหมันในไชโทพลาซึมร่วมกับยีนด้อยในนิวเคลียสมีข้อดีมากกว่าลักษณะเพศผู้เป็นหมันที่มียีนเพศผู้เป็นหมันในนิวเคลียส เพราะการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมได้รุ่นลูกที่มีเพศผู้เป็นหมันทั้งหมด (Shifriss, 1997) การศึกษาความสามารถในการรวมตัวทั่วไป และความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงนั้น ใช้เพื่อประเมินความสามารถของพ่อแม่ว่าจะให้ลูกผสมที่มีลักษณะที่ดีมากขึ้นเพียงใด และจากการศึกษาความดีเด่นของพริกลูกผสมพบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีระดับความดีเด่นสูงเกินกว่าพ่อแม่ในลักษณะส่วนใหญ่ เช่น จำนวนผล วันออกดอก ความสูงต้น ความยาวผล เส้นผ่าศูนย์กลางผล น้ำหนักผลต่อต้น (Lee *et al.*, 1989) การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแม่พันธุ์พริกหนุ่มเขียวที่มีลักษณะที่ดี เพศผู้

เป็นหมัน และมีความสามารถในการรวมตัวของลักษณะทางพืชสวน สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับของพริกหนุ่มเขียว (backcross method)

เพาะเมล็ดพริกหนุ่มเขียวลูกผสมชั่วที่ 1 ที่มีลักษณะเพศผู้เป็นหมันจำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ KY16 × CA1445, KY16 × CA1450, PP32 × CA1445 และ PP32 × CA1450 เป็นแม่พันธุ์ และพริกหนุ่มเขียวพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ CA1445 และ CA1450 เป็นพ่อพันธุ์ จากโครงการปรับปรุงพันธุ์พริกหนุ่มที่ความเผ็ดคงที่และปราศจากความขม ภาควิชาพืชศาสตร์ และ ปฐพี ศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งพันธุ์พริกหนุ่มเขียวลูกผสมชั่วที่ 1 ได้มาจากการผสมพันธุ์ระหว่างแม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A line) จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ KY16 และ PEPAC32 กับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน (B line) จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ CA1445 และ CA1450 ทำการทดลองที่สาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพี ศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ ณ ศูนย์วิจัย สาคิต และฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิยะ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผสมพันธุ์พริกทั้งสองโดยใช้วิธีผสมกลับระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 เพศผู้เป็นหมันจำนวน 4 พันธุ์ กับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ CA1445 และ CA1450 เพื่อผลิตเมล็ดแม่พันธุ์พริกผสมกลับชั่วที่ 3 (BC_3F_1) เมื่อดันพริกติดผลและพัฒนาเป็นผลสุกแดง เก็บผลพริก แคเมล็ด ตากเมล็ดไว้ในที่ร่มและมีอากาศถ่ายเทสะดวก นำเมล็ดพริกที่ได้มาปลูกต่อเพื่อประเมินพันธุกรรมในลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันในไซโทพลาซึม ด้วยวิธีตรวจสอบความมีชีวิตของเรณูในลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) พันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_1) และพันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) เพื่อให้ได้แม่พันธุ์พริกผสมกลับชั่วที่ 3 (BC_3F_1) ที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน ตรวจสอบความมีชีวิตของเรณูจากการย้อมสี (Gulyas *et al.*, 2006) เพื่อประเมินลักษณะพันธุกรรมของพ่อพันธุ์ ดังนี้

ก. ลูกผสมที่ไม่มีเรณู หรือ ย้อมสีเรณูไม่ติดสี ทั้ง 30 ต้น แสดงว่าต้นพ่อพันธุ์ของลูกผสมนี้มียีนที่ควบคุมลักษณะความเป็นหมันในนิวเคลียสเป็น msms และพันธุกรรมในไซโทพลาซึมไม่เป็นหมันหรือปกติ (N)

ข. ลูกผสมที่ย้อมสีเรณูติดสีทั้ง 30 ต้น แสดงว่าต้นพ่อพันธุ์ของลูกผสมนี้มียีนที่ควบคุมลักษณะความเป็นหมัน ในนิวเคลียสเป็น MsMs และพันธุกรรมในไซโทพลาซึมอาจเป็นปกติ (N) หรือเป็นหมัน (S)

ค. ลูกผสมที่ย้อมสีเรณูบางต้นย้อมติดสี และบางต้นย้อมไม่ติดสีปนกัน แสดงว่าต้นพ่อพันธุ์ของลูกผสมนี้มียีนที่ควบคุมลักษณะความเป็นหมันในนิวเคลียสเป็น Msms และพันธุกรรมในไซโทพลาซึมอาจเป็นปกติ (N) หรือเป็นหมัน (S)

การประเมินความสามารถในการรวมตัว

เพาะเมล็ดพันธุ์พริกผสมกลับชั่วที่ 3 ที่มีลักษณะเพศผู้เป็นหมัน จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ KY16 × CA1445, KY16 × CA1450, PP32 × CA1445 และ PP32 × CA1450 เป็นแม่พันธุ์ กับพันธุ์เพศผู้ปกติ 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ CA1447, CA1448 และ CA1449 เป็นพ่อพันธุ์ ผสมพันธุ์พริกทั้งสองเพื่อนำมาปลูกเปรียบเทียบกับพ่อแม่พันธุ์ และพันธุ์การค้า จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์จักรพรรดิ และ แม่โป่ง 80 ทำการทดลองในฤดูฝน เดือนมิถุนายน 2556 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก ประเมินความสามารถในการรวมตัวโดยใช้ Line × Tester Analysis ตามวิธีของ Kempthorne (1957) และคำนวณความดีเด่นของลูกผสม (ดำเนิน, 2545)

ผลการศึกษา

จากการประเมินลักษณะพันธุกรรมเพศผู้เป็นหมันโดยวิธีตรวจสอบความมีชีวิตของเรณูของพริกพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 1 พันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 2 และพันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 3 ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพริกหนุ่มเขียวพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันพันธุ์ CA1445 และ CA1450 กับแม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน พันธุ์ KY16 และ PP32 พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ PP32 × CA1450 และ PP32 × CA1445 เป็นหมันทุกต้น โดยพันธุ์ KY16 ×

CA1450 มีต้นไม่เป็นหมันและต้นเป็นหมันปนกัน โดยเรณู
 ย่อมติดสีเล็กน้อย 10 ต้น และย่อมไม่ติดสี 20 ต้น และ
 KY16 × CA1445 มีต้นไม่เป็นหมันและต้นเป็นหมันปนกัน
 โดยเรณูย่อมติดสีเล็กน้อย 8 ต้น และย่อมไม่ติดสี 22 ต้น
 พันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 1 พันธุ์ PP32 × CA1450, PP32 ×
 CA1445 และ KY16 × CA1445 เป็นหมันทุกต้นโดยเรณู
 ย่อมไม่ติดสี ส่วนพันธุ์ KY16 × CA1450 มีต้นไม่เป็นหมัน
 และต้นเป็นหมันปนกัน โดยเรณูย่อมติดสี 5 ต้น และย่อม
 ไม่ติดสี 25 ต้น ส่วนพันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 2 และพันธุ์ผสม
 กลับชั่วที่ 3 ทุกพันธุ์เป็นหมันหมดทุกต้น โดยเรณูย่อมไม่
 ติดสี (ตารางที่ 1)

การเปรียบเทียบพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 กับพ่อแม่
 พันธุ์ และพันธุ์การค้าจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์จักรพรรดิ
 และแม่ปิง 80 พบว่าผลผลิตของพริกพันธุ์ทดสอบทั้งหมด
 ในฤดูฝน ปี 2556 อยู่ในช่วง 2,499.92 ถึง 9,785.60
 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง
 สถิติ โดยลูกผสมชั่วที่ 1 KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448
 ให้ผลผลิตสูงสุดในพริกพันธุ์ทดสอบเท่ากับ 9,785.60
 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง
 สถิติกับพันธุ์แม่ปิง 80 ลูกผสมชั่วที่ 1
 KY16BC₃F₁CA1450 × CA1448 และ
 PP32BC₃F₁CA1445 × CA1448 ที่ให้ผลผลิตเท่ากับ

Table 1 Fertility of pollen and stability of F1 hybrid and male parent chilies

Variety	Number of plants		Intermediate (%) ^{3/}	Stability (%)
	Fertile	Sterile		
F1				
KY16 × CA1450	-	20S ^{1/} ± 10I ^{2/}	33.33	-
KY16 × CA1445	-	22S ± 8I	26.67	-
PP32 × CA1450	-	30S	0	-
PP32 × CA1445	-	30S	0	-
BC1				
KY16BC1F1CA1450	-	25S ±5I	16.67	83.33
KY16BC1F1CA1445	-	30S	0	100
PP32BC1F1CA1450	-	30S	0	100
PP32BC1F1CA1445	-	30S	0	100
BC2				
KY16BC2F1CA1450	-	30S	0	100
KY16BC2F1CA1445	-	30S	0	100
PP32BC2F1CA1450	-	30S	0	100
PP32BC2F1CA1445	-	30S	0	100
BC3				
KY16BC3F1CA1450	-	30S	0	100
KY16BC3F1CA1445	-	30S	0	100
PP32BC3F1CA1450	-	30S	0	100
PP32BC3F1CA1445	-	30S	0	100

^{1/}S is sterile plants

^{2/}I is incompletely sterile plants with 5% normal pollen

^{3/}Percentage of intermediate

8025.60, 8,053.76 และ 7,687.68 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลูกผสมส่วนใหญ่ พ่อแม่พันธุ์ทั้งหมด และพันธุ์จักรพรรดิ ส่วน KY16BC₃F₁CA1445 × CA1449 ให้ผลผลิตต่ำที่สุด เท่ากับ 2,506.24 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแม่พันธุ์ทั้งหมดและพ่อพันธุ์ CA1448 แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลูกผสมส่วนใหญ่ พ่อพันธุ์เพศผู้ปลูกดีส่วนใหญ่ และพันธุ์การค้าทั้งหมด (ตารางที่ 2)

ลูกผสมชั่วที่ 1 KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448 ให้น้ำหนักผลต่อต้นสูงสุดในพริกพันธุ์ทดสอบเท่ากับ 2.32 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์แม่ปิง 80 ลูกผสมชั่วที่ 1 KY16BC₃F₁CA1450 × CA1448 และ PP32BC₃F₁CA1445 × CA1448 ที่ให้น้ำหนักผลต่อต้นเท่ากับ 1.90, 1.91 และ 1.82 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลูกผสมส่วนใหญ่ แม่พันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันทั้งหมด พ่อพันธุ์

Table 2 Horticultural characteristics of chilies

Variety	Yield (kg/rai)	Fruit weight per plant (kg)
F1 hybrid		
KY16BC3F1CA1450 × CA1447	5,251.84 c-g ^{1/}	1.24 c-g ^{1/}
KY16BC3F1CA1450 × CA1448	8,053.76 Ab	1.91 ab
KY16BC3F1CA1450 × CA1449	4,125.44 e-h	0.98 e-h
KY16BC3F1CA1445 × CA1447	5,800.96 b-f	1.37 b-f
KY16BC3F1CA1445 × CA1448	9,785.60 a	2.32 a
KY16BC3F1CA1445 × CA1449	2,506.24 h	0.59 h
PP32BC3F1CA1450 × CA1447	6,321.92 b-e	1.50 b-e
PP32BC3F1CA1450 × CA1448	6,209.28 b-f	1.47 b-f
PP32BC3F1CA1450 × CA1449	3,956.48 e-h	0.94 e-h
PP32BC3F1CA1445 × CA1447	6,899.20 bcd	1.63 bcd
PP32BC3F1CA1445 × CA1448	7,687.68 abc	1.82 abc
PP32BC3F1CA1445 × CA1449	3,139.84 g-h	0.74 g-h
Female parent		
CA1450-7-10-32	4,590.08 d-h	1.09 d-h
CA1445-2-6-11	3,703.04 f-h	0.88 f-h
Male parent		
CA1447-3-2-1	6,378.24 b-e	1.51 b-e
CA1448-2-9	2,449.92 h	0.58 h
CA1449-3-9-13-2	5,336.32 c-g	1.26 c-g
Commercial variety		
JAKKRAPAT	6,828.80 bcd	1.62 bcd
MAE-PING 80	8,025.60 ab	1.90 ab
CV (%)	35.98	35.98

^{1/}Means with in the same column followed by different letters differ at P < 0.05 according to least significant difference

เพศผู้ปกติทั้งหมดและพันธุ์จักรพรรดิ ส่วน KY16BC₃F₁CA1445 × CA1449 ให้น้ำหนักผลต่อต้นต่ำที่สุด เท่ากับ 0.59 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแม่พันธุ์ทั้งหมด แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์ลูกผสมส่วนใหญ่ พันธุ์เพศผู้ปกติส่วนใหญ่ และพันธุ์การค้าทั้งหมด (ตารางที่ 2)

การประเมินความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในแม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน พบว่า KY16BC₃F₁CA1450 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของจำนวนผลต่อต้น KY16BC₃F₁CA1445 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

การประเมินความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในแม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน พบว่า KY16BC₃F₁CA1450 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของจำนวนผลต่อต้น KY16BC₃F₁CA1445 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของน้ำหนักต่อผล และความยาวผล PP32BC₃F₁CA1450 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของจำนวนผลต่อต้น และ PP32BC₃F₁CA1445 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของความยาวผล (ตารางที่ 3) ส่วนพ่อพันธุ์เพศผู้ปกติ พบว่า CA1447-3-2-1

Table 3 Estimates of gca and sca effects for horticultural characteristics of chilies

Variety	Yield kg./rai	Fruit weight per plant (kg.)	Fruit number per plant	Fruit weight (g)	Fruit length (cm)	Fruit width (cm)
general combining ability, gca						
KY16BC3F1CA1450	-1.17	0.00	4.81**	-2.01*	-0.69**	-0.02
KY16BC3F1CA1445	219.41	0.05	-4.31**	3.16**	0.71**	0.09*
PP32BC3F1CA1450	-315.66	-0.08*	2.14**	-2.55**	-1.00**	-0.04
PP32BC3F1CA1445	97.39	0.02	-2.64**	1.40	0.98**	-0.03
CA1447-3-2-1	256.96	0.06	1.03**	0.86	-0.25	0.04
CA1448-2-9	2122.56**	0.50**	18.69**	-1.03	-0.13	-0.07*
CA1449-3-9-13-2	-2379.52**	-0.56**	-19.72**	0.18	0.38**	0.03
specific combining ability, sca						
KY16BC3F1CA1450 × CA1447	-815.467**	-0.193**	1.861**	-5.684	-2.459**	-0.024
KY16BC3F1CA1450 × CA1448	120.853	0.029	-0.806	0.896	1.036**	0.083
KY16BC3F1CA1450 × CA1449	694.614*	0.164*	-1.056*	4.787**	1.423**	-0.059
KY16BC3F1CA1445 × CA1447	-486.933	-0.115	-2.694**	0.042	-1.043**	0.002
KY16BC3F1CA1445 × CA1448	1,632.107**	0.386**	4.639**	3.539*	0.911**	0.098
KY16BC3F1CA1445 × CA1449	-1,145.175**	-0.271**	-1.944**	-3.581*	0.132	-0.100
PP32BC3F1CA1450 × CA1447	569.066	0.135*	0.861	1.628	2.717**	-0.072
PP32BC3F1CA1450 × CA1448	-1,409.174**	-0.334**	-4.472**	-2.759	-2.556**	-0.132*
PP32BC3F1CA1450 × CA1449	840.174**	0.119**	3.611**	1.132	-0.161	0.203**
PP32BC3F1CA1445 × CA1447	733.333*	0.174*	-0.028	4.014*	0.785**	0.094
PP32BC3F1CA1445 × CA1448	-343.787	-0.081	0.639	-1.676	0.609*	-0.049
PP32BC3F1CA1445 × CA1449	-389.546	-0.092	-0.611	-2.338	-1.394**	-0.044

*significant difference at P<0.05, ** significant difference at P<0.01

มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของจำนวนผลต่อต้น CA1448-2-9 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น จำนวนผลต่อต้น และ CA1449-3-9-13-2 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของลักษณะความยาวผล (ตารางที่ 3)

การประเมินความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงของผลผลิต พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1449$, $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$, $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1449$ และ $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1447$ มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 0 ไปทางบวก น้ำหนักผลต่อต้น พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1449$, $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$, $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1447$, $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1449$ และ $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1447$ มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 0 ไปทางบวก จำนวนผลต่อต้น พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1447$, $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ และ $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1449$ มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยิ่งจาก 0 ไปทางบวก น้ำหนักผล พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1449$, $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ และ $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1447$ มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 0 ไปทางบวก (ตารางที่ 3) ลักษณะความยาวผลพบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1448$, $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1449$, $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$, $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1447$, $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1447$ และ $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 0 ไปทางบวก

ลักษณะความกว้างผล พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1449$ มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงแบบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 0 ไปทางบวก (ตารางที่ 3)

การวิเคราะห์ความดีเด่นของลูกผสมชั่วที่ 1 ที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ พบว่า ลักษณะผลผลิตและน้ำหนักต่อต้นมีค่าความดีเด่นของลูกผสมระหว่าง -44.55 ถึง 218.08 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ มีค่าสูงสุด รองลงมาคือลูกผสมชั่วที่ 1 $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1448$, $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1448$, $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1448$, $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1448$, $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1447$ และ $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1447$ ซึ่งความดีเด่นของลูกผสมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวก ลักษณะจำนวนผลต่อต้นมีค่าความดีเด่นของลูกผสมระหว่าง -26.01 ถึง 107.29 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1455 \times CA1448$ มีค่าสูงสุด รองลงมาคือคู่ผสม $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1448$, $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1449$, $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1448$, $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1447$, $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1447$, $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1447$, $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1447$ และ $PP32BC_3F_1CA1450 \times CA1449$ ซึ่งความดีเด่นของลูกผสมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวก ลักษณะน้ำหนักผลมีค่าความดีเด่นของลูกผสม ระหว่าง -45.93 ถึง 47.85 เปอร์เซ็นต์ ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ มีค่าสูงสุด รองลงมา $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ และ $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1448$ ซึ่งความดีเด่นของลูกผสมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวก ลักษณะความยาวผลมีค่าความดีเด่นของลูกผสม ระหว่าง -34.51 ถึง 20.61 เปอร์เซ็นต์ ลูกผสมชั่วที่ 1 $KY16BC_3F_1CA1445 \times CA1448$ มีค่าสูงสุด รองลงมา $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1448$, $KY16BC_3F_1CA1450 \times CA1448$ และ $PP32BC_3F_1CA1445 \times CA1447$ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวก และลักษณะความกว้างผลมีค่าความดีเด่นของลูกผสม

ระหว่าง -60.95 ถึง 18.65 เปอร์เซ็นต์ ลูกผสมชั่วที่ 1
KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448 มีค่าสูงสุด รองลงมา
KY16BC₃F₁CA1450 × CA1448, PP32BC₃F₁CA1445 ×

CA1448, PP32BC₃F₁CA1450 × CA1449 และ
KY16BC₃F₁CA1445 × CA1447 ซึ่งมีความแตกต่างอย่าง
มีนัยสำคัญทางสถิติในทางบวก (ตารางที่ 4)

Table 4 Heterosis of F1 hybrid chilies

Variety	Heterosis (%Hp)					
	Yield kg/rai	Fruit weight per plant (kg)	Fruit number per plant	Fruit weight (g)	Fruit length (cm)	Fruit width (cm)
KY16BC3F1CA1450 × CA1447	-4.24	-4.24 **	75.53 **	-45.93 **	-34.51 **	-60.95 **
KY16BC3F1CA1450 × CA1448	128.80 **	128.80 **	106.90 **	8.26 *	3.90 **	9.35 **
KY16BC3F1CA1450 × CA1449	-16.88 **	-16.88 **	2.17	-16.35 *	-5.30 **	-9.06 **
KY16BC3F1CA1445 × CA1447	15.08 **	15.08 **	40.11 **	-16.88 **	-12.08 **	0.96 **
KY16BC3F1CA1445 × CA1448	218.08 **	218.08 **	107.29 **	47.85 **	20.61 **	18.65 **
KY16BC3F1CA1445 × CA1449	-44.55 **	-44.55 **	-26.01 **	-21.70 *	0.51	-4.17 **
PP32BC3F1CA1450 × CA1447	15.28	15.28 **	63.83 **	-29.60 **	-3.39 **	-9.82 **
PP32BC3F1CA1450 × CA1448	76.40 **	76.40 **	88.18 **	-8.43	-25.27 **	-2.44 **
PP32BC3F1CA1450 × CA1449	-20.28 **	-20.28 **	8.70 **	-27.21 **	-17.39 **	1.36 **
PP32BC3F1CA1445 × CA1447	36.87 **	36.87 **	54.80 **	-11.38	2.02 *	-0.22
PP32BC3F1CA1445 × CA1448	149.89 **	149.89 **	100.00 **	18.39 *	20.34 **	4.77 **
PP32BC3F1CA1445 × CA1449	-30.53 **	-30.53 **	-15.61 **	-23.10 **	-7.98 **	-6.95 **

*significant difference at $P < 0.05$, ** significant difference at $P < 0.01$. %Hp is heterosis over mid-parents = $(F1 - MP) 100/MP$



Figure 1 Fruit characteristics of F1 hybrid varieties (a) KY16BC3F1CA1445 × CA1448, (b) KY16BC3F1CA1450 × CA1448

วิจารณ์ผล

การประเมินพันธุกรรมของพริกหนุ่มเขียวพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน พบว่า พันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันพันธุ์ CA1450 และ CA1445 มีพันธุกรรมแบบ N msms มีความเสถียรสูง สอดคล้องการประเมินพันธุกรรมโครงการประเมินเชื้อพันธุกรรมพริกหนุ่มเขียว (Nikompun *et al.*, 2009) ถึงแม้ว่าจะตรวจพบความมีชีวิตของเรณูปนเปื้อนอยู่ในรุ่น F_1 และ BC_1F_1 อาจเกิดจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม สอดคล้องกับการศึกษาของ Peterson (1985) รายงานว่า การปนเปื้อนอาจเกิดจากอุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อการแสดงออกการเป็นหมันในเกสรเพศผู้ และอุณหภูมิจะชักนำให้เรณูเป็นหมันในระดับที่ต่างกัน ลักษณะเพศผู้เป็นหมันในไซโทพลาซึมเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไซโทพลาซึมที่เป็นหมันกับยีนด้อยในนิวเคลียสซึ่งยีนในไซโทพลาซึมจะถ่ายทอดจากแม่ไปยังลูก (Gulyas *et al.*, 2006)

การเปรียบเทียบพริกพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 กับพ่อแม่พันธุ์และพันธุ์การค้า พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 ส่วนใหญ่ให้ผลผลิต น้ำหนักต่อผล น้ำหนักผลต่อต้น สูงกว่าพ่อแม่พันธุ์ และพันธุ์การค้า (ขวัญดาว และ มณีจักร, 2558) สอดคล้องกับ Payakhapaab *et al.* (2012) รายงานว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 ให้ผลผลิตสูง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพ่อแม่พันธุ์และพันธุ์การค้า ลูกผสมส่วนใหญ่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์การค้า การแสดงออกของแต่ละลักษณะเป็นผลจากอิทธิพลของพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม (กฤษฎา และ มณีจักร, 2544)

เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัว พบว่า แม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน KY16BC₃F₁CA1445 และ PP32BC₃F₁CA1445 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปในทางบวกไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของลักษณะผลผลิต น้ำหนักผลต่อต้น ส่วนพ่อพันธุ์เพศผู้ปกติ CA1448 มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของลักษณะผลผลิต น้ำหนักผลต่อต้นและจำนวนผลต่อต้น ลูกผสมที่ได้จากพ่อแม่พันธุ์ข้างต้น KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448 แสดงความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงทางบวกของผลผลิต น้ำหนักผลต่อต้น

น้ำหนักผล ความยาวผล และความกว้างผล แสดงให้เห็นว่า พ่อแม่พันธุ์ที่มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปดีทำให้ลูกผสมมีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงสูงตาม สอดคล้องกับ Khalil *et al.* (2004) รายงานว่า ลูกผสมที่มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงสูงเกี่ยวข้องกับพ่อแม่ที่มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปดี

ความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่เมื่อใช้แม่พันธุ์ KY16BC₃F₁CA1450 พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 KY16BC₃F₁CA1450 × CA1448 มีความดีเด่นของลูกผสมทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักต่อผล ความยาวผล และความกว้างผล เมื่อใช้แม่พันธุ์ KY16BC₃F₁CA1445 พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448 มีความดีเด่นของลูกผสมทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักต่อผล ความยาวผล และความกว้างผล ส่วนเมื่อใช้แม่พันธุ์ PP32BC₃F₁CA1450 พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 PP32BC₃F₁CA1450 × CA1448 มีความดีเด่นของลูกผสมทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น และจำนวนผลต่อต้น และเมื่อใช้แม่พันธุ์ PP32BC₃F₁CA1445 พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 PP32BC₃F₁CA1445 × CA1448 มีความดีเด่นของลูกผสมทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักต่อผล ความยาวผล และความกว้างผล สอดคล้องกับการศึกษาของ Sood and Kumar (2010) ที่รายงานว่า ความดีเด่นของลูกผสมในลักษณะผลผลิตจะมาพร้อมกับความดีเด่นของลูกผสมในลักษณะองค์ประกอบของผลผลิต ซึ่งการศึกษาโดยทั่วไปต้องการความดีเด่นของลูกผสมในลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตทางบวก แต่มีบางลักษณะที่ต้องการทางลบ เช่น ความสูงต้น จำนวนวันเก็บเกี่ยว เป็นต้น (Bhagyalakshmi *et al.*, 1991) โดยเฉพาะลูกผสมชั่วที่ 1 KY16BC₃F₁CA1450 × CA1448 และ KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448 พบว่ามีความดีเด่นของลูกผสมทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักผลต่อต้น

น้ำหนักต่อผล ความยาวผล และความกว้างผล สอดคล้องกับการศึกษาของ Lee *et al.* (1989) รายงานว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีระดับความดีเด่นสูงเกินกว่าพ่อแม่ในลักษณะน้ำหนักผลต่อต้น ความยาวผล วันออกดอก ความสูงต้น เส้นผ่าศูนย์กลางผล และองค์ประกอบทางเคมีของพริก การเกิดความดีเด่นของลูกผสมในแต่ละลักษณะเกิดจากการกระทำของยีนที่สลับซับซ้อนมาก ซึ่งสิ่งแวดล้อมมีผลมาก (ดำเนิน, 2545)

สรุป

พริกพันธุ์ CA1450 และ CA1445 ทั้งสองพันธุ์มีพันธุกรรมควบคุมลักษณะความเป็นหมันแบบ N msms ที่มีความเสถียรสูง เหมาะสำหรับใช้เป็นพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน เพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์หรือนำไปใช้ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมทางการค้า ซึ่งลูกผสมชั่วที่ 1 ส่วนใหญ่ให้ผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น สูงกว่าแม่พันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน พ่อพันธุ์เพศผู้ปกติ และพันธุ์การค้าทางด้านความสามารถในการรวมตัว แม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมันและพ่อพันธุ์เพศผู้ปกติทั้งหมด มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปทางบวกที่ดี และเมื่อนำพ่อแม่พันธุ์ข้างต้นมาผสมพันธุ์ทดสอบ พบว่า เมื่อใช้แม่พันธุ์ KY16BC₃F₁CA1450 พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 มีความดีเด่นของลูกผสมทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น จำนวนผลต่อต้น น้ำหนักต่อผล ความยาวผล และความกว้างผล เมื่อใช้แม่พันธุ์ PP32BC₃F₁CA1450 พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 มีความดีเด่นของลูกผสมทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น และ จำนวนผลต่อต้น และเมื่อใช้แม่พันธุ์ PP32BC₃F₁CA1445 พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 มีความดีเด่นของลูกผสมทางบวกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักผลต่อต้น น้ำหนักต่อผล ความยาวผล และความกว้างผล

จากการศึกษา พบว่า พริกหนุ่มเขียวพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน CA1450 และ CA1445 เหมาะสำหรับใช้เป็นพ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันในการผลิตแม่พันธุ์พริกหนุ่มเขียวเพศผู้เป็นหมัน เนื่องจากมีลักษณะความเป็นหมันแบบ N msms ที่มีความเสถียรสูง และมีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปที่ดี ส่วนพันธุ์เพศผู้ปกติ CA1448 เหมาะที่จะใช้เป็นพ่อพันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 เนื่องจากมีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปที่ดี และลูกผสมชั่วที่ 1 KY16BC₃F₁CA1450 × CA1448 และ KY16BC₃F₁CA1445 × CA1448 มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะเจาะจงที่ดี และยังมีค่าความดีเด่นของลูกผสมที่ดีจึงสามารถนำไปใช้เป็นพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ในทางการค้าได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่สนับสนุนทุนการศึกษาวิจัย และ ศูนย์วิจัยสายิตและฝึกอบรมการเกษตร แม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทดลอง และขอขอบพระคุณ ดร.วีรพันธ์ กันแก้ว ที่ให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์ข้อมูลจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2554. "การปลูกพริกเพื่อการค้า". (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://esc.agritech.doae.go.th/webpage/e-book/chili.pdf> (1 สิงหาคม 2554).
- กฤษฎา สุขวิวัฒน์ และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2544. การพัฒนาพ่อแม่พันธุ์ลูกผสมชั่วที่หนึ่งของพริกเผ็ด. วารสารเกษตร 17(2): 125-135.
- ขวัญดาว แก้วสมบัติ และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2558. ความสามารถในการรวมตัวของลักษณะผลผลิตของพริกที่ใช้แม่พันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน. วารสารเกษตร 31(2): 155-165.

- ดำเนิน กาละดี. 2545. เทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์พืช. โรงพิมพ์เมืองเชียงใหม่, เชียงใหม่. 256 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. "พริกแห้ง: สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ". (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://www.oae.go.th/download/journal/statistics53.pdf> (1 สิงหาคม 2554).
- Bhagyalakshmi, P.V., C.R. Shankar, D. Subrahmanyam and V.G. Babu. 1991. Heterosis and combining ability studies in chillies. The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 51: 420-423.
- Gulyas, G., K. Pakozdi, J.S. Lee and Y. Hirata. 2006. Analysis of fertility restoration by using cytoplasmic male-sterile red pepper (*Capsicum annuum* L.) lines. Breeding Science 56: 331-334.
- Khalil, R.M., F.A. Ali, A.M. Metwally and S.T. Farag. 2004. Breeding studies on pepper. Acta Horticulturae 637: 161-168.
- Kemphorne, O. 1957. The Design and Analysis of Experiments. Robert E. Krieger Publ. Co. Inc., New York. 631 p.
- Lee, Y.M., D.Y. Shim and B.S. Kwon. 1989. Heterosis of quantitative character in pepper (*Capsicum annuum* L.). Korean Journal of Breeding 21: 28-34.
- Meshram, L.D., R.V. Choudhari, B.K. Kukade and M.W. Marawar. 1992. Functional male sterility in hot chili (*Capsicum annuum* L.). Eucarpia VIIth Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant 2: 61-65.
- Nikornpun, M., K. Sukwiwat, C. Chaimokol, A. Payakhapaab and D. Boonyakiat. 2009. Morphological descriptors and male sterility in the genetic diversity of chillies (*Capsicum annuum* L.). Acta Horticulturae 809: 201-208.
- Payakhapaab, S., D. Boonyakiat and M. Nikornpun. 2012. Evaluation of heterosis and combining ability of yield components in chillies. Journal of Agricultural Science 4(11): 154 p.
- Peterson, P.A. 1985. Cytoplasmically inherited male sterility in *Capsicum*. The American Naturalist 92: 111-119.
- Purseglove, J.W. 1968. Tropical Crops Dicotyledons 2. Longmans Green and Co. Ltd., London. 719 p.
- Shifriss, C. 1997. Male sterility in pepper (*Capsicum annuum* L.). Euphytica 93: 83-88.
- Sood, S., and N. Kumar. 2010. Heterosis for fruit yield and related horticultural traits in bell pepper. International Journal of Vegetable Science 16(4): 361-373.

ผลของพาโคลบิวทราโซลต่อการเติบโตทางกิ่งใบของมะเกี๋ยง

Effect of Paclobutrazol on Vegetative Growth of *Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*

ธัญวรรณ์ วงเวียน^{1/} และ ดรุณี นภาพรม^{1*}
Thunwarut Wongwian^{1/} and Daruni Naphrom^{1*}

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/}Department of Plant Science and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

*Corresponding author: Email: daruni.n@cmu.ac.th

(Received: 11 February 2016; Accepted: 15 August 2016)

Abstract: Makiang (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) is a local fruit tree grown widely in northern Thailand. Fresh fruit can be processed to many products. In addition, it contains antioxidant agents which can be utilized in medicinal purpose. However, commercial cultivation of Makiang's orchard was rarely found. Naturally, Makiang trees grow from seeds and they grow vigorously to very high trunk. Therefore, it is difficult to harvest. This research aimed to study the effect of paclobutrazol (Pbz) on vegetative growth of Makiang tree. Experiment was carried out at Mae Hia Agricultural Research, Demonstrative, and Training Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. Three years old grafted Makiang trees were selected uniformly. The experimental design was completely randomized design (CRD) with 5 replications and 4 Pbz soil drenching treatments; 0 (control), 1.5, 2.5, and 3.5 g a.i. per tree. The results showed that the Pbz treatments significantly reduced vegetative growth. The 3.5 g a.i. treatment reduced canopy height approximately 30 percentage as compared to control. Increasing in Pbz concentrations tended to have stronger effect on the reduction of canopy height, shoot length, internode length, and leaf size. Furthermore, total chlorophyll contents in leaves tended to increase as compared to control. In conclusion Pbz could control vegetative growth in Makiang tree by reducing plant height. It can help cultural practice and harvesting more convenient and fruit qualities should be developed commercially further.

Keywords: Growth retardants, gibberellin biosynthesis inhibitor, cell elongation

บทคัดย่อ: มะเกี๋ยง (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) เป็นไม้ผลพื้นเมืองที่เจริญเติบโตและพบมากในภาคเหนือของประเทศไทย ผลของมะเกี๋ยงสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด เนื้อผลมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ แต่ในปัจจุบันการปลูกมะเกี๋ยงเชิงการค้ายังมีไม่มากนัก เนื่องจากต้นมะเกี๋ยงส่วนใหญ่ปลูกจากเมล็ด มีการเจริญเติบโตทางกิ่งใบดี ลำต้นสูง ยากต่อการเก็บเกี่ยวผลผลิต งานวิจัยนี้จึงทำเพื่อศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตทางกิ่งใบของต้นมะเกี๋ยง โดยเลือกต้นมะเกี๋ยงที่มีการเสียบยอดขนาดต้นสม่ำเสมอ อายุ 3 ปี ในแปลงปลูก ณ ศูนย์วิจัย สาธิต และฝึกอบรมการเกษตร แม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่การราดพาโคลบิวทราโซลทางดิน อัตรา 0 (กรรมวิธีควบคุม), 1.50, 2.50, และ 3.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ต่อต้น ผลการทดลองพบว่าสารพาโคลบิวทราโซลทุกอัตรา ทำให้การเจริญเติบโตทางกิ่งใบของต้นมะเกี๋ยงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารพาโคลบิวทราโซลอัตราสูงสุด คือ 3.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ ทำให้ความสูงของต้นมะเกี๋ยงลดลงได้ประมาณร้อยละ 30 เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม แต่ไม่ต่างจากการให้สารพาโคลบิวทราโซลอัตราอื่น ทั้งนี้ยังมีแนวโน้มทำให้ความยาวยอดใหม่ ความยาวปล้องและขนาดใบลดลงตามความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ดังนั้นการใช้สารพาโคลบิวทราโซลสามารถควบคุมการเจริญเติบโตทางกิ่งใบของต้นมะเกี๋ยงและลดความสูงต้น ช่วยให้เกิดความสะดวกในการดูแลรักษาและการเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นแนวทางในการพัฒนาคุณภาพของมะเกี๋ยงเชิงการค้าต่อไป

คำสำคัญ: สารชะลอการเจริญเติบโต ด้วยยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน การยืดยาวของเซลล์

คำนำ

มะเกี๋ยงเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Myrtaceae พบมากในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง และน่าน ผลสุกสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด เช่น นำมะเกี๋ยงพร้อมดื่ม โยเกิร์ตมะเกี๋ยง ไวน์มะเกี๋ยง และชา มะเกี๋ยงเป็นต้น (สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง, 2544) ทั้งนี้มะเกี๋ยงยังมีประโยชน์ทางด้านการแพทย์บางประการ พบว่าในผลสุกของมีสารสี (pigment) ในกลุ่มแอนโทไซยานิน ซึ่งจัดว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด (เฉลิม และคณะ, 2551) สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้ (Taya et al., 2009) จะเห็นได้ว่ามะเกี๋ยงเป็นพืชที่น่าจะสามารถยกระดับให้มีความสำคัญเชิงเศรษฐกิจ แต่เนื่องจากการปลูกมะเกี๋ยงเชิงการค้ายังมีไม่มากนัก เพราะในสภาพธรรมชาติ ต้นมะเกี๋ยงมีลำต้นสูง ผลสุกไม่พร้อมกัน การเก็บเกี่ยวจึงใช้วิธีเขย่าต้นให้ผลสุกร่วงลงบนตาข่ายที่ซึ่งรองรับได้ทรงพุ่ม ทำให้ผลผลิตเสียหายมีคุณภาพต่ำ (สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง, 2544)

สำหรับการควบคุมทรงพุ่มในไม้ผลมักจะใช้วิธีการตัดแต่งกิ่ง เพื่อลดความสูงของต้นให้สะดวกต่อการดูแลรักษาและการเก็บเกี่ยว ซึ่งการตัดแต่งกิ่งต้องใช้แรงงานจำนวนมาก และแรงงานต้องมีความชำนาญสูง เพื่อไม่ทำให้ต้นเกิดความเสียหาย จึงทำให้มีค่าใช้จ่ายสูงตามไปด้วย (เฉลิมชัย และคณะ, 2553) สำหรับสารพาโคลบิวทราโซลเป็นสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมนำมาใช้ในการเกษตร เนื่องจากเป็นสารที่ค่อนข้างปลอดภัย และไม่ทำลายสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศน์ สามารถเคลื่อนย้ายได้ดีในท่อลำเลียงน้ำ พืชจึงดูดซับได้ดีเมื่อให้บริเวณราก แล้วส่งผ่านทางท่อน้ำขึ้นไปยังส่วนอื่นๆ ของต้น คุณสมบัติของสารในกลุ่มนี้ คือจะเข้าไปยับยั้งการสร้างหรือการทำงานของจิบเบอเรลลินชั่วคราว ซึ่งบทบาทสำคัญของจิบเบอเรลลินจะเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการเจริญเติบโตทางกิ่งใบ มีผลต่อการยืดยาวของเซลล์ (cell elongation) เมื่อพืชไม่สามารถสร้างจิบเบอเรลลินได้ตามปกติจะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตทางกิ่งใบลดลง ทั้งนี้ยังส่งผลต่อฮอร์โมนพืชในกลุ่มกระตุ้นการเจริญเติบโตอื่นๆ เช่น ออกซิน และไซโทไคนินอีกด้วย (พีรเดช, 2537)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตทางกิ่งใบของต้นมะเกี๋ยง เพื่อเป็นแนวทางในการลดความสูงต้นให้เกิดความสะดวกในการดูแลรักษาและการเก็บเกี่ยว เพื่อการผลิตมะเกี๋ยงเชิงการค้าต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ต้นมะเกี๋ยงที่ใช้ในการทดลอง ปลูกจากต้นกล้าอายุ 12 เดือน ที่ได้มาจากการเพาะเมล็ด ซึ่งปลูกในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2553 และเปลี่ยนยอดเป็นมะเกี๋ยงพันธุ์ Rit. ต.4054 ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2554 ระยะปลูก 4 x 4 เมตร ในแปลงทดลองขนาด 3 ไร่ ของศูนย์วิจัย สหิทธิ และฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เริ่มทำการทดลองในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2557 สุ่มคัดเลือกต้นที่แข็งแรงสม่ำเสมอในพื้นที่ 1 ไร่ จำนวน 20 ต้น ตัดแต่งทรงพุ่มให้มีความกว้างประมาณ 1.5 เมตร ความสูงประมาณ 2.5 เมตร วางแผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่ ราดพาโคลบิวทราโซลทางดินในอัตรา 0 (กรรมวิธีควบคุม), 1.50, 2.50, และ 3.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ต่อต้น บันทึกความสูงต้น โดยวัดจากตำแหน่งของสัญลักษณ์ความสูงที่วัดจากโคนต้นขึ้นมา 5 เซนติเมตร จนถึงจุดที่สูงที่สุดของปลายยอด ทุก ๆ 2 เดือน จำนวน 4 ครั้ง และวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ โดยใช้ใบคู่ที่ 3 ซึ่งเป็นใบที่เจริญเต็มที่ที่ย่อมนที่สุดของกิ่งที่สุ่มคัดเลือกในวันที่วัดความสูงด้วย และสุ่มกิ่งที่แตกใหม่หลังจากการราดสารพาโคลบิวทราโซลจำนวนต้นละ 10 กิ่ง เพื่อใช้ในการบันทึกการเจริญเติบโตทางกิ่งและใบตลอดการทดลอง ทุกเดือนเป็นเวลา 8 เดือน ได้แก่ ความยาวยอดใหม่ ความยาวปล้อง ความยาวก้านใบ ความกว้างและความยาวใบ (ข้อมูลใบบันทึกเป็นระยะเวลา 4 เดือน เนื่องจากใบที่ถูกสุ่มบันทึกข้อมูลหยุดการเจริญเติบโตและเข้าสู่วัยชรา)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. ความสูงต้น ความยาวยอดใหม่ และความยาวปล้อง

ผลการศึกษาพบว่าสารพาโคลบิวทราโซลทุกอัตรา สามารถชะลอการเจริญเติบโตของต้นมะเกี๋ยงโดยลดความสูงต้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับต้นในกรรมวิธีควบคุม (ภาพที่ 1) ซึ่งหลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล 8 เดือน ต้นมะเกี๋ยงที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 3.50, 2.50 และ 1.50 กรัมของสารออกฤทธิ์มีความสูงต้น 3.72, 4.13 และ 4.25 เมตร ตามลำดับ ลดลงร้อยละ 30.07, 22.36 และ 20.11 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับต้นในกรรมวิธีควบคุมซึ่งมีความสูง 5.32 เมตร เช่นเดียวกับการทดลองในแอปริคอต ที่พบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 0.5 และ 2.0 กรัมของสารออกฤทธิ์ต่อต้น สามารถลดการเจริญเติบโตทางกิ่งใบของต้นแอปริคอตได้ (Arzani and Roosta, 2004) ในไม้ผลเขตร้อน Medina - Urrutia (1995) พบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 10 มิลลิกรัมของสารออกฤทธิ์ให้กับมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins อายุ 5 ปี ที่ปลูกในระยะ 4 x 4 เมตร สามารถลดความสูงของทรงพุ่มได้ร้อยละ 30 - 40 และการทดลองในมะม่วงพันธุ์ BARI Aam-3 ซึ่งพบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซล 7,500 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการลดการเจริญเติบโตทางกิ่งใบ ทำให้ความยาวยอด จำนวนใบ และพื้นที่ใบลดลงเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Saker and Rahim, 2012) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาในมะละกอพันธุ์ Sunrise โดยให้สารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีความสูงต้น 3.14 เมตร ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีความสูง 3.50 เมตร (Rodrigue *et al.*, 1995) สอดคล้องกับงานวิจัยของกวีศรี และคณะ (2553) ที่รายงานว่าต้นมะละกอที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีความสูงต้นน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมตลอดการทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลเป็นสารชะลอการเจริญเติบโตที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้น คุณสมบัติสำคัญของสารกลุ่มนี้คือ ยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลินชั่วคราว ทำให้การเจริญเติบโตของพืชเกิดขึ้นช้า ๆ (พีรเดช, 2537; สมบุญ, 2544)

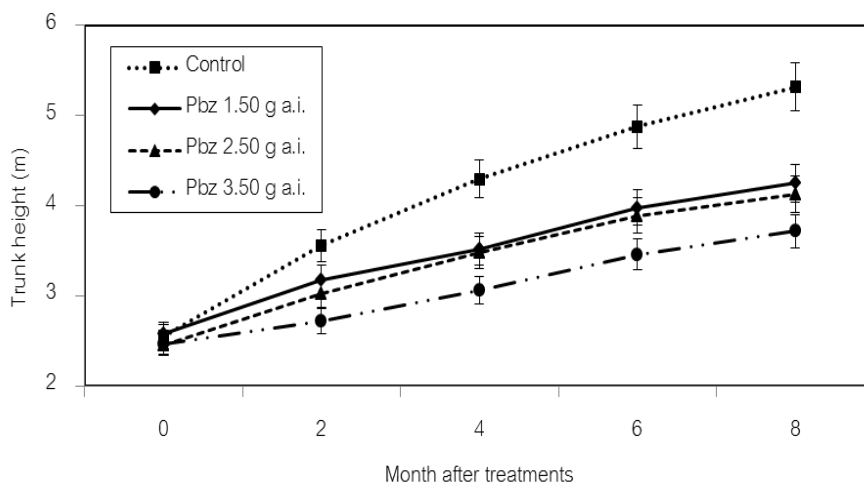


Figure 1 Changes of Makiang trunk height after paclobutrazol treatments

ต้นมะกึ่งที่ยังได้รับการราดพาโคลบิวทราโซลทุกอัตรา มีความยาวของยอดใหม่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยแสดงความแตกต่างภายหลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล 2 เดือน (ภาพที่ 2) เมื่อสิ้นสุดการบันทึกการเจริญเติบโตในเดือนที่ 8 พบว่าต้นมะกึ่งที่ได้รับการราดพาโคลบิวทราโซลทุกอัตรา มีความยาวยอดใหม่ 17.03 - 20.09 เซนติเมตร ซึ่งความยาวยอดใหม่ลดลงร้อยละ 45.79 - 54.05 ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีความยาวยอด 37.06 เซนติเมตร

เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลเข้าไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ cytochrome P450-dependent monooxygenase โดยยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ไม่ให้ ent-Kaurene เปลี่ยนไปเป็น ent-Kaurenoic acid (Rademacher, 2000) การแบ่งเซลล์บริเวณใต้ปลายยอดจึงลดลง มีผลทำให้การยืดตัวของยอดและความสูงของต้นพืชลดลง (สมพร, 2549) เช่นเดียวกับต้นมะม่วงพันธุ์คาราบาว ที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล 1.5 กรัมของสารออกฤทธิ์ พบว่ามีความยาวยอดสั้นกว่ากรรมวิธีควบคุมร้อยละ 32 (Calixto *et al.*, 2000) สำหรับมะม่วงพันธุ์ Fuerte พบว่าความยาวยอดลดลงประมาณร้อยละ 30 หลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล (2% Cultar[®]) (Adato, 1990) กฤษณา และลพ (2554) รายงานว่าการให้สารพาโคลบิวทราโซลทำให้ส้มโอฟันธุ์ทองดีและชาวน้ำผึ้ง มีความยาว

ยอดน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้มีการทดลองเปรียบเทียบสารยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลิน 2 ชนิด ได้แก่ สารพาโคลบิวทราโซล และ prohexadione-Ca ต่อการเจริญเติบโตทางกิ่งใบของท้อพันธุ์ Blanquilla พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีประสิทธิภาพในการลดการเจริญเติบโตทางกิ่งใบมากกว่า โดยให้ความยาวยอดใหม่สั้นกว่า (Asin *et al.*, 2007)

ทั้งนี้ยังพบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีผลในการลดความยาวปล้องของยอดใหม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล 2 เดือน (ตารางที่ 1) ซึ่งหลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล 4 เดือน พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 3.50, 2.50 และ 1.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ ทำให้ต้นมะกึ่งมีความยาวปล้อง 2.53, 2.65 และ 2.80 เซนติเมตร ซึ่งความยาวปล้องลดลงร้อยละ 50.97, 48.64 และ 45.70 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีความยาวปล้อง 5.16 เซนติเมตร แต่อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างการราดสารพาโคลบิวทราโซลทั้ง 3 อัตรา เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลมีผลในการยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลิน ทำให้ปริมาณจิบเบอเรลลินในพืชน้อย บทบาทของจิบเบอเรลลินในต้นพืชจึงลดลง ทำให้ความยาวปล้องสั้นลง ส่งผลให้ความยาวยอดและความสูงของต้นพืชลดลงไปด้วย (สมบุญ, 2548) มีการศึกษาในสตรอว์เบอร์รี พบว่าสารพาโคลบิวทราโซล 90 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถลด

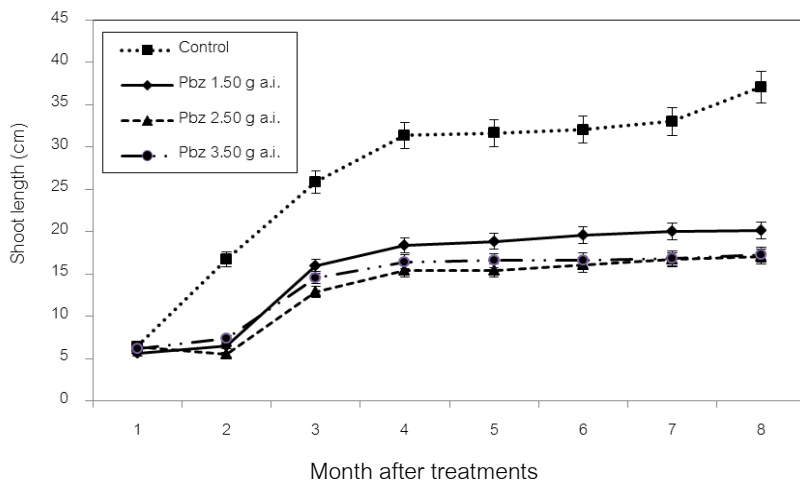


Figure 2 Shoots length of Makiang after paclobutrazol treatments

Table 1 Effect of paclobutrazol on internode length of Makiang shoots

Treatments	Internode length (cm) in each month after treatments			
	1	2	3	4
Control	1.86	3.92 a ^{1/}	4.31 a	5.16 a
Paclobutrazol 1.50 g a.i.	1.80	2.32 b	2.63 b	2.80 ab
Paclobutrazol 2.50 g a.i.	1.41	2.33 b	2.48 b	2.65 ab
Paclobutrazol 3.50 g a.i.	1.44	2.28 b	2.39 b	2.53 b
F-test	ns	*	*	*
LSD _{0.05}	1.41	0.86	0.82	0.63

^{1/} Means in a column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$) by LSD,

ns = not significantly different

ความยาวปล้องของสตรว์เบอร์รี่ ให้เหลือ 6.0 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นที่ไม่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีความยาวปล้อง 8.6 เซนติเมตร (Lolaei *et al.*, 2012)

2. ความยาวก้านใบและขนาดของใบ

การศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อความยาวก้านใบ พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีผลในการลดความยาวก้านใบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่เดือนที่ 2 หลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 2) ซึ่งในเดือนที่ 4 หลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล พบว่าต้นมะเกี๋ยงที่ได้รับการราดสารพาโคลบิวทราโซลทุกอัตรา มีความยาวก้านใบ 1.78-1.88 เซนติเมตร ซึ่งความยาวก้านใบลดลงประมาณร้อยละ

30.88-34.56 เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ที่มีความยาวก้านใบ 2.72 เซนติเมตร แต่อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างการราดสารพาโคลบิวทราโซลทั้ง 3 อัตรา เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลเป็นสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช มีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์บริเวณใต้ปลายยอด ทำให้ความยาวก้านใบ รวมทั้งความยาวยอดและความยาวปล้องลดลง (สมพร, 2549) สอดคล้องกับการทดลองในต้นกล้วยไม้ประดับ พบว่าการให้สารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 0, 100, 200, 300 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ความยาวก้านใบลดลง (นิติพัฒน์, 2557)

การศึกษากการเปลี่ยนแปลงขนาดใบของต้นมะเกี๋ยงหลังการราดพาโคลบิวทราโซล พบว่าต้นมะเกี๋ยงที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลทุกอัตรา มีความยาวใบและ

Table 2 Effect of paclobutrazol on petiole length of Makiang leaves

Treatments	Petiole length (cm) in each month after treatments			
	1	2	3	4
Control	0.80	2.02 a ^{1/}	2.69 a	2.72 a
Paclobutrazol 1.50 g a.i.	0.82	0.97 b	1.81 b	1.88 b
Paclobutrazol 2.50 g a.i.	0.79	0.92 b	1.57 b	1.87 b
Paclobutrazol 3.50 g a.i.	0.80	1.04 b	1.72 b	1.78 b
F-test	ns	*	*	*
LSD _{0.05}	0.47	0.37	0.56	0.51

^{1/} Means in a column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$) by LSD

ns = not significantly different

ความกว้างใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งแสดงความแตกต่างทางสถิติหลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล 3 เดือน (ตารางที่ 3) เมื่อสิ้นสุดการบันทึกการเจริญเติบโตของใบในเดือนที่ 4 พบว่าการราดสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 2.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ ทำให้ต้นมะก๊วยมีความยาวใบเท่ากับ 13.99 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าความยาวของใบจากต้นที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 1.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ แต่ไม่แตกต่างจากใบของต้นที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลที่ 3.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ ซึ่งการราดสารพาโคลบิวทราโซล 3.50 และ 1.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ ทำให้ต้นมะก๊วยมีความยาวใบ 14.43 และ 15.54 เซนติเมตร ซึ่งความยาวใบลดลงร้อยละ 23.49 และ 17.60 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ที่มีมีความยาวใบ 18.86 เซนติเมตร ซึ่งความยาวใบที่ลดลงดังกล่าวนี้ น่าจะเป็นผลมาจากฤทธิ์ของสารพาโคลบิวทราโซลที่ลดการยืดยาวของเซลล์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Cohen *et al.* (2013) พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 1.50 กรัม ทำให้ความยาวใบของต้นอินทผาลัมลดลงมากกว่าร้อยละ 45 เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

ในส่วนของความกว้างใบมะก๊วย พบว่าหลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล 4 เดือน สารพาโคลบิวทราโซลทุกอัตรา ทำให้ต้นมะก๊วยมีความกว้างใบ 6.63-7.12 เซนติเมตร ซึ่งความกว้างใบลดลงร้อยละ 13.17-19.15 ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีความกว้างใบ 8.20 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) การที่ใบมะก๊วยที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีขนาดลดลง เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซล

มีผลในการยับยั้งการแบ่งเซลล์ และการยืดยาวของเซลล์ โดยกลไกการยับยั้งจีเบอเรลลินในพืช ส่งผลให้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มที่มีหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโตชนิดอื่น เช่น ออกซิน มีปริมาณลดลงด้วย ทั้งนี้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 2 ชนิด มีปฏิกริยาร่วมกันในการกระตุ้นและสร้างเนื้อเยื่อเจริญ เมื่อปริมาณจีเบอเรลลินลดลง ทำให้บทบาทของออกซิน ที่เกี่ยวกับการขยายขนาดของเซลล์ (cell enlargement) ลดลงด้วย (สัมฤทธิ์, 2544) เช่นเดียวกับการศึกษาในต้นเงาะ พบว่าสารพาโคลบิวทราโซล 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการลดพื้นที่ใบของต้นเงาะมากที่สุดประมาณ 30.8 ตารางเซนติเมตร ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีพื้นที่ใบ 40.31 ตารางเซนติเมตร (สมพร, 2555) และในสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทำให้พื้นที่ใบลดลง (Abdollahi *et al.*, 2010) สอดคล้องกับการทดลองของ Lolaei *et al.* (2012) ที่พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 90 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถลดพื้นที่ใบของสตรอว์เบอร์รี่ จาก 42.04 ตารางเซนติเมตร (กรรมวิธีควบคุม) เป็น 35.90 ตารางเซนติเมตร นอกจากนี้ยังสามารถนำสารพาโคลบิวทราโซล มาใช้ในการชะลอการเจริญเติบโตของไม้ดอกไม้ประดับบางชนิดได้ เช่นในต้นดาวเรืองที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลทุกระดับความเข้มข้น สามารถลดความสูงและความกว้างทรงพุ่ม รวมทั้งพื้นที่ใบรวมของต้นดาวเรืองได้ (ภาณุพล, 2557)

3. ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ

การศึกษาผลของการราดพาโคลบิวทราโซลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของต้นมะเขี๋ยงพบว่าหลังการราดสารพาโคลบิวทราโซล 2 และ 4 เดือน ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของต้นมะเขี๋ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในเดือนที่ 2 พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของต้นมะเขี๋ยงอยู่ในช่วง 61-64 ส่วนเดือนที่ 4 พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของต้นมะเขี๋ยงมีปริมาณคลอโรฟิลล์อยู่ในช่วง 41-46 อย่างไรก็ตามปริมาณของคลอโรฟิลล์ในใบของต้นที่ราดสารพาโคลบิวทราโซลมีแนวโน้มสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจากสารชะลอการเจริญเติบโต มีผลต่อการเพิ่ม

ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของพืช โดยทำให้ขนาดใบลดลง ใบจึงมีความหนามากขึ้น ปริมาณคลอโรฟิลล์จึงสูงขึ้น (สมพร, 2549) สารพาโคลบิวทราโซลทำให้พืชสร้างเนื้อเยื่อชั้น palisade cell เพิ่มขึ้น ช่องว่างระหว่างเซลล์จึงน้อยลง ทำให้เซลล์มีการเรียงตัวกันแน่นมากขึ้น (พีรเดช, 2537) และอาจเนื่องมาจากสารพาโคลบิวทราโซลมีความสัมพันธ์กับการกระตุ้นการสังเคราะห์ไซโทไคนิน ซึ่งมีผลในการเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ในพืช (Kumar *et al.*, 2012) จึงสามารถตรวจวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ได้มากขึ้น เช่นเดียวกับในใบอะโวคาโดพันธุ์ Hass (Symons *et al.*, 1990) ใบมะเขือเทศประดับ (de Moraes *et al.*, 2005) และใบของต้นชวนชมพันธุ์ฮอลแลนด์ (นิติพัฒน์, 2557)

Table 3 Effect of paclobutrazol on leaf size of Makiang

Treatments	Leaf length (cm)				Leaf width (cm)			
	Months after treatments				Months after treatments			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Control	2.87	9.11	18.01 a ^{1/}	18.86 a	1.68	3.97	8.06 a	8.20 a
Paclobutrazol 1.50 g a.i.	2.73	4.67	13.74 b	15.54 b	1.58	2.01	6.23 b	7.12 b
Paclobutrazol 2.50 g a.i.	2.89	4.46	11.78 c	13.99 c	1.41	1.88	6.04 b	6.75 b
Paclobutrazol 3.50 g a.i.	2.41	5.22	12.83 bc	14.43 bc	1.36	2.25	6.77 ab	6.63 b
F-test	ns	ns	*	*	ns	ns	*	*
LSD _{0.05}	2.83	4.96	1.50	1.50	1.44	2.47	1.46	0.51

^{1/}Means in a column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$) by LSD

ns = not significantly different

Table 4 Changes of chlorophyll contents after paclobutrazol treatments

Treatments	SPAD chlorophyll meter reading (SCMR)	
	Months after treatments	
	2	4
Control	62.01	41.33
Paclobutrazol 1.50 g a.i.	61.06	43.64
Paclobutrazol 2.50 g a.i.	62.35	45.83
Paclobutrazol 3.50 g a.i.	64.14	43.78
F-test	ns	ns
LSD _{0.05}	3.97	5.93

ns = not significantly different

สรุป

สารพาโคลบิวทราโซลทุกอัตราทำให้ความยาวยอด ความยาวปล้อง ความยาวก้านใบ ขนาดใบและพื้นที่ใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างอัตราของสารพาโคลบิวทราโซลที่ให้ในแต่ละกรรมวิธี และการให้สารพาโคลบิวทราโซลอัตรา 3.50 กรัมของสารออกฤทธิ์ต่อต้นสามารถลดความสูงของต้นมะกึ่งได้มากที่สุดประมาณร้อยละ 30 นอกจากนี้การราดพาโคลบิวทราโซลยังทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย

คำขอบคุณ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจาก โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนสุตา สยามบรมราชกุมารี ฯ (อพ.สธ.) และขอขอบคุณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนสถานที่ในการทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- กวิศร์ วานิชกุล ประภาพร ตั้งกิจโชติ และ ยศกร สายสร้อย. 2553. ผลของพาโคลบิวทราโซลต่อการเติบโตทางกิ่งใบของมะละกอพันธุ์แม็กซิโก-เกษตร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 41(3/1) (พิเศษ): 537-540.
- กฤษณา กฤษณพุกต์ และ ลพ ภวภูตานนท์. 2554. การชักนำการออกดอกของส้มโอพันธุ์ทองดีและชวา น้ำผึ้งด้วยสารพาโคลบิวทราโซล. รายงานฉบับสมบูรณ์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 47 หน้า.
- เฉลิม จันทรสม สุทธิทิพย์ ภูมิประวัติ และ อรุณพร อีสุรัตน์. 2551. แอนโทไซยานินหลักในผลมะกึ่งสุก. ธรรมชาติศาสตร์เกษตร 8(3): 360-370.
- เฉลิมชัย แสงอรุณ พาวิน มะโนชัย เสกสันต์ อุตสหตานนท์ จิรนนท์ เสนานาญ และ มนัส กัมพูกุล. 2553. การ

ควบคุมทรงพุ่มลำไยที่ปลูกระยะชิดโดยการตัดแต่งกิ่งและการใช้สารพาโคลบิวทราโซล. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 27(3): 1-10.

- นิติพัฒน์ พัฒนฉัตรชัย. 2557. ผลของพาโคลบิวทราโซลต่อการพัฒนาการของใบชวนชมพันธุ์ฮอลแลนด์-มิสไทยแลนด์. สาขาวิชาเกษตรและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์, สุรินทร์. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 31(1): 1-12.
- พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอริโมนและสารสังเคราะห์. วิทยการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 196 หน้า.
- ภาณุพล หงส์ภักดี. 2557. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการใช้น้ำและการเติบโตของดาวเรืองกระถาง. วารสารเกษตร 30(3): 281-289.
- สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. 2544. มะกึ่งพืชในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช. ศิลปะการพิมพ์, ลำปาง. 17 หน้า.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2544. สรีรวิทยาพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 237 หน้า.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 251 หน้า.
- สมพร ณ นคร. 2549. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth regulators). คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, นครศรีธรรมราช. 265 หน้า.
- สมพร ณ นคร. 2555. การวิจัยแบบมีส่วนร่วมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำการออกดอกนอกฤดูของกลุ่มเกษตรกรผู้ผลิตเงาะในอำเภอชะอวด. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ใต้ใหญ่, นครศรีธรรมราช. 44 หน้า.
- สัมฤทธิ์ เพ็ญจันทร์. 2544. สรีรวิทยาการพัฒนากิ่งพืช. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, กรุงเทพฯ. 665 หน้า.
- Abdollahi, M., S. Eshghi and E. Tafazoli. 2010. Interaction of paclobutrazol, boron and zinc on vegetative growth, yield and fruit quality of strawberry (*Fragaria x Ananassa* Duch.

- cv. Selva). Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 4(11): 67-75.
- Adato, I. 1990. Effects of paclobutrazol on avocado (*Persea americana* Mill.) cv. 'Fuerte'. Scientia Hort. 45(1-2): 105-115.
- Arzani, K. and H.R. Roosta. 2004. Effects of paclobutrazol on vegetative and reproductive growth and leaf mineral content of mature apricot (*Prunus armeniaca* L.) Trees. Journal of Agricultural Science and Technology 6: 43-55.
- Asin, L., S. Alegre and R. Montserrat. 2007. Effect of paclobutrazol, prohexadione-Ca, deficit irrigation, summer pruning and root pruning on shoot growth, yield, and return bloom, in a 'Blanquilla' pear orchard. Scientia Horticulturae 113(2): 142-148.
- Calixto, M.P., D.B. Restituto, Q. Julita, M. Gina and P. Gerry. 2000. Regulation of flowering in 'Carabao' trees by paclobutrazol. Philippine Journal of Crop Science 25(1): 27-33.
- Cohen,Y., D.A. Dagen, U. Adur, H. Hila and D.K. Joshua. 2013. Characterization of growth retardant effects on vegetative growth of date palm seedlings. Journal of Plant Growth Regulation 32: 533-541.
- de Moraes, P.J., J.A.S. Grossi, S. de A. Tinoco, D.J.H. da Silva, P.R. Cecon and J.G. Barbosa. 2005. Ornamental tomato growth and fruiting response to paclobutrazol. (Online). Available: http://www.actahort.org/books/683/683_40.htm (March 19, 2011).
- Kumar, S., S. Ghatty, J. Satyanarayana, A. Guha, B.S.K. Chaitanya and A.R. Reddy. 2012. Paclobutrazol treatment as a potential strategy for higher seed and oil yield in field-grown *Camelina sativa* L. Crantz. (Online). Available: <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/5/137.htm> (March 13, 2012).
- Lolaei. A., B. Kaviani, M.K. Raad, M.A. Rezaei and M. Maghsoudi. 2012. Effect of paclobutrazol and salinity on vegetative and sexual growth and fruit quality of strawberry (*Fragaria x Ananassa* Duch. cv. Selva). Annals of Biological Research 3(10): 4663-4667.
- Medina-Urrutia, V. 1995. Effect of paclobutrazol and severe pruning on mango tree cv. Tommy Atkins at high densities. Proc. Florida State Horticultural Society 108: 364-368.
- Rademacher, W. 2000. Growth retardants: Effect on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 51: 501-31.
- Rodrigue, M.C. and V. Galan. 1995. Preliminary study of paclobutrazol (PP333) effects on greenhouse papaya (*Carica papaya* L.) in the canary islands. Acta Horticulturae. 370: 167-171.
- Saker, B.C. and M.A. Rahim. 2012. Vegetative growth, harvesting time, yield and quality of mango (*Mangifera indica* L.) as influenced by soil drench application of paclobutrazol. Bangladesh Journal of Agricultural Research 37(2): 335-348.
- Symons, P.R.R., P.J. Hofman and B.N. Wolstenholme. 1990. Response to paclobutrazol of potted 'Hass' avocado trees. (Online). Available: http://www.actahort.Org/books/275/275_21.htm. (April 16, 2011).
- Taya, S., C. Punvittayagul, T. Chewonarin and R. Wongpoomchai. 2009. Effect of aqueous extract from *Cleistocalyx nervosum* on

oxidative status in rat liver. Thai Journal of
Toxicology 24(2): 10-105.

การชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนับดำ

Callus and Shoot Induction from Endosperm of Immature Physic Nut Seed

วิภาญดา สายวงศ์ใจ^{1/} ธนียา เจริญานุกรกุล^{2/} และ ธนะชัย พันธุ์เกษมสุข^{1/*, 3/}

Vikanda Sayvongjai^{1/}, Thaneeya Chetiyakornkul^{2/} and Tanachai Pankasemsuk^{1/*, 3/}

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/}Department of Plant Science and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

^{2/}คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{2/}Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

^{3/}ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานการอุดมศึกษา, กรุงเทพฯ 10400

^{3/}Postharvest Technology Innovation Center, Commission Higher, Education, Bangkok, Thailand 10400

*Corresponding author: Email: pankasemsuk@gmail.com

(Received: 16 February 2016; Accepted: 16 May 2016)

Abstract: This study aimed to find out the medium formula to induce callus and shoot from endosperm of immature physic nut seed. The experiment was designed in CRD 5 treatments. Treatment 1; MS medium no additives of plant growth regulators, Treatment 2; MS medium supplemented with 0.4 mg/l NAA and 2 mg/l GA₃, Treatment 3; MS medium supplemented with 1 mg/l BA and 2 mg/l GA₃, Treatment 4; MS medium supplemented with 0.4 mg/l NAA and 1 mg/l BA, and Treatment 5; MS medium supplemented with 0.4 mg/l NAA, 1 mg/l BA, and 2 mg/l GA₃. A total of twenty explants were cultured in each treatment. All culture were incubated at 25 ± 2 °C, darkness for 24 hrs. The results found only treatment 4 (MS medium supplemented with 0.4 mg/l NAA and 1 mg/l BA) could induced callus three weeks after subculture, showed the highest percentage of callus as 70%, where all callus of other treatments were absence. The callus was friable yellow and had diameter 2.0 centimeter of callus as average level. After transferring the callus from treatment 4 to MS medium supplemented with 10 mg/l BA for shoot induction which incubated at 25 ± 2 °C, under light condition of 16 hrs/day, it was found that the young shoots could develop at 18 weeks after subculture.

Keywords: Immature seed, endosperm, callus induction, plant regeneration

บทคัดย่อ: การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากชิ้นส่วนเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนูปดำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 5 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ 1 อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA₃ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA₃ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ กรรมวิธีที่ 5 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA₃ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งหมดมี 20 ชิ้นส่วนในแต่ละกรรมวิธี เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพมืดตลอดเวลา พบว่า ในกรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุดคิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 3 สัปดาห์ และแคลลัสมีลักษณะเกาะกันแบบหลวม ๆ (friable callus) มีสีเหลือง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 2 เซนติเมตร จัดอยู่ในระดับปานกลาง จากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า สามารถเจริญเป็นยอดอ่อนได้ ในระยะเวลา 18 สัปดาห์ หลังจากย้ายเนื้อเยื่อแคลลัส

คำสำคัญ: เมล็ดอ่อนสนูปดำ เอนโดสเปิร์ม การชักนำให้เกิดแคลลัส การชักนำให้เกิดขึ้น

คำนำ

สนูปดำ (*Jatropha curcas* L.) เป็นพืชพลังงานที่มีศักยภาพ แต่ด้วยข้อจำกัดที่ผลิตเมล็ดต่อไร่ต่ำ เพียง 200 - 300 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณน้ำมันเพียงร้อยละ 35-40 โดยน้ำหนัก และการสุกแก่ของผลที่ไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งต้น ทำให้ความน่าสนใจในพืชชนิดนี้เริ่มลดลง จึงมีการวิจัยที่พยายามหาแนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น เช่น การวิจัยปรับปรุงสายพันธุ์สนูปดำของ Piromya and Kermanee (2013) ได้รายงานว่าการใช้สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 5,000-6,000 ppm กับกิ่งชำสนูปดำ ส่งผลให้ขนาดของใบและปากใบ ขนาดของช่อดอกและดอกเพศผู้มีขนาดใหญ่ขึ้น Na Chiangmai *et al.* (2014) รายงานว่า สามารถชักนำให้สนูปดำต้นปกติกลายเป็นต้นสนูปดำที่มีโครโมโซมเป็นเตตระพลอยด์ (4n) โดยใช้สารโคลชิซิน ที่ระดับความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ได้สำเร็จ นอกจากนี้การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเอนโดสเปิร์มเป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจโดยมีรายงานการวิจัยพืชหลายชนิด เช่น ผลิตต้น

ทริพลอยด์มัลเบอร์รี่ (3n) (Thomas *et al.*, 2000) การผลิตต้นสะเดา (*Azadirachta indica*) เพื่อใช้ประโยชน์ทางยาและเครื่องสำอาง (Chaturvedi *et al.*, 2003) มีรายงานการผลิตต้นสนูปดำที่มีลักษณะเป็นทริพลอยด์ (3n) ได้ โดยใช้เอนโดสเปิร์มของเมล็ดแก่ โดยต้นที่ได้มีขนาดปากใบใหญ่และความหนาแน่นของปากใบน้อยเมื่อเทียบกับต้นปกติ (Zhu *et al.*, 2011) นอกจากนี้การผลิตพืช 3n จากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดแก่แล้วยังสามารถให้เอนโดสเปิร์มจากเมล็ดอ่อนในการผลิตพืช 3n ได้อีกด้วย เช่น มัลเบอร์รี่ (Thomas *et al.*, 2000) และสะเดา (Chaturvedi *et al.*, 2003) ที่เลือกใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเอนโดสเปิร์มจากเมล็ดอ่อน ซึ่งข้อดีของการใช้เอนโดสเปิร์มจากเมล็ดอ่อน เนื่องจากว่าเนื้อเยื่อยังมีอายุน้อยของเอนโดสเปิร์มจากเมล็ดอ่อน ย่อมมีเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตจำนวนมาก ส่งผลต่อการเกิดเป็นยอดหรือรากได้ง่าย (รังสฤษดิ์, 2545) จึงเลือกใช้ชิ้นส่วนจากเอนโดสเปิร์มจากเมล็ดอ่อนของสนูปดำในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากชิ้นส่วนเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนูปดำ

อุปกรณ์และวิธีการ

การชักนำให้เกิดแคลลัส

ในการทดลองครั้งนี้ ใช้เมล็ดอ่อนสนูปดำอายุ 60 วันหลังจากติดผล สายพันธุ์พื้นบ้านที่นิยมปลูกทั่วไปทางภาคเหนือ ซึ่งเมล็ดสนูปดำมีลักษณะผลทรงกลม ขนาดของผลและเปลือกหนา โดยนำเมล็ดมาทำความสะอาดด้วยน้ำไหลเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแช่ด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นเวลา 10 นาที ต่อด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้ออีก 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที ก่อนนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox ที่ความเข้มข้น 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 และ 15 นาที ตามลำดับ และล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้ออีก 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที ขั้นตอนสุดท้ายนำเมล็ดอ่อนจุ่มในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วเผาผ่านเปลวไฟเป็นเวลาสั้น ๆ จากนั้นแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกและตัดเอาเฉพาะส่วนของเอนโดสเปิร์มให้ได้ขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) เปรียบเทียบสูตรอาหารที่มีชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันทั้งสิ้น 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 20 ซ้ำ ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ กรรมวิธีที่ 5 อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA_3 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

นำขวดเพาะเลี้ยงเอนโดสเปิร์มในแต่ละกรรมวิธี วางไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพมืดตลอดเวลาจนกระทั่งเริ่มพบการเกิดแคลลัส บันทึกผลการทดลอง ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดของแคลลัส (ดัดแปลงจาก Ling *et al.*, 2008) บันทึกประเภทและสีของแคลลัสที่ปรากฏ

การชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้จากการชักนำเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนูปดำ

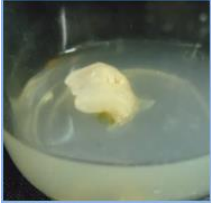
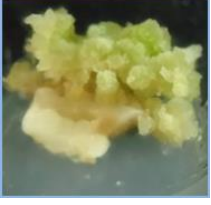
การชักนำยอดจากแคลลัสที่เกิดจากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนูปดำ นำแคลลัสที่ได้จากการทดลองสูตรอาหารข้างต้นมาชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (ดัดแปลงจาก Chaturvedi *et al.*, 2003) อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพให้แสงต่อเนื่อง 16 ชั่วโมงต่อวัน สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงลักษณะของแคลลัสทุก 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 18 สัปดาห์ จากนั้นคัดเลือกเฉพาะแคลลัสที่เกิดยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัม (ดัดแปลงจาก Qin *et al.*, 2004) อีก 4 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง ได้แก่ นับจำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่ ความสูงยอด และ จำนวนใบต่อยอด

ผลการทดลอง

การชักนำให้เกิดแคลลัส

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนูปดำ พบว่า ในกรรมวิธีการเติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้จากลักษณะ เนื้อเยื่อบริเวณรอยแผลของชิ้นส่วนเอนโดสเปิร์มเกิดการขยายตัวขึ้น จากนั้นสัปดาห์ที่ 3 เกิดเป็นแคลลัสได้อย่างชัดเจน คิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์จากเอนโดสเปิร์มจำนวน 20 ชิ้น (ตารางที่ 1) และแคลลัสที่เกิดขึ้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 2 เซนติเมตร ให้ค่าคะแนนของขนาดแคลลัสในระดับปานกลาง และเป็นแคลลัสชนิดเกาะกันหลวม ๆ (friable callus) มีสีเหลือง (ภาพที่ 1a) แต่ไม่พบการพัฒนาของแคลลัสในกรรมวิธีที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและกรรมวิธีอื่น ๆ เลย หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 1 สัปดาห์ เนื้อเยื่อแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีขาวขี้น เป็นสีน้ำตาล คำน้ำ และเริ่มตายในที่สุด

Table 1 Effect of NAA, GA₃ and BA on callus formation at three weeks induced from endosperm explants of immature physic nut seed

Treatment	Week 3	Percentage of callus formation (%) ^{1/}	Diameter of callus formation (cm) ^{2/}	Type of callus ^{3/}	Color of callus ^{4/}
MS (Control)		0	-	-	-
MS+ 0.4 mg/l NAA + 2 mg/l GA ₃		0	-	-	-
MS + 1 mg/l BA + 2 mg/l GA ₃		0	-	-	-
MS + 0.4 mg/l NAA + 1 mg/l BA		70	2.0	F	Y
MS + 0.4 mg/l NAA + 1 mg/l BA + 2 mg/l GA ₃		0	-	-	-

^{1/} Mean calculated from 20 immature endosperm explants per treatment.

^{2/} Diameter of callus formation: absence of callus (-), less than 1.0 cm (poor), 1.0-2.0 cm (average), more than 2.0 cm (good)

^{3/} Type of or callus: friable callus (F)

^{4/} Color of callus: yellow (Y)

การชักนำยอดจากแคลลัสที่ได้จากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนูปดำ

การชักนำยอดจากแคลลัสที่เกิดจากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนูปดำ โดยเฉพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า ในช่วง 1-3 สัปดาห์แรก แคลลัสมีลักษณะเกาะกลุ่มกันแน่นมากขึ้น (compact callus) จากเดิมที่อยู่ในลักษณะที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) และสีของแคลลัสที่มีลักษณะเป็นสีเขียว มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นมีสีเขียวอ่อนและเหลืองอ่อนปะปนกัน จากนั้นในสัปดาห์ที่ 4-6 ก้อนแคลลัสมีลักษณะเกาะกลุ่มกันแน่น แคลลัสมีสีเขียวและมีสีขาวปนอยู่บริเวณผิวของก้อน แคลลัส สัปดาห์ที่ 7-9 ลักษณะของแคลลัสเกาะกลุ่มกันอัดแน่นมากขึ้น ผิวสีเขียวและสีขาวของแคลลัสเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยที่บริเวณผิวของแคลลัสมีจุดกำเนิดของตาสีเขียวเกิดขึ้น

หลังจากการเพาะเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 10-12 มีการพัฒนาตายอดและเกิดเป็นใบที่มีก้านใบยืดยาวออกมา พบการเกิดยอดเพียง 1 ยอดต่อ 1 แคลลัสเท่านั้น ยอดมีความสูงยอดเฉลี่ย 0.6 เซนติเมตร และมีจำนวนใบต่อยอดเฉลี่ย 0.78 ใบต่อยอด (ภาพที่ 1b) นำเฉพาะส่วนของยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ยอดไม่มีการพัฒนาแตกเป็นยอดใหม่ แต่สามารถ

เจริญยืดยาวได้ดี โดยมีความสูงเฉลี่ย 2.7 เซนติเมตร และมีจำนวนใบต่อยอดเฉลี่ย 2.7 ใบต่อยอด (ภาพที่ 1c)

วิจารณ์

การชักนำให้เกิดแคลลัส

การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนูปดำโดยใช้อาหารสูตร MS ที่มีชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน พบว่า การใช้อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ให้ผลทำนองเดียวกับการศึกษาของ Phasitvilaitam and Pankasemsuk (2012) ได้รายงาน ว่า อาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชไม่สามารถชักนำชิ้นส่วนเอนโดสเปิร์มของเมล็ดแก่ (mature seed) ของสนูปดำให้เกิดเป็นแคลลัสได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยในพืชหลายชนิด เช่น มัลเบอรี่ (Thomas *et al.*, 2000) สะเดา (Chaturvedi *et al.*, 2003) มะละกอ (Sun *et al.*, 2011) ไม่สามารถชักนำชิ้นส่วนเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนเกิดเป็นแคลลัส ทั้งนี้อาจเป็นเพราะชนิดและสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ ออกซินและไซโตไคนิน เมื่อมีการใช้ร่วมกันในปริมาณที่เหมาะสมสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ตามผลการทดลองนี้ จากอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความ

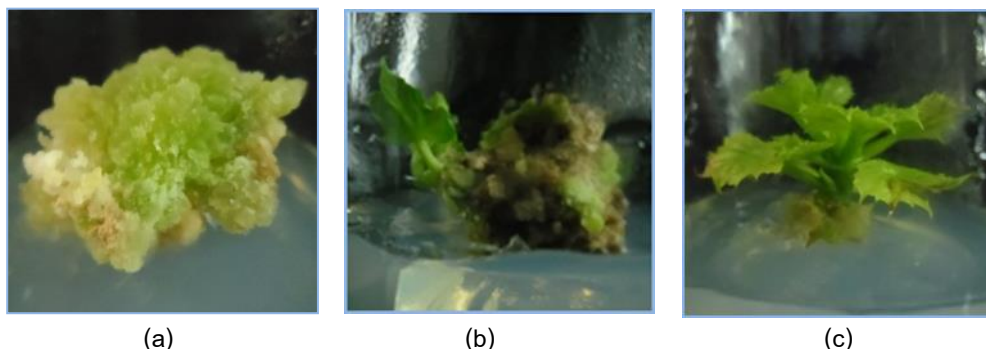


Figure 1 Callus from endosperm of immature physic nut seed on MS medium supplemented with 0.4 mg/l NAA and 1 mg/l BA at three weeks after subculture (a), shoot from endosperm callus on MS medium supplemented with 10 mg/l BA (b), and shoot characteristics on MS medium supplemented with 0.5 mg/l BA combine 0.25 mg/l IBA at four weeks after subculture (c)

เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น ในขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ ไม่สามารถชักนำได้ แตกต่างจากการวิจัยของ Phasitvilaitam and Pankasemsuk (2012) ที่รายงานว่า สามารถชักนำให้ขึ้นส่วนเอนโดสเปิร์มของเมล็ดแก่ของสับดูดำเกิดแคลลัสได้ด้วยอาหารสูตร MS ที่เติมสารในกลุ่มออกซินเพียงกลุ่มเดียวได้ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการเลือกใช้ชิ้นส่วนพืชที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตามในงานวิจัยของ Miyashita *et al.* (2009) พบว่า การใช้ออกซินเพียงอย่างเดียว (IBA หรือ NAA) ชักนำให้เกิดแคลลัสได้ต่ำ แต่ปฏิสัมพันธ์ระหว่างออกซินและไซโตไคนินที่มีการใช้ร่วมกันระหว่าง BA, NAA หรือ IBA ชักนำแคลลัสได้ดีกว่าร่วมกับ TDZ และงานวิจัยของ Sun *et al.* (2011) ได้ศึกษาการใช้ฮอร์โมนพืชร่วมกันระหว่าง 2,4-D, Kn และ NAA ให้ผลการชักนำแคลลัสได้ดีกว่าการใช้ร่วมกับ 2,4-D, Kn และ BA โดยกลุ่มไซโตไคนินนั้น ไคเนตินส่งผลให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในกลุ่มออกซิน แต่งานวิจัยของ โสภณ และคณะ (2558) พบว่า การเลือกใช้ BAP ร่วมกับ NAA หรือการใช้ 2,4-D เพียงชนิดเดียว ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ จากนั้นในการทดลองครั้งนี้ การใช้จิบเบอเรลลิน (GA_3) ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนเมล็ดอ่อนของสับดูดำ แต่จิบเบอเรลลินมีบทบาททำให้ปล้องยาวขึ้นหลังจากการสร้างยอด มีการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและการงอกของเมล็ด แต่จิบเบอเรลลินนั้นมีผลปิดกั้นการเกิดอวัยวะ (เทิดศักดิ์, 2554) ถึงแม้ว่าจากผลการทดลองนี้ การใช้จิบเบอเรลลินร่วมกับออกซินและไซโตไคนินไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

การเกิดยอดจากแคลลัสที่ได้จากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสับดูดำ

การชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสที่เกิดจากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสับดูดำบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินเพียงชนิดเดียวใช้ระยะเวลาของการเกิดยอดประมาณ 18 สัปดาห์ พบการเกิดยอดเพียง 1 ยอดต่อ 1 แคลลัสเท่านั้น ยอดมีความสูงยอดเฉลี่ย 0.6 เซนติเมตร และมีจำนวนใบต่อยอด

เฉลี่ย 0.78 ใบต่อยอด เป็นไปตามที่คิวพงศ์ (2546) กล่าวว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้นเพียงอย่างเดียวกระตุ้นการแบ่งเซลล์ได้ ทำให้เกิดการแตกยอดของเนื้อเยื่อ ในการศึกษาต่อไปจึงควรมีการหาอัตราส่วนของ BA หรือเพิ่มแหล่งของไนโตรเจนที่เหมาะสม เพื่อส่งเสริมพัฒนาการของแคลลัสไปเป็นพืชต้นใหม่ โดยหลังจากช่วงอายุ 18 สัปดาห์ ต้องมีการเปลี่ยนสูตรอาหารโดยใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมนพืชสองชนิดคือ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงสามารถทำให้ยอดหรือต้นใหม่ของสับดูดำมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น แต่ยังไม่สามารถขยายได้มากนัก

ขณะที่การทดลองของ มยุรี (2553) ได้นำส่วนยอดของสับดูดำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.25-0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างยอดได้ 5.25 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งไม่ได้เกิดจากการชักนำยอดของแคลลัส แต่จากการทดลองนี้ สัดส่วนของ BA และ IBA ดังกล่าว ไม่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดรวมจากส่วนยอดที่เกิดจากแคลลัส ในวิจัยของ Sun *et al.* (2011) ใช้ Thidiazuron มีประสิทธิภาพการเกิดยอดได้มากกว่า BA ด้วย ส่วนการวิจัยของ Thomas *et al.* (2000) กล่าวว่า ชนิดและความเข้มข้นสาร BAP หรือ TDZ ในกลุ่มไซโตไคนินเพียงชนิดเดียวส่งผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นยอดที่ไม่แตกต่างกัน แต่สามารถชักนำให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้ ให้ผลสอดคล้องกับ Chaturvedi *et al.* (2003) ได้กล่าวไว้เช่นกันว่า BAP, kinetin, TDZ ทั้งชนิดและระดับของความเข้มข้นนั้น ทำให้เกิดยอดใหม่ได้ไม่แตกต่างกัน แต่การเปลี่ยนสูตรอาหารโดยลดระดับความเข้มข้นของ BAP ลงทำให้ส่วนยอดใหม่ยืดยาวและมีจำนวนข้อปล้องเพิ่มมากขึ้นได้ แสดงให้เห็นว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินส่งผลต่อการเจริญเติบโตเป็นพืชต้นใหม่ ซึ่งชนิดและความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินที่ใช้มีความแตกต่างกันอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปอีกทางหนึ่งได้ เป็นที่น่าสังเกตว่า การใช้ฮอร์โมนจึงมีผลต่อคุณภาพและปริมาณของยอดที่ได้ ควรมีการศึกษาในส่วนนี้เพิ่มเติมต่อไป

สรุป

อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (NAA) ร่วมกับ ไสโตไดนิน (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดอ่อนสนปู่ดำ และสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ในระยะเวลา 18 สัปดาห์ จากอาหารสูตร MS ที่เติม BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อำนวยความสะดวกให้ความช่วยเหลือในห้องปฏิบัติการและบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในการศึกษารั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เทิดศักดิ์ โทณลักษณะ. 2554. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดอกเสี้ยวขาว (*Bauhinia variegata* L.). รายงานวิจัย. สาขาวิชาเทคโนโลยีและพัฒนากการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่, เชียงใหม่. 36 หน้า.

มยุรี แก้วภู. 2553. การขยายพันธุ์สนปู่ดำ (*Jatropha curcas* Linn.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้สารโคลชิซินและออริซาลิน. วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาพืชศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 112 หน้า.

รังสฤษดิ์ กาวิตะ. 2545. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 219 หน้า.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สถาบันราชภัฏอุดรธานี. อุดรธานี. 187 หน้า.

โสภณ บุญธรรม ธีรยุทธ ตูจินดา ณัฐา โพธารมณ และประสาพร สมิตะมาน. 2558. การชักนำให้เกิดต้นแฮพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ Rathu Heenati/KDML105//Chai Nat 1. วารสารเกษตร 31(2): 145-153.

Chaturvedi, R., M.K. Razdan and S.S. Bhojwani. 2003. An efficient protocol for the production of triploid plants from endosperm callus of neem, *Azadirachta indica* A. Juss. Journal of Plant Physiology 160: 557-564.

Ling, A.P.K., S.T. Yeo, J.A. Gansau and S. Hussein. 2008. Induction and multiplication of callus from endosperm of *Cycas revolute*. African Journal of Biotechnology 7(23): 4279-4284.

Miyashita, T., T. Ohashi, F. Shibata, H. Araki and Y. Hoshino. 2009. Plant regeneration with maintenance of the endosperm ploidy level by endosperm culture in *Lonicera caerulea* var. *emphyllcalyx*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 98: 291-301.

Na Chiangmai, P., Y. Pootaeng-on, P. Meetum, N. Jankomon, D. Muangnoi and D. Kitthip. 2014. Mutation induction in physic nut (*Jatropha curcas* L.) by colchicine treatments. Silpakorn University Science and Technology Journal 8(2): 28-39.

Phasitvilaitam, M. and T. Pankasemsuk. 2012. Endosperm culture of *Jatropha curcas* L. Chiang Mai University Journal of Natural Sciences 11(1): 97-102.

Piromya, R. and P. Kermanee. 2013. Occurrence of tetraploidy in colchicine-treated physic nut

- (*Jatropha curcas* Linn.). Kasetsart Journal (Natural Science) 47: 23-29.
- Qin, W., W.D. Lu, L. Yi, S.L. Pan, Y. Xu, L. Tang and F. Chen. 2004. Plant regeneration from epicotyl explant of *Jatropha curcas*. Journal Plant Physiology and Molecular Biology 30: 475-478.
- Sun, D.Q., X.H. Lu, G.L. Liang, Q.G. Guo, Y.W. Mo and J.H. Xie. 2011. Production of triploid plants of papaya by endosperm culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 104: 23-29.
- Thomas, T.D., A.K. Bhatnagar and S.S. Bhojwani. 2000. Production of triploid plants of mulberry (*Morus alba* L.) by endosperm culture. Plant Cell Reports 19: 395-399.
- Zhu, X., J. Liu, X. Zheng, Y. Xu and F. Chen. 2011. Regeneration of plantlets mature endosperm of *Jatropha curcas* L. and analysis of their stomata. Chi. Journal of Applied Environmental and Biological Sciences 17(3): 353-358.
-

ผลของไนโตรเจนต่อคุณภาพของกุหลาบตัดดอกที่ผลิตในกระถาง

Effect of Nitrogen on Cut Rose Quality in Potted Production

วรรณสิริ ตันฑ์ประศาสน์^{1/} และ โสระยา ร่วมรังษี^{1/*, 2/}

Wannasiri Tunprasas^{1/} and Soraya Ruamrungsri^{1/*, 2/}

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/}Department of Plant Science and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

^{2/}ศูนย์บริการการพัฒนาขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ 50230

^{2/}H.M. The King's Initiative Centre for Flower and Fruit Propagation, Chiang Mai 50230, Thailand

*Corresponding author: Email: soraya.r@cmu.ac.th

(Received: 3 March 2016; Accepted: 27 July 2016)

Abstract: The effect of nitrogen on growth and development of cut rose was studied. Five levels of nitrogen concentration i.e. 0, 50, 100, 200 and 300 mg/L were used. Nutrient solution was supplied to plant once a week at 1 L/plant. The result showed that nitrogen concentration at 200 mg/L gave the best growth comparing with other treatments. There were 5 flowers per plant with average 10.4 cm flower diameter, 63.2 cm stem length, 15 leaves /stem, 21.5 g fresh weight and 11.5 g dry weight. Flower derived from 200 mg/L of N. treatment was in extra grade.

Keywords: Rose, growing rose in pot, fertilizer management, nitrogen

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับผลของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบตัดดอก ที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทุกกรรมวิธีให้สารละลายธาตุอาหารสัปดาห์ละครั้ง ปริมาตร 1 ลิตรต่อต้นเป็นเวลา 6 เดือน จากผลการทดลองพบว่า ต้นกุหลาบที่ได้รับไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเติบโตมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น มีจำนวนดอกต่อต้น 5 ดอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอก 10.4 เซนติเมตร ความยาวกิ่ง 63.2 เซนติเมตร จำนวนใบต่อกิ่ง 15 ใบ น้ำหนักสดของดอก 21.5 กรัม และน้ำหนักแห้งของดอก 11.5 กรัม ดอกที่ได้จากต้นที่ใช้สารละลายไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ดอกที่อยู่ในเกรดพิเศษ

คำสำคัญ: กุหลาบ การปลูกกุหลาบในกระถาง การจัดการปุ๋ย ไนโตรเจน

คำนำ

กุหลาบ (rose) จัดอยู่ในวงศ์ Rosaceae นิยมปลูกกันทั่วไปเพื่อประดับตกแต่งบ้านเรือนสถานที่ และปลูกเป็นไม้ตัดดอกเพื่อการค้า กุหลาบเป็นไม้ตัดดอกที่มียอดขายสูงที่สุดในตลาดประมูลไม้ดอกเมื่อเทียบกับดอกไม้ชนิดอื่น (นงนุช, 2551) การปลูกกุหลาบตัดดอกทั่วไปมีทั้งปลูกลงในแปลง และปลูกในโรงเรือน ปัจจุบันเกษตรกรหันมาปลูกกุหลาบในโรงเรือนมากขึ้นเนื่องจากการปลูกกุหลาบในโรงเรือนสามารถควบคุมอุณหภูมิ ปริมาณน้ำ แสง ปุ๋ย และสารเคมี ทั้งยังสามารถควบคุมโรคและแมลงได้ การปลูกกุหลาบในโรงเรือนมักปลูกในกระถางหรือภาชนะปลูกซึ่งเป็นการปลูกในพื้นที่จำกัด ซึ่งมักประสบปัญหาเกี่ยวกับการจัดการธาตุอาหาร หากปริมาณธาตุอาหารในวัสดุปลูกไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของพืช จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของดอกที่มีการผลิตออกจำหน่าย ดังนั้นการให้ปุ๋ยอย่างเหมาะสมจึงมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของดอกกุหลาบตัดดอกด้วย

ไนโตรเจน (N) เป็นองค์ประกอบของโปรตีน กรดแอมิโน และเอนไซม์ต่าง ๆ ทำให้ไนโตรเจนมีความสำคัญต่อกระบวนการสร้างเซลล์ใหม่ การเคลื่อนย้ายอาหารและธาตุอาหารระหว่างเซลล์ (พิทยา, 2554) กุหลาบนำไนโตรเจนไปใช้ในการเจริญเติบโตทางลำต้นและยังส่งผลถึงการออกดอก (Qasim *et al.*, 2005) โดยเพิ่มพื้นที่ใบ การแตกตา การแตกใบใหม่ ความยาวของกิ่ง และยังมีผลต่อจำนวนดอกต่อต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของดอก

ตลอดจนมีบทบาทต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมระหว่างการบานของดอก (Young *et al.*, 1966; Anamika and Lavania, 1990) และจากการศึกษาของ Rajamani and Sundaram (1997) พบว่าให้ปุ๋ยกับต้นกุหลาบที่ระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนต่างกัน ต้นกุหลาบมีการเจริญเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนที่สูงขึ้น โดยมีความสูงของต้น จำนวนใบต่อกิ่ง และจำนวนดอกต่อต้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังมีการทดลองเกี่ยวกับให้ปุ๋ยไนโตรเจนกับพืชตระกูลกุหลาบของอุไรวรรณ (2559) พบว่าผลผลิตต่อไร่และน้ำหนักแห้งของเหง้าพวงโกโล่าเพิ่มขึ้นตามระดับของปุ๋ยไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น

การคัดเกรดกุหลาบตามความยาวก้านของดอก ไชยยันต์ (2545) ได้ให้รายละเอียดไว้ ดังนี้

เกรดพิเศษ (Extra) จะมีก้านดอกยาว 60 เซนติเมตรขึ้นไป เกรดเอ (A) จะมีก้านดอกยาวประมาณ 50 เซนติเมตร เกรดบี (B) จะมีก้านดอกยาวตั้งแต่ 40 เซนติเมตร และเกรดซี (C) ก้านดอกยาวตั้งแต่ 30 เซนติเมตร ถ้ากุหลาบก้านดอกสั้นและยาวไม่ถึง 30 เซนติเมตร จัดว่าเป็นดอกกุหลาบที่ตกเกรด จึงได้มีการศึกษาผลของระดับไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพดอกของกุหลาบ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการหาสูตรสารละลายที่เหมาะสมต่อการปลูกกุหลาบในโรงเรือนโดยเลือกใช้พันธุ์ Dolce Vita ซึ่งได้รับความนิยมในตลาดเป็นอย่างมากในขณะนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

เริ่มทำการทดลองในเดือนมีนาคมถึงเดือนสิงหาคมโดยนำต้นกุหลาบพันธุ์ Dolce Vita อายุ 3 เดือนหลังจากติดตาจนกระทั่งแตกกิ่งที่แข็งแรงมีกิ่งประมาณ 3 กิ่ง ปลูกลงกระถางพลาสติกขนาด 30 เซนติเมตร โดยใช้ดินทราย แกลบดิบ และขุยมะพร้าวในอัตราส่วน 1:1:1:1 เป็นวัสดุปลูก พักกิ่งกุหลาบให้อยู่ในแนวระนาบเพื่อให้ใบได้รับแสงอย่างทั่วถึง ปลูกลี้นภายในโรงเรือนแบบควบคุมอุณหภูมิ (evaporative cooling greenhouse) ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 6 กรรมวิธี ๆ ละ 10 ข้าง ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1: ให้น้ำเพียงอย่างเดียว (กรรมวิธีควบคุม) กรรมวิธีที่ 2: N 0 P 50 K 200 มิลลิกรัมต่อลิตร กรรมวิธีที่ 3: N 50 P 50 K 200 มิลลิกรัมต่อลิตร กรรมวิธีที่ 4: N 100 P 50 K 200 มิลลิกรัมต่อลิตร กรรมวิธีที่ 5: N 200 P 50 K 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรรมวิธีที่ 6: N 300 P 50 K 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้แม่ปุ๋ยแอมโมเนียมไนเตรทเป็นตัวปรับระดับของไนโตรเจนในสูตร ให้สารละลายธาตุอาหารสัปดาห์ละครั้ง ปริมาตร 1 ลิตรต่อต้น รดน้ำทุกวัน และพ่นสารเคมีกำจัดโรคและแมลงทุกสัปดาห์ บันทึกข้อมูลความยาวกิ่ง โดยใช้ไม้บรรทัด; เส้นผ่านศูนย์กลางกิ่ง โดยใช้ Vernier slide caliper; จำนวนใบต่อกิ่ง โดยใช้การนับจำนวน; เส้นผ่านศูนย์กลางของดอก โดยใช้ไม้บรรทัด; น้ำหนักสดของดอก และน้ำหนักแห้งของดอก โดยใช้เครื่องชั่งอัตโนมัติ 4 ตำแหน่ง บันทึกผลทุกต้นและทุกสัปดาห์ โดยเริ่มบันทึกตั้งแต่เดือนที่ 2 ไปจนถึงเดือนที่ 6 ทั้งนี้เนื่องจากช่วงเดือนแรกต้นกุหลาบจะค่อย ๆ ปรับตัวเมื่อให้สารละลายธาตุอาหารและจะมีการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์สม่ำเสมอในช่วงเดือนที่สองเป็นต้นไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

การให้สารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนแตกต่างกัน จำนวน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร สัปดาห์ละครั้งติดต่อกับ 6

เดือน มีผลทำให้ต้นกุหลาบมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังนี้

การเจริญเติบโต

ต้นกุหลาบในกรรมวิธีควบคุมคือให้น้ำเพียงอย่างเดียวมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ระดับไนโตรเจนที่สูงขึ้นส่งผลให้กุหลาบมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวของกิ่งเฉลี่ย 63.2 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งเฉลี่ย 0.8 เซนติเมตร และจำนวนใบต่อกิ่งเฉลี่ย 15.6 ใบ ซึ่งดีกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) ซึ่งผลที่ได้เป็นไปในทางเดียวกับการทดลองของ Ying and Joiner (1960) ทดลองให้ปุ๋ยไนโตรเจนกับเบญจมาศพบว่ากรรมวิธีที่ให้น้ำที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนที่สูงขึ้นส่งผลให้ความยาวเพิ่มขึ้น และการทดลองการให้ปุ๋ยไนโตรเจนกับกุหลาบเมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนเพิ่มขึ้นความยาวของกิ่งเพิ่มขึ้นด้วย (Silberbush and Lieth, 2004) เนื่องจากไนโตรเจนมีผลต่อฮอร์โมนที่ส่งเสริมความยาวระหว่างข้อข้อทำให้ขึ้นตำแหน่งของข้อตาห่างออกและไนโตรเจนยังเป็นส่วนโครงสร้างทำให้กิ่งยาวขึ้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้น (Malik *et al.*, 1981) ซึ่งความยาวก้านที่เกิน 60 เซนติเมตร ทำให้ได้กุหลาบเกรดพิเศษ

ต้นกุหลาบที่ไม่ได้รับไนโตรเจน มีการเจริญเติบโตน้อยมากที่สุด ถึงแม้ว่าจะได้รับธาตุอาหารอื่นร่วมด้วยแต่เจริญได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับไนโตรเจน ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับผลการศึกษากุหลาบตัดดอกไนโตรเจนในกุหลาบของ Huché-Thélier *et al.* (2011) พบว่ากุหลาบที่ขาดไนโตรเจนมีการแตกตาและกิ่งแขนงน้อย ใบเล็กและสีใบเป็นเขียวอ่อน ดอกเล็กและต้นเจริญเติบโตช้า ทั้งนี้เนื่องจากไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของโปรตีน กรดอะมิโน เอนไซม์ต่าง ๆ และคลอโรฟิลล์ มีความสำคัญต่อกระบวนการสร้างเซลล์ใหม่ การเคลื่อนย้ายอาหารและธาตุอาหารระหว่างเซลล์ (พิทยา, 2554) ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุหลาบโดยเพิ่มพื้นที่ใบ การแตกใบอ่อน ความยาวของกิ่ง (Young *et al.*, 1966; Anamika and Lavanian, 1990) ในขณะเดียวกันต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของ

Table 1 Effect of nitrogen on growth of cut rose

Treatment (mg/L of N)	Shoot length (cm)	Diameter of shoot (cm)	Leaves/shoot
control	26.7 c	0.3 d	7.00 c
0	38.8 b	0.4 c	11.3 b
50	42.7 b	0.5 c	13.6 ab
100	55.9 a	0.6 b	13.8 ab
200	63.2 a	0.8 a	15.6 a
300	61.7 a	0.7 b	15.2 a
CV (%)	17.50	15.90	35.20

** Mean follow by same letter within column are not significant difference at P = 0.05 by least significant difference

Control = water only

ไนโตรเจน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่มีสีของใบเป็นสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 1) อาจเป็นเพราะปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับส่งผลให้มีการสะสมคลอโรฟิลล์มากกว่าปกติ

คุณภาพของดอก

ต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดของดอกใหญ่ที่สุดมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10.4 เซนติเมตร น้ำหนักสดของดอกเท่ากับ 21.5 กรัม และจำนวนดอกต่อต้นเท่ากับ 5.0 ดอก ต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้งของดอกเท่ากับ 11.6 กรัม (ตารางที่ 2 และ 3) ซึ่งคุณภาพของดอกโดยรวมไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นทั้งสองความเข้มข้นนี้จัดอยู่ในเกณฑ์กุหลาบดอกใหญ่เกรดพิเศษ (ไชยยันต์, 2545) หากเลือกใช้สารละลายที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรก็จะเป็นการลดต้นทุนด้านสารละลายและไม่ได้แตกต่างจากการใช้สารละลายระดับไนโตรเจนที่ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้งของดอกมากที่สุดนั้นอาจเป็นเพราะไนโตรเจนมีผลต่อมวลของโครงสร้างเซลล์

ทำให้น้ำหนักแห้งมากกว่าการใช้ไนโตรเจนที่ระดับอื่นๆ (Anamika and Lavania, 1990) จากตารางที่ 2 การเพิ่มขึ้นของขนาดของดอก น้ำหนักสดของดอก และน้ำหนักแห้งของดอกเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนที่สูงขึ้น ซึ่งให้เห็นว่าไนโตรเจนสามารถเพิ่มคุณภาพของดอก และสีชมพูที่ขอบของดอกเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ได้รับเช่นกัน (ภาพที่ 2) ตรงกันข้ามกับการทดลองของ Ram *et al.* (2011) ที่พบว่า แอนโทไซยานินซึ่งเป็นรงควัตถุในกลีบดอกและใบของกุหลาบลดลงเมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจนเพิ่มขึ้นและไนโตรเจนไปส่งเสริมการเจริญเติบโตทางลำต้นส่งผลให้พัฒนาของสารสีช้ากว่าปกติถึงแม้ว่าจะมีการแสดงออกของยีนสังเคราะห์แอนโทไซยานินจำนวนมากก็ตาม (Hilbert *et al.*, 2003)

ทั้งนี้มีการทดลองอื่น ๆ ที่สอดคล้องกับการงานทดลองนี้ซึ่งใช้สารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมกับพืชอื่น ๆ และได้ผลดี ได้แก่ Widmer (1980) ทดลองให้ความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ 200, 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กับไฮดรอนาแบบตัดดอก พบว่าหลังให้สารละลายในเวลา 7 เดือน หลังจากเมล็ดงอกจนถึงระยะให้ดอก ไฮดรอนาที่ได้รับไนโตรเจนที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตของต้นสมบูรณ์ที่สุด Kofranek (1980) ใช้ความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร กับเบญจมาศแบบตัดดอกหลังการตัดแต่งกิ่งเพื่อให้

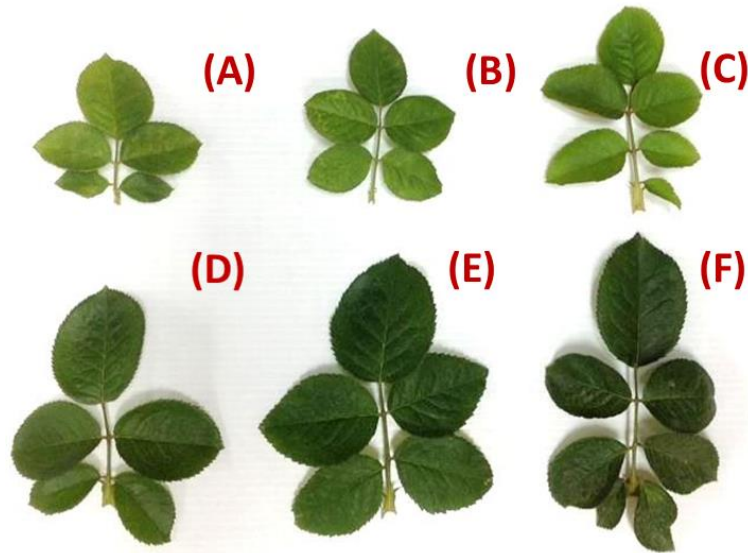


Figure 1 Effect of different nitrogen level on leaf quality, (A): leaf of plant supplied only water, (B-F): leaves of plants supplied with 0, 50, 100, 200 and 300 mg/L of N, respectively

Table 2 Effect of nitrogen on flower quality of cut rose

Treatment (mg/L of N)	Diameter of flower (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
control	4.7 c	5.8 d	4.1 c
0	4.9 c	8.4 cd	6.5 b
50	6.1 bc	9.0 c	6.8 b
100	9.6 b	13.7 b	10.6 ab
200	10.4 a	21.5 a	11.5 a
300	10.4 a	19.6 a	11.6 a
CV (%)	12.36	23.07	14.68

** Mean follow by same letter within column are not significant difference at P = 0.05 by least significant difference
Control = water only

Table 3 Effect of nitrogen on number of flowers per plant

Treatment (mg/L of N)	Number of flowers per plant (flowers)
control	2.1 d
0	3.5 c
50	3.9 bc
100	4.6 ab
200	5.0 a
300	4.4 a
CV (%)	21.16

** Mean follow by same letter within column are not significant difference at P = 0.05 by least significant difference
Control = water only

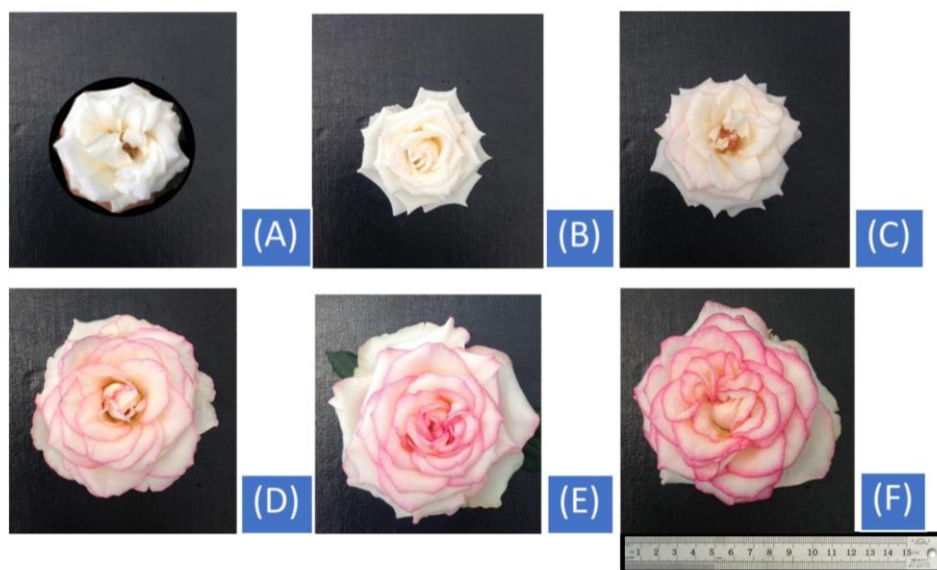


Figure 2 Effect of different nitrogen level on cut rose quality, (A): flower of plant supplied only water, (B-F): flowers of plants supplied with 0, 50, 100, 200 and 300 mg/L of N, respectively.

ได้ต้นและดอกที่สมบูรณ์ และ Singh (2006) ให้สารละลายธาตุอาหารที่ไนโตรเจนเข้มข้น 200 มิลลิกรัมร่วมกับธาตุอาหารอื่นเป็นปุ๋ยทางใบสำหรับบำรุงต้นแคลลลัสให้ต้นแข็งแรงและมีคุณภาพของดอกที่ดี

สรุป

จากผลการทดลองพบว่าต้นกุหลาบที่ได้รับน้ำเพียงอย่างเดียวและได้รับสารละลายที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นส่วนผสมมีการเจริญน้อยที่สุดแสดงให้เห็นว่าไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นและส่งผลต่อคุณภาพของดอกกุหลาบ โดยมีผลทำให้ความยาวกิ่ง เส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่ง จำนวนใบต่อกิ่ง จำนวนดอกต่อต้น เส้นผ่านศูนย์กลางของดอก น้ำหนักสดของดอก และน้ำหนักแห้งของดอกเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ได้รับ ต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่ความเข้มข้นของไนโตรเจน 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตและคุณภาพของดอกดีที่สุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติยกเว้นเส้นผ่านศูนย์กลางของกิ่งเพียงค่าเดียวและต้นกุหลาบที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารทั้งสองความเข้มข้นนี้จัดอยู่ในเกณฑ์กุหลาบดอกใหญ่เกรด

พิเศษ ซึ่งมีผลต่อราคาจำหน่ายได้ราคาสูงกว่าดอกขนาดอื่น ฉะนั้น ในการผลิตกุหลาบตัดดอกในทางการค้าจึงควรใช้สารละลายที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับกุหลาบตัดดอกที่ปลูกในกระถางเพื่อให้ได้ดอกกุหลาบที่คุณภาพดีและต้นทุนต่ำ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำวิจัย และขอขอบคุณศูนย์บริการการพัฒนาขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่ อันเนื่องมาจากพระราชดำริที่ให้ความอนุเคราะห์โรงเรือนแบบควบคุมอุณหภูมิ (evaporative cooling greenhouse) ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ไชยยันต์ ดวงคงทอง. 2545. กุหลาบตัดดอก Hybrid Tea, (HT). ฐานเกษตรกรรม, นนทบุรี. 78 หน้า.
 นงนุช เชื้อนแก้ว. 2551. การวิเคราะห์ความอุดมสมบูรณ์ของดินและธาตุอาหารพืชในกุหลาบ.

- วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 112 หน้า.
- พิทยา สรวมศิริ. 2554. ธาตุอาหารในการผลิตพืชสวน.
ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
เชียงใหม่. 326 หน้า.
- อุไรวรรณ ไอยสุวรรณ และ จีระศักดิ์ ขอบแต่ง. 2559.
อิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการย่อยสลายใน
กระเพาะรูเมน และองค์ประกอบทางเคมีของ
หญ้าแพงโกล่า. วารสารเกษตร 32(1): 118-125.
- Anamika, A.R. and M.L. Lavania. 1990. Effect of
nitrogen, phosphorus and potassium on
growth, yield and quality of rose. Haryana
Journal of Horticultural Sciences 19(3-4):
291-298.
- Hilbert, G., J.P. Soyer, C. Molot, J. Giraudon, S. Milin
and J.P. Gaudillere. 2003. Effects of
nitrogen supply on must quality and
anthocyanin accumulation in berries of cv.
Merlot. Vitis-Journal of Grapevine Research
42(2): 69-76.
- Huché-Thélier, L., R. Boumaza, S. Demotes-Mainard,
A. Canet, R. Symoneaux, O. Douillet and V.
Guérin. 2011. Nitrogen deficiency increases
basal branching and modifies visual quality
of the rose bushes. Scientia Horticulturae
130(1): 325-334.
- Kofranek, A.M. 1980. Cut Chrysanthemums. pp. 3-
45. In: R. A. Larson (ed.). Introduction to
Floriculture. Academic Press, San Diego,
CA.
- Malik, M.N.A., D.G. Edwards and J.P. Evenson.
1981. Effects of flower bud removal and
nitrogen supply on growth and
development of cotton (*Gossypium*
hirsutum L.). Australian Journal of Plant
Physiology 8(3): 285-291.
- Qasim, M., I. Ahmad, M.A. Khan and K. Ziaf. 2005.
Efficacy of varying nitrogen levels on
growth, flower yield and leaf N contents of
Rosa chinensis cv. Gruss-an-teplitz.
Pakistan Journal of Agricultural Sciences
42(3-4): 16-21.
- Rajamani, K. and K.S. Sundaram 1997. Influence of
varying levels of N, P and K on the growth
and yield of rose cv. Happiness. South
Indian Horticulture 45(1-2): 72-74.
- Ram, M., K.V. Prasad, C. Kaur, S.K. Singh, A. Arora
and S. Kumar. 2011. Induction of
anthocyanin pigments in callus cultures of
Rosa hybrida L. in response to sucrose and
ammonical nitrogen levels. Plant Cell,
Tissue and Organ Cultural 104(2): 171-179.
- Silberbush, M. and J.H. Lieth. 2004. Nitrate and
potassium uptake by greenhouse roses
(*Rosa hybrida*) along successive flower-cut
cycles: a model and its calibration. Scientia
Horticulturae 101: 127-141
- Singh, A.K. 2006. Flower Crops: Cultivation and
Management. New India Publishing
Agency, Pitam Pura, New Delhi. 447 p.
- Ying, H.K. and J.N. Joiner. 1960. The effect of
sources and levels of nitrogen on the
growth and flowering of potted
chrysanthemums. Proceedings of the
Florida State Horticultural Society 73: 401-
404.
- Young, T.W., J.R. Iley and N.C. Hayslip. 1966.
Response of rose grow with and without
plastic mulch at three nitrogen levels.
Proceedings of the Florida State
Horticultural Society 79: 438-443.
- Widmer, R.E. 1980. Cyclamen. pp. 375-393. In: R.A.
Larson (ed.). Introduction to Floriculture.
Academic Press, San Diego, CA.

การผลิตหอมแดงปลอดเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Production of Virus-free Shallot Using Tissue Culture Techniques

ณัฐธิกา วรณรัตน์^{1/} และ เกวลิน คุณาศักดากุล^{1/*}

Natthika Wannarat^{1/} and Kaewalin Kunasakdakul^{1/*}

^{1/}สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/}Division of Plant Pathology, Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

*Corresponding author: Email: kaewalin.k3@gmail.com

(Received: 8 April 2016; Accepted: 30 June 2016)

Abstract: Shallot cv. Ban-Hong, bulb seeds were collected from planting area of Ban Hong district, Lamphun province. The samples were planted in sterile soil for 20 days under greenhouse condition before viral symptoms on the leaves were evaluated. Five levels of disease severities were recorded in number 0-4 (no symptom - severe symptoms). Results of the yellow stripe symptoms were detected on the leaves of all the samples, no healthy normal sample was observed. Disease severities, level 2 was the most detected at 37% followed by the level 1, 3 and 4 at 28.5, 18 and 16.5%, respectively. The virus types were diagnosed with various techniques. The mechanical transmission using infectious leaf sap was first detected and the results revealed local lesions on leaves of indexing hosts, *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Celosia argentea* and *Cassia occidentalis* after 14-20 days of inoculation. Secondly, the commercial POCy KIT was used for serological diagnosis of *Potyvirus*, *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) and *Cymbidium mosaic virus* (CyMV). Positive results for *Potyvirus* and CyMV in all tested samples were observed and then the positive result was confirmed again by ELISA technique with *Potyvirus* antiserum from Agdia Elkhart, Indiana, USA. In addition, virus particle was examined under transmission electron microscopy (TEM), flexuous particles of about 10 nm in width and 600-760 nm in length of the particular group of *Potyvirus* were observed. Thus, meristem tip cultured on MS medium was used to produce the virus-free plantlets. By excised the meristem tip from the bulbs and then ELISA technique was used to evaluate the virus-free plantlets. Results showed 88% of the 0.5 mm meristem tip excisions gave virus-free plantlets with the survival rate at 78.62%. Even, all of the 0.3 mm meristem tip excisions revealed virus-free plant but only 16.78% of that was survived. In order to mass-produce the virus-free plantlets, multiple shoot inductions were tested using various concentrations of plant growth regulators supplemented in MS medium. Results revealed after cultured for 2 months, the 4.2 shoots per explant were successfully developed on the medium supplemented with 2ip at the concentration of 1 ppm and the 2.3 shoots per explant were induced in 0.5 ppm of the same plant growth regulators. On the other hand, shoot multiplication trials on the media mixed with NAA at all concentration showed non significant number of shoot per explant compared with control treatment.

Keywords: *Potyvirus*, shallot (*Allium ascalonicum* L.), tissue culture technique, virus-free plantlets

บทคัดย่อ: จากการนำตัวอย่างหัวพันธุ์หอมแดงพันธุ์บ้านไธสง จากพื้นที่เพาะปลูก อำเภอบ้านไธสง จังหวัดลำพูน มาปลูกในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เพื่อสังเกตอาการโรคใบด่างในสภาพโรงเรือน เป็นเวลา 20 วัน ซึ่งจากการประเมินความรุนแรงของโรค 5 ระดับ (0-4) พบว่าต้นหอมแดงทั้งหมดแสดงอาการใบด่างเป็นขีดสีเหลืองสลับสีเขียวตามแนวยาวของใบ โดยระดับความรุนแรงที่พบมากที่สุดคือระดับ 2 คิดเป็นร้อยละ 37 รองลงมาคือ ระดับ 1, 3 และ 4 คิดเป็นร้อยละ 28.5, 18 และ 16.5 ตามลำดับ เมื่อนำหอมแดงที่แสดงอาการใบด่างมาทดสอบการถ่ายทอดโรคด้วยวิธีกล พบว่าทำให้เกิดอาการแบบ local lesions ในพืชทดสอบ ได้แก่ *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Celosia argentea* และ *Cassia occidentalis* หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 14-20 วัน จากนั้นตรวจสอบชนิดของเชื้อไวรัสในพืชที่แสดงอาการด้วยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาจากการใช้ชุดตรวจไวรัสสำเร็จรูป POCy KIT สำหรับตรวจหาเชื้อ *Potyvirus*, *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) และ *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) พบว่าตัวอย่างทั้งหมด ให้ผลบวกกับ *Potyvirus* และ CyMV จากนั้นยืนยันผลอีกครั้งด้วย เทคนิค ELISA โดยใช้แอนติซีรัมของเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus* จากบริษัท Agdia Elkhart, Indiana, USA พบว่าให้ผลเช่นเดียวกัน และจากการตรวจสอบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) พบอนุภาคไวรัสลักษณะเส้นยาวคด ขนาดความกว้าง 10 นาโนเมตร ความยาว 600-760 นาโนเมตร ซึ่งเป็นขนาดอนุภาคโดยรวมของเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus* เมื่อนำหัวพันธุ์หอมแดงดังกล่าวมาทำให้ปลอดไวรัส ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด และตรวจสอบการปลอดโรคด้วยเทคนิค ELISA ด้วยแอนติซีรัมของ *Potyvirus* พบว่าการตัด เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดขนาด 0.5 มิลลิเมตร มีการปลอดเชื้อไวรัสร้อยละ 88 และมีชีวิตรอดหลังการเพาะเลี้ยงร้อยละ 78.62 ขณะที่การตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดขนาด 0.3 มิลลิเมตร มีการปลอดเชื้อไวรัสร้อยละ 100 และมีชีวิตรอดหลังการเพาะเลี้ยงร้อยละ 16.78 นอกจากนี้ จากการทดลองชักนำให้เกิดการแตกกอของต้นหอมแดงปลอดเชื้อไวรัสในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม 2ip ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นการแตกกอของหอมแดงได้ดีที่สุด โดยมีอัตราการแตกกอเฉลี่ยเท่ากับ 4.2 ยอดต่อต้น รองลงมาคืออาหารสังเคราะห์ที่เติม 2ip ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการแตกกอเท่ากับ 2.3 ยอดต่อต้น ส่วนอาหารสังเคราะห์ที่เติม 2ip ร่วมกับ NAA ทุกความเข้มข้น พบการแตกกอไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม

คำสำคัญ: โฟทีไวรัส หอมแดง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พืชปลอดไวรัส

คำนำ

หอมแดง (*Allium ascalonicum* L.) จัดเป็นพืชผักสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เป็นที่นิยมของตลาดเพื่อการบริโภคในครัวเรือน และการแปรรูปในภาคอุตสาหกรรมอาหาร มีพื้นที่เพาะปลูกหลักในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน พะเยา และอุดรดิตถ์ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) โดยเฉพาะจังหวัดลำพูน นับเป็นแหล่งผลิตหัวพันธุ์หอมแดงพันธุ์ “บ้านไธสง” จำหน่ายให้กับเกษตรกรพื้นที่อื่น โดยมีการเพาะปลูกหอมแดงถึง 3 ครั้งต่อปี ซึ่งหอมแดงสายพันธุ์บ้านไธสงมีลักษณะเด่น คือ ทนทานต่อโรครากเน่า ให้ผลผลิตดี มีกลิ่นฉุนจัด หัวกลมโต เปลือกนอกมีสีแดงเข้ม กาบใบนอกมีสีม่วง เมื่อปลูกแล้วใบจะมี

สีเขียวทึบ ตั้งตรง (สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช, 2559) ซึ่งนับว่ามีศักยภาพการแข่งขันในด้านการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ จากการที่หอมแดงเป็นพืชที่มีการขยายพันธุ์โดยใช้หัว ทำให้ประสบปัญหาการติดเชื้อไวรัสจากต้นแม่พันธุ์ไปยังส่วนขยายพันธุ์ทุกครั้งที่มีการเพาะปลูก โดยเฉพาะเชื้อไวรัสในสกุล โฟทีไวรัส (*Potyvirus*) นับเป็นเชื้อไวรัสที่สำคัญที่เข้าทำลายหอมแดงและพืชชนิดต่าง ๆ ในพืชสกุล *Allium* (Dijk, 1994; Fajardo et al., 2001) การสะสมของโรคไวรัสในหัวพันธุ์ ทำให้พืชมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคอื่น ๆ เป็นเหตุให้การผลิตหอมแดงมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการใช้หัวพันธุ์หอมแดงปลอดเชื้อไวรัสในการเพาะปลูกจึงนับเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว การนำเทคนิค

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการผลิตพืชปลอดไวรัสเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สามารถเพิ่มปริมาณกล้าพืชให้ได้อย่างรวดเร็ว ในระยะเวลาอันสั้น (อัญชลี และ เกวณิน, 2555; Dijk, 1994) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อการผลิตหอมแดงปลอดเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อนำไปใช้ในการผลิตหัวพันธุ์หอมแดงพันธุ์“บ้านโฮ้ง” ปลอดโรคสำหรับใช้ประโยชน์ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อาการ และการตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสในหอมแดง

1.1 การประเมินระดับความรุนแรงของโรคไวรัส

ประเมินระดับความรุนแรงของโรคไวรัสในหอมแดงพันธุ์บ้านโฮ้ง โดยสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์จากเกษตรกรในอำเภอบ้านโฮ้ง จังหวัดลำพูน จำนวน 200 หัว มาปลูกในดินที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ บันทึกลักษณะอาการใบด่างเมื่อหอมแดงมีอายุ 20 วันหลังปลูก โดยกำหนดเกณฑ์การประเมินความรุนแรงของโรคเป็น 5 ระดับ ประกอบด้วย (ภาพที่ 1)

ระดับ 0 ไม่แสดงอาการใบด่าง และไม่มีลักษณะผิดปกติใดๆ

ระดับ 1 แสดงอาการใบด่าง 1-10% ของพื้นที่ใบ โดยพบอาการด่างชัดเจนเพียงบางใบ

ระดับ 2 แสดงอาการใบด่าง 11-25% ของพื้นที่ใบ โดยพบอาการด่างชัดเจนเพียงบางใบ

ระดับ 3 แสดงอาการใบด่าง 26-50% ของพื้นที่ใบ โดยพบอาการด่างชัดเจนเกือบทุกใบ

ระดับ 4 แสดงอาการใบด่าง 51-75% ของพื้นที่ใบ โดยพบอาการด่างชัดเจนเกือบทุกใบ ใบย่นผิดปกติ และแกร็น

1.2 การถ่ายทอดเชื้อไวรัสในพืชทดสอบ

ทดสอบการถ่ายทอดโรคด้วยวิธีกล (mechanical transmission) โดยใช้ น้ำคั้นจากใบหอมแดงที่แสดงอาการใบด่าง นำมาบดรวมกับ ฟอสเฟตบัพเฟออร์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 7.2 ในอัตราส่วนใบหอมแดง 1 กรัม ต่อ บัพเฟออร์ 5 มิลลิกรัม จากนั้นนำมาปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบที่มีอายุ 1-2 เดือน ได้แก่ *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Cassia occidentalis* และ *Celosia argentea* โดยการโรยผลคาร์โบรันต์ขนาด 600 mesh ลงบนใบพืชทดสอบ จากนั้นนำน้ำคั้นที่เตรียมไว้ทาบบนใบพืชทิ้งไว้ 1-2 นาที ใช้สำลีชุบน้ำคั้นเชื้อไวรัสทาบบนใบพืชทดสอบ ส่วนในชุดควบคุมใช้ฟอสเฟตบัพเฟออร์ แทนน้ำคั้น จากนั้นสังเกตลักษณะอาการที่เกิดขึ้นบนใบพืชทดสอบหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 14-30 วัน

1.3 การตรวจสอบชนิดของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยา

นำใบหอมแดงที่แสดงอาการใบด่าง มาตรวจสอบหาชนิดของเชื้อไวรัส ด้วยชุดตรวจไวรัสสำเร็จรูป POCy KIT ที่พัฒนาโดยกรมวิชาการเกษตร (สุรภีและคณะ, 2549) สำหรับการตรวจหาเชื้อ *Potyvirus*, *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) และ *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) ดำเนินการทดสอบตามวิธีการของผู้ผลิต และยืนยันผลการตรวจหาเชื้อไวรัสอีกครั้ง ด้วยเทคนิค enzyme-linked immunosorbent

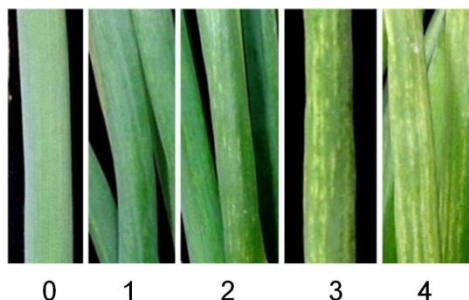


Figure 1 Yellow stripe symptoms of shallot cv. Ban-Hong, severity levels rating at 0 = No symptom, 1 = 1-10%, 2 = 11-25%, 3 = 26-50% and 4 = 51-75% observing in total leaf area per plant

assay (ELISA) โดยใช้แอนติซีรั่มของเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus* ของบริษัท Agdia Elkhart, Indiana, USA

1.4 การตรวจสอบอนุภาคของเชื้อไวรัสภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)

นำตัวอย่างใบหอมแดงที่แสดงอาการใบต่างอย่างชัดเจน ส่งตรวจสอบอนุภาคของเชื้อไวรัสภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (transmission electron microscope) ณ ที่ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ซึ่งได้เตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค dip preparation และย้อมสีแบบ negative stain

2. การเพาะเลี้ยงหอมแดงปลอดไวรัสจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด

นำหัวหอมแดงมาปอกเปลือกชั้นนอกออก 2-3 ชั้น ล้างให้สะอาดจากนั้นฟอกฆ่าเชื้อโดยด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 นาที แล้วย้ายมาแช่ลงในน้ำ ออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้า (electrolyzed oxidizing water: EO) ความเข้มข้นร้อยละ 1 ซึ่งนำมาประยุกต์ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียบริเวณผิวพืช โดยไม่ทำให้เนื้อเยื่อพืชเกิดความเสียหาย (วันวิสา และ เกวลิน, 2558) โดยเติมสารจับใบ (Tween 20) 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง พักไว้ให้แห้งก่อนนำพืชไปตัดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope) โดยตัดส่วนที่ไม่ต้องการออกอีกครั้ง และใช้มีดผ่าตัด ตัดส่วนของ leaf primordial ออกจนสามารถมองเห็นส่วนของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (meristem tip) ภายใต้กำลังขยาย 40 เท่า ให้ปลายมีดผ่าตัดที่สะอาด ตัดส่วนของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดให้มีขนาดความยาว 0.3 มิลลิเมตร และ 0.5 มิลลิเมตร จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ MS ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน เปรียบเทียบอัตราการมีชีวิตรอดเมื่อสามารถสังเกตเห็นว่าเนื้อเยื่อเจริญพัฒนาไปเป็นใบอ่อนอย่างชัดเจน (ประมาณ 20-50 วัน) และ

ตรวจสอบการปลอดเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA โดยใช้แอนติซีรั่มของเชื้อไวรัสสกุล *Potyvirus* หลังจากต้นกล้าหอมแดงเจริญเป็นต้นสมบูรณ์ประมาณ 90-120 วัน

3. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นกล้าหอมแดง

ทดสอบสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนหอมแดงในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Roksana *et al.* (2002) เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2-isopentenyl adenine (2ip) และ naphthalene acetic acid (NAA) เพื่อชักนำให้ต้นหอมแดงเกิดการแตกกอบนอาหารสังเคราะห์ MS โดยปรับระดับความเข้มข้นของการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิด จำนวน 6 กรรมวิธีได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 MS + 2ip ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 MS + 2ip ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 MS + 2ip ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 6 MS + 2ip ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

โดยนำต้นกล้าหอมแดงปลอดเชื้อไวรัสที่เพาะเลี้ยงบน MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 60 วัน มาตัดใบ และรากออก และย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ตามกรรมวิธีดังกล่าวข้างต้น กรรมวิธีละ 20 ข้ำ ๆ ละ 1 ต้น เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยง 60 วัน บันทึกจำนวนยอดโดยสังเกตจากการแตกกอบริเวณฐานของตัวอย่างเริ่มต้นในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. โรคไวรัสในหอมแดง

1.1 การประเมินระดับความรุนแรงของอาการโรคไวรัส

จากการศึกษาลักษณะอาการของโรคไวรัสในหัวหอมแดงพันธุ์บ้านโฮ้ง หลังปลูก 20 วัน พบว่า ต้นหอมแดงทั้งหมดแสดงอาการใบด่างอย่างชัดเจน โดยพบลักษณะใบด่างสีเหลืองสลับสีเขียวเป็นทางยาวตามแนวเส้นใบ โดยจะพบอาการชัดเจนที่สุดบริเวณใบอ่อน เมื่อใบหอมแดงเริ่มแก่จะมีสีเขียวเข้มมากขึ้น ทำให้อาการด่างลดลง แต่พบว่าสีใบเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน-เหลือง นอกจากนี้มักพบว่าต้นที่แสดงอาการใบด่างรุนแรง จะมีอาการใบม้วนงอ และแคระแกร็นร่วมด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Dijk (1994) และ Arya *et al.* (2006) ที่อธิบายอาการของพืชในสกุล *Allium* ที่ถูกเชื้อในสกุล *Potyvirus* เข้าทำลาย ว่ามักพบอาการซีดจาง และอาการใบด่างเป็นแถบสีเหลืองยาวตามเส้นใบ ใบผิดรูป และการเจริญเติบโตของต้นหยุดชะงักหรือช้าลง

จากการประเมินระดับความรุนแรงของอาการใบด่างของหอมแดงพบว่า ระดับความรุนแรงที่พบมากที่สุดคือ ระดับที่ 2 คิดเป็นร้อยละ 37 รองลงมาคือระดับที่ 1 คิดเป็นร้อยละ 28.5 ส่วนระดับที่ 3 และ 4 พบร้อยละ 18 และ 16.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ใบหอมแดงที่แสดงลักษณะอาการของโรคไวรัสในระดับที่ 3-4 จะเหลือง ใบเรียวเล็ก ซึ่งจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสถานการณ์การเพาะปลูกหอมแดงในปัจจุบันของเกษตรกร ประสบปัญหาการใช้หัวพันธุ์ที่มีการสะสมของโรคไวรัสมาเป็นเวลานาน ซึ่งอาจส่งผลให้ปริมาณ และคุณภาพผลผลิตที่ลดลง ทั้งนี้ Lot *et al.* (1998) ได้รายงานไว้ว่าโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส

ที่เกิดในพืชสกุล *Allium* โดยเฉพาะเชื้อไวรัส *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) และ *Leek yellow stripe virus* (LYSV) ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus* ส่งผลการพบต่อน้ำหนักผลผลิตลดลงร้อยละ 54 เช่นเดียวกับ Bagil *et al.* (2012) ที่รายงานผลกระทบที่เกิดจากเชื้อไวรัส OYDV ในกระเทียมซึ่งส่งผลให้ปริมาณน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของกระเทียมลดลงร้อยละ 21.5 และ 24.0 ตามลำดับ

1.2 การถ่ายทอดโรคไวรัสในพืชทดสอบ

จากการทดสอบการถ่ายทอดโรคด้วยวิธีกล โดยใช้พืชทดสอบจำนวน 4 ชนิด พบว่า *C. amaranticolor* แสดงอาการแบบ chlorotic local lesions หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 20 วัน สอดคล้องกับการรายงานของ Soliman *et al.* (2012) ที่พบอาการดังกล่าวหลังจากการปลูกเชื้อ OYDV ด้วยน้ำคั้นกระเทียมลงในพืชชนิดนี้ ส่วนใน *C. quinoa* แสดงอาการแบบ necrotic local lesions หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 20 วัน เช่นเดียวกับ *Ce. argentea* ที่แสดงอาการแบบ necrotic local lesions หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 20 วัน สอดคล้องกับการเข้าทำลายของทั้งเชื้อ LYSV รวมทั้งเชื้อไวรัสหลายชนิดในในสกุล *Potyvirus* และเป็นสาเหตุโรคไวรัสที่สำคัญของพืชสกุล *Allium* ตามการรายงานของ Bos (1981) และ Lot *et al.* (1998) นอกจากนี้ใน *Ca. occidentalis* ยังพบอาการแบบ necrotic local lesions โดยมีจุดเนื้อเยื่อตายสีดำขอบเหลืองอย่างชัดเจนหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 15 วัน ซึ่งอาจเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสชนิดอื่นร่วมด้วย เช่น CyMV ตามการรายงานของ Corbett (1960) จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าอาการใบด่างของหอมแดง เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส ที่สามารถถ่ายทอดโดยวิธีกล และทำให้เกิดอาการแบบ local lesion ในพืชทดสอบทั้งหมด (ภาพที่ 2) ซึ่งการวินิจฉัยอาการใบ

Table 1 Percentages of virus disease in various severity levels (0-4) in shallot cv. Ban-Hong after planting for 20 days

disease severity level	Discovery percentage of disease severity (%)
0	0.0
1	28.5
2	37.0
3	18.0
4	16.5

ต่างของหอมแดงด้วยการถ่ายทอดโรคโดยวิธีกลลงบนพืชทดสอบชนิดต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น ทำให้ทราบแนวโน้มเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus*

1.3 การตรวจสอบชนิดของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคทางเซรัมวิทยา

จากการตรวจสอบชนิดของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคทางเซรัมวิทยาด้วยชุดตรวจไวรัสสำเร็จรูป POCy KIT สำหรับตรวจหาเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus*, *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) และ *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) พบว่าน้ำคั้นของพืชที่เป็นโรคให้ผลบวกกับการตรวจสอบเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus* และ CyMV ซึ่งเป็นไวรัสในสกุล *Potexvirus* จากนั้นเมื่อยืนยันผลอีกครั้งด้วย เทคนิค ELISA โดยใช้แอนติซีรัมของ ไวรัสในสกุล *Potyvirus* พบว่าตัวอย่างทั้งหมดให้ผลบวกกับแอนติซีรัมของ *Potyvirus* ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus* ในหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม ซึ่งส่งผลกระทบต่อคุณภาพ และปริมาณผลผลิตในหลายประเทศ เช่น ประเทศนิวซีแลนด์ ตุรกี อิหร่าน และ อาเจนตินา เป็นต้น (Ward *et al.*, 2009; Sevik and Akcura, 2013; Shahraeen *et al.*, 2008; Chinestra *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่ามีการเข้าทำลายของไวรัสมากกว่า 1 ชนิด ในหอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม จากการรายงานของ Ahlawat *et al.*, 1997; Ward, 2009 อย่างไรก็ตามยังไม่พบการรายงานการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส CyMV ในพืชสกุล *Allium*

1.4 การตรวจสอบอนุภาคของเชื้อไวรัสภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)

จากการตรวจสอบอนุภาคของเชื้อไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน จากน้ำคั้นใบหอมแดงที่แสดงอาการใบด่าง พบอนุภาคของเชื้อไวรัสลักษณะเป็นเส้นยาวคด มีขนาดความกว้าง 10 นาโนเมตร และมีความยาวตั้งแต่ 600-760 นาโนเมตร (ภาพที่ 3) ซึ่งเป็นลักษณะอนุภาคโดยรวมของเชื้อไวรัสในสกุล *Potyvirus* (Regenmortel *et al.*, 2000) เช่นเดียวกับการรายงานของ Kang (2007) ซึ่งพบอนุภาคของเชื้อ *Potyvirus* ความยาว 600 - 800 นาโนเมตร ในตัวอย่างกระเทียมที่แสดงอาการโรคไวรัส

2. การเพาะเลี้ยงพืชปลอดไวรัสจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด

จากการตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดให้มีขนาด 0.5 และ 0.3 มิลลิเมตร พบว่า การตัดเนื้อเยื่อเจริญขนาด 0.5 มิลลิเมตรมีชีวิตรอดคิดเป็นร้อยละ 78.62 ซึ่งภายหลังจากการตัดมาเลี้ยงบนอาหาร เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดสามารถพัฒนาเป็นใบอ่อนคู่แรก ในระยะเวลา 15 วัน จากนั้น จะเจริญเป็นต้นสมบูรณ์ขนาดเล็กและเกิดรากบนอาหารสังเคราะห์ MS ใน 60 วัน ส่วนขนาด 0.3 มิลลิเมตรมีชีวิตรอดเพียงร้อยละ 16.78 โดยจะเจริญและพัฒนาเป็นใบอ่อนใบแรก ในระยะเวลา 30-40 วัน ซึ่งนับว่าใช้ระยะเวลานาน เนื่องจากการตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดที่ขนาด 0.3 มิลลิเมตรมีขนาดเล็กมาก จึงทำให้เกิดบาดแผล

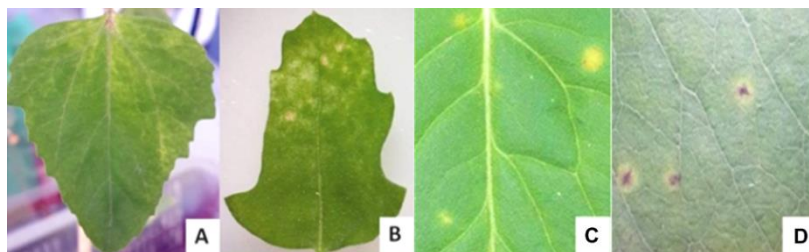


Figure 2 Local lesions of indicator plants were induced by infectious sap of shallot cv. Ban-Hong. *Chenopodium amaranticolor* showed chlorotic local lesions (A), *Chenopodium quinoa* (B), *Celosia argentea* (C) and *Cassia occidentalis* (D) showed necrotic local lesions at 15-20 days after inoculation.

มากกว่า ซึ่งเนื้อเยื่อส่วนใหญ่มักจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายไป อย่างไรก็ตาม จากการนำต้นหอมแดงที่เจริญจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดทั้ง 2 ขนาดมาสังเกตอาการโรคไวรัสบนใบพบว่าไม่แสดงอาการใบต่าง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นหอมที่ไม่ได้ผ่านการตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (ภาพที่ 4) และหลังจากการตรวจสอบการปลอดโรคไวรัส *Potyvirus* และ *CyMV* ด้วยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาพบว่า ต้นหอมแดงที่เจริญจากเนื้อเยื่อเจริญขนาด 0.3 มิลลิเมตร ให้ผลลบกับแอนติซีรัมของเชื้อ *Potyvirus* และ *CyMV* คิดเป็นร้อยละ 100 ส่วนเนื้อเยื่อเจริญขนาด 0.5 มิลลิเมตร มีร้อยละของการปลอดโรคไวรัสเท่ากับร้อยละ 88 เช่นเดียวกับกับการรายงานของ Soliman *et al.* (2012) ที่พบว่าขนาดของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดส่งผลต่อการปลอดจากเชื้อไวรัส OYDV ของกระเทียม ซึ่งแสดงว่าการตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดให้มีขนาดเล็กสามารถผลิตต้นหอมแดงปลอดเชื้อไวรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพแม้จะมีอัตราการอยู่รอดต่ำ

3. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นกล้าหอมแดง

จากการทดสอบสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ 2ip และ NAA ซึ่งหลังจากย้ายต้นหอมแดงลงบนอาหารแต่ละสูตรตามวิธีการข้อที่ 3 เป็นเวลา 60 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ 3 เติม 2ip ในอาหารสังเคราะห์ MS ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นการแตกกอของต้นอ่อนหอมแดงให้เกิดการแตกกอสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีอัตราการแตกกอเฉลี่ยเท่ากับ 4.2 ยอด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 2 เติม 2ip ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการแตกกอเฉลี่ย 2.3 ยอด แต่เมื่อเติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2ip ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งการเติมเฉพาะ NAA ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าต้นหอมแดงมีการแตกกอเพียงเล็กน้อยซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ตารางที่ 2, ภาพที่ 5)

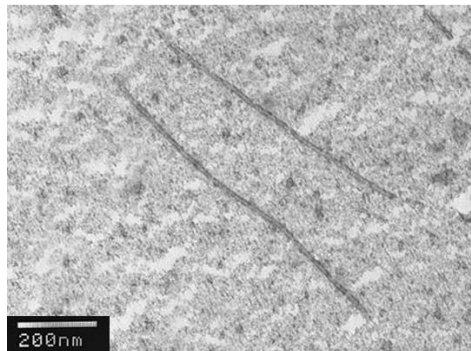


Figure 3 Electron micrograph, negative staining of *Potyvirus* particles in partially purified extract from infectious leaf of shallot cv. Ban-Hong (x 30,000)

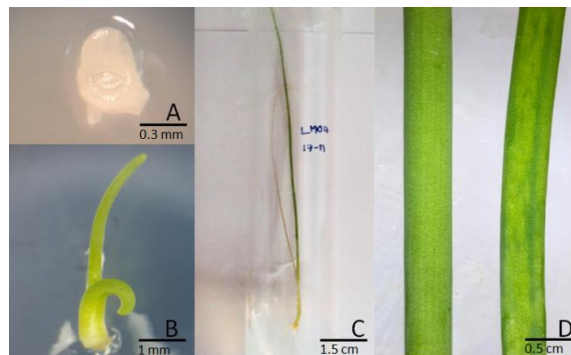


Figure 4 Growth and regeneration from meristem-tips of Shallot cv. Ban-Hong on MS medium at 1 day (A), 15 days (B) and 60 days (C) after cultures. The healthy leaf (left-D) was observed after for 4 months comparing with systemic mosaic symptom of the infected control (right-D)

Table 2 Effects of plant growth regulators supplemented in MS medium for multiple shoot induction of shallot cv. Ban-Hong after the axillary shoots were cultured *in vitro* for 2 months

Treatment	2ip (mg/l)	NAA (mg/l)	Shoot number
1	-	-	1.05 c*
2	-	0.1	1.10 c
3	0.5	-	2.30 b
4	1.0	-	4.25 a
5	0.5	0.1	1.10 c
6	1.0	0.1	1.30 c
CV			22.43
LSD			0.6165

*Means followed by the difference letters were significantly different at $p \leq 0.05$ by the least significant difference (LSD).



Figure 5 Shoots multiplication of shallot cv. Ban-Hong after 2 months cultured on MS medium free-growth regulators (A), MS + 0.1 mg/l NAA (B), MS + 0.5 mg/l 2ip (C), MS + 1 mg/l 2ip (D), MS + 0.5 mg/l 2ip + 0.1 mg/l NAA (E) and MS + 1 mg/l 2ip + 0.1 mg/l NAA (F)

สรุป

จากการศึกษาอาการใบด่างและตรวจสอบโรคไวรัสในหัวพันธุ์หอมแดงพันธุ์บ้านโฮ้ง ด้วยการปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ เทคนิคทางเซรุ่มวิทยา และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่า มีเชื้อไวรัสสาเหตุในสกุล *Potyvirus* เมื่อนำหัวพันธุ์ดังกล่าวมา ทำให้ปลอดไวรัสด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดขนาด 0.5 และ 0.3 มิลลิเมตร และตรวจสอบการปลอดโรคด้วยเทคนิค ELISA พบว่า การตัดเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ขนาด 0.3 มิลลิเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS มีประสิทธิภาพในการผลิตหอมแดงปลอดโรคสูงคิดเป็นร้อยละ 100 แต่มีร้อยละการมีชีวิต

รอดต่ำคิดเป็นร้อยละ 16.78 ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญขนาด 0.5 มิลลิเมตรมีร้อยละการปลอดโรคไวรัสร้อยละ 88 แต่มีร้อยละการมีชีวิตรอดสูงกว่าคิดเป็นร้อยละ 78.62 และสามารถเพิ่มปริมาณต้นกล้าหอมแดงปลอดโรคไวรัสด้วยการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม 2ip ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นการแตกกอได้เฉลี่ยเท่ากับ 4.2 ยอดต่อต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมการค้าต่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- วันวิสา เตชะวงศ์ และ เกวลิน คุณาศักดากุล. 2558. การใช้น้ำออกซิไดซ์ที่ผ่านการแยกด้วยไฟฟ้าในการควบคุม เชื้อแบคทีเรียเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผักอินทรีย์. วารสารเกษตร 31(1): 39 - 46
- สุรภี กิริติยะอังกูร. 2549. การประเมินผลโครงการชุดตรวจสอบไวรัส CyMV และ ORSV ในกล้วยไม้. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 97 หน้า
- สำนักงานคุ้มครองพันธุ์พืช. 2559. หอมแดงพันธุ์บ้านโฮ้ง. กรมวิชาการเกษตร. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/pvp/images/stories/indexpp2518/AnnoDOA_nameplant/t639.pdf
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2557. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/download/download_journal/2558/yearbook57.pdf (20 พฤศจิกายน 2558)
- อัญชลี ตาคำ และ เกวลิน คุณาศักดากุล. 2555. การผลิตกลัฟริกพิโรธปลอดโรคไวรัสโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารเกษตร 28(1): 61-74
- Ahlawat, Y.S. and A. Varma. 1997. Serological detection of mixed viral infection in onion seed crop and possible measure for its management. Indian Phytopathology 50: 37-140.
- Arya, M., V.K. Baranwal, Y.S. Ahlawat and L. Singh. 2006. RT-PCR detection and molecular characterization of *Onion yellow dwarf virus* associated with garlic and onion. Current Science 91: 1230-1234.
- Bagil, F., V. Stojšin, D. Budakov, S. Moh, A.E. Swaeh and J. Gvozdanovic-Varga. 2012. Effect of onion yellow dwarf virus (OYDV) on yield components of fall garlic (*Allium sativum* L.) in Serbia. African Journal of Agricultural Research 7(15): 2386-2390.
- Bos, L. 1981. *Onion yellow dwarf virus*. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No. 240.
- Chinestra, S.C., C. Facchinetti, N.R. Curvetto and P.A. Marinangeli. 2010. Detection and Frequency of Lily Viruses in Argentina. Plant Disease 94(10): 1188-1194
- Corbett, M.K. 1960. Purification by density gradient centrifugation electron microscopy and properties of *Cymbidium mosaic virus*. Phytopathology 50: 346- 351.
- Dijk, P.V. 1994. Virus diseases of *Allium* sp. and prospects for their control. Acta Horticulturae 358: 299-306
- Fajardo, T.V.M., M. Nishijima, J.A. Buso, A.C. Torres, A.C. Avila and R.O. Resende. 2001. Garlic viral complex: identification of *Potyvirus* and *Carlaviruses* in central Brazil. Fitopatologia Brasileira 26: 619-626.
- Kang, S.G., J.K. Bong, T.L. Eun and U.C. MOO. 2007. *Allexivirus* Transmitted by Eriophyid Mites in Garlic Plants Journal of Microbiology and Biotechnology 17(11), 1833-1840.
- Lot, H., V. Chevelon, S. Souche and B. Dellecolle. 1998. Effect of *Onion yellow dwarf virus* and *Leek yellow dwarf virus* on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivar. Plant Diseases 82: 1385.
- Regenmortel, M.H.V., C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, E.B. Carstens, M.K. Estes, S.M. Lemon, J. Maniloff, M.A. Mayo, D.J. McGeoch, C.R. Pringle and R.B. Wickner. 2000. Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, California, USA.

- Roksana, R., M.F. Alam, R. Islam and M.M. Hossain. 2002. In vitro bulblet formation from shoot apex in garlic. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 12(1): 11-17.
- Shahraeen, N., D.E. Lesemann and T. Ghotbi. 2008. Survey for viruses infecting onion, garlic and leek crops in Iran. *Journal compilation © 2008 OEPP/EPPO* 38: 131-135.
- Soliman, A.M., S.Y.M. Mahmoud and R.A. Dawood. 2012. Molecular characterization of *onion yellow dwarf virus* (garlic isolate) with production of virus-free plantlets. *International Journal of Virology* 8: 61-70.
- Sevik, M.A. and C. Akcura. 2013. Viruses occurring in onion crop in Amasya province, the major onion producing region in Turkey. *Indian Journal of Virology* 24: 78-81.
- Ward, L.I., Z. Perez-Egusquiza, J.D. Fletcher and G.R.G. Clover. 2009. A survey of viral diseases of *Allium* crops in New Zealand. *Australasian Plant Pathology* 38: 533-539.
-

ระบบสารสนเทศเพื่อการตัดสินใจและการจัดการเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู
Phenacoccus manihoti Matile-Ferrero (Hemiptera: Pseudococcidae)
ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกของประเทศไทย

Information System for Decision Making and Managing Cassava Pink Mealybug,
Phenacoccus manihoti Matile-Ferrero (Hemiptera: Pseudococcidae)
in Northeastern and Eastern Thailand

รัชฎาวรรณ เงินกลิ่น^{1/*} และ เบญจคุณ แสงทองพราว^{1/}
Ratchadawan Ngoen-klan^{1/*} and Benjakhun Sangthongpraow^{1/}

^{1/}ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 10900

^{1/} Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author: Email: ngerklun@yahoo.com

(Received: 3 December 2015; Accepted: 13 June 2016)

Abstract: Geographical Information Systems and remote sensing technologies, with maximum entropy (Maxent) ecological niche modelling computer software, were used to create predictive risk maps for *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero in Northeastern and Eastern Thailand. The cassava pink mealybug populations were surveyed in 255-cassava plantations covering Prachinburi, Rayong, Sa Kaeo and Nakhon Ratchasima during June 2013 and January 2014. The total number of 204-georeferenced sites presenting *P. manihoti* and environmental data from MODIS satellite imagery and 12 Automatic Weather Station (AWS) were compiled into the species distribution modelling. The models identified low monthly rainfall at 100-135 mm., lower Land surface temperature diurnal cycle (LSTD) range of temperature (-100 to -30 °C), and Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) between -0.3 and 0.6 are well-suited as the biological requirements of cassava pink mealybug. The value of the Area Under Curve (AUC) lies at 0.981 indicated the model gives excellent discrimination. Finally the risk areas at the district level in Nakhon Ratchasima, Prachin Buri, Sa Kaeo, Chachoengsao, Chon Buri and Rayong were described in this study.

Keywords: *Phenacoccus manihoti*, cassava, Geographic Information Systems, ecological niche modelling

บทคัดย่อ: ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ เทคโนโลยีการสำรวจระยะไกล และการสร้างแบบจำลองถิ่นอาศัยด้วยซอฟต์แวร์ Maxent ได้ถูกนำมาใช้ในการสร้างแผนที่ทำนายความเสี่ยงสำหรับเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยทำการสำรวจประชากรเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูในพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังจำนวน 255 แปลง ครอบคลุมจังหวัดปราจีนบุรี ระยอง สระแก้ว และ นครราชสีมา ระหว่างเดือนมิถุนายน 2556 ถึง มกราคม 2557 ได้ข้อมูลตำแหน่งพิกัดภูมิศาสตร์ของแปลงที่ปรากฏเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูจำนวน 204 แปลง และข้อมูลด้านสิ่งแวดล้อมจากภาพถ่ายดาวเทียม MODIS และ สถานีตรวจอากาศอัตโนมัติ 12 สถานี มาทำการสร้างแบบจำลองการกระจายตัวของประชากร พบว่าพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนรายเดือน ระดับต่ำที่ 100-135 มม. ค่าอุณหภูมิผิวดินระหว่างวัน (LSTD) ที่ -100 ถึง -30 °C และค่าดัชนีพืชพรรณ (NDVI) ระหว่าง -0.3 และ 0.6 เป็นสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมกับเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ค่า AUC ที่ 0.981 แสดงว่าแบบจำลองมีความน่าเชื่อถือในระดับดีเยี่ยม พื้นที่เสี่ยงที่ระดับอำเภอในจังหวัดนครราชสีมา ปราจีนบุรี สระแก้ว ฉะเชิงเทรา ชลบุรี และ ระยองได้ถูกอธิบายไว้ในการศึกษาครั้งนี้

คำสำคัญ: *Phenacoccus manihoti* มันสำปะหลัง ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ แบบจำลองถิ่นอาศัย

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่สามารถทนแล้งได้ดีและง่ายต่อการขยายพันธุ์ สามารถปลูกได้ทั่วไยกว้นพื้นที่ที่ดินมีความชื้นสูง ปริมาณน้ำฝนมากหรือเป็นดินเค็ม ทำให้เกษตรกรมีความนิยมในการเพาะปลูกมันสำปะหลังในทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก ประเทศไทยจึงเป็นประเทศอันดับหนึ่งของโลกในการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 เป็นต้นมา (Ratanawaraha *et al.*, 2000; Poramacom *et al.*, 2013) ในปี พ.ศ. 2551 เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลังประสบปัญหาจากการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Hemiptera: Pseudococcidae) (ชลิดา, 2554; Parsa *et al.*, 2012) ทำให้ผลผลิตมันสำปะหลังลดลง เกิดการขาดแคลนท่อนพันธุ์สำหรับการเพาะปลูก และส่งผลกระทบต่อภาคอุตสาหกรรมและการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังของประเทศ (โอภาษ, 2552) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแตนเบียน *Anagyrus lopezi* สามารถควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีความเจาะจงต่อแมลงอาศัยสูงมาก โดยลงทำลายเฉพาะเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู

P. manihoti เท่านั้น (Bellotti *et al.*, 1994; Bellotti *et al.*, 1999; Nassar and Ortiz, 2007) โดยประเทศไทยได้มีการนำเข้าแตนเบียนชนิดดังกล่าวจากสาธารณรัฐเบนินมาศึกษา ทดสอบความปลอดภัยเพื่อนำมาใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ระหว่างปี พ.ศ. 2552-2553 (อัมพร และคณะ, 2553) และมีการส่งเสริมให้เกษตรกรเพาะเลี้ยงแตนเบียนเพื่อควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูอย่างต่อเนื่อง (สถาบันพัฒนามันสำปะหลัง, 2553) ทำให้สถานการณ์การระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูลดความรุนแรงลงในปัจจุบัน แต่จากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของโลก แมลงศัตรูพืชเป็นสิ่งมีชีวิตหนึ่งที่ได้รับผลกระทบอย่างมากมาจากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่สูงขึ้นหรือลดลง โดยพบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งต่อการอยู่รอดและสภาวะการเจริญพันธุ์ในวงจรชีวิตของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู (Iheagwam and Eluwa, 1983) ซึ่งที่อุณหภูมิระหว่าง 20 ถึง 30.5 องศาเซลเซียส เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว และเกิดการระบาดโดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีสภาพภูมิอากาศร้อนและชื้นทั้งในฤดูแล้งและฝนทั้งช่วงในฤดูฝน (Lema and Herren, 1985) ดังนั้นการหามาตรการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูจึงยังคงเป็นประเด็นที่สำคัญ ทั้งนี้เพื่อการเฝ้าระวังการระบาดของเพลี้ยแป้งมัน

สำปะหลังสีชมพูและลดความเสียหายอย่างรุนแรงต่อการผลิตมันสำปะหลังของประเทศไทยในอนาคต

จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีประยุกต์ใช้เทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ (Geoinformation Technology) ซึ่งประกอบด้วยระบบกำหนดตำแหน่งบนโลกด้วยดาวเทียม (global positioning system: GPS) การสำรวจระยะไกล ด้วยดาวเทียม (remote sensing: RS) และระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ (geographic information systems: GIS) เพื่อเป็นเครื่องมือในการศึกษาแมลงศัตรูของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น กาแฟ โดยนำเอาจำนวนประชากรแมลงศัตรูกาแฟมาศึกษาวิเคราะห์ถึงความสัมพันธ์ของแมลงศัตรูกาแฟชนิดนั้น ๆ กับปัจจัยทางด้านอุณหภูมิ ทำให้สามารถสร้างแผนที่แสดงช่วงเวลาและพื้นที่ที่มีการระบาดของแมลงศัตรูกาแฟ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการวางแผนการจัดการแมลงศัตรูกาแฟได้อย่างมีประสิทธิภาพ (เผ่าไทและปิยะวรรณ, 2558) นอกจากการแสดงผลที่ระบาดของแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจดังกล่าวแล้ว การสร้างแบบจำลองที่ทำนายถึงแหล่งอาศัยหรือสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการปรากฏของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นก็เป็นอย่างอื่นอีกแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ โดยแบบจำลองดังกล่าวนี้คือ Ecological Niche Modelling ซึ่งอาศัยหลักการคือนิเวศการดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิตมีความสัมพันธ์ต่อสถานะของสภาพแวดล้อมที่สิ่งมีชีวิตนั้นต้องการ (Peterson, 2006; Warren and Seifert, 2011) ดังนั้นจึงมีการนำเอา Ecological Niche Modelling มาใช้ในการศึกษาทางด้านสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมทั้งการศึกษาสิ่งมีชีวิตที่เป็นพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกราน (Invasive species) (Peterson and Vieglais, 2001) จากปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูจนนำไปสู่การระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูในเชิงด้าน Ecological Niche Modelling จึงเป็นรูปแบบการศึกษาหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อประเมินหรือคาดการณ์พื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งสีชมพูในเขตพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังของประเทศไทยได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออกของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่ศึกษา

ทำการสำรวจเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูในแปลงปลูกมันสำปะหลังของจังหวัดต่าง ๆ รวม 255 แปลง ได้แก่ ปราจีนบุรี (43 แปลง) ระยอง (60 แปลง) สระแก้ว (68 แปลง) และ นครราชสีมา (84 แปลง) โดยการกำหนดพื้นที่ศึกษาของแต่ละจังหวัดเลือกจากอำเภอที่มีการเพาะปลูกมันสำปะหลังมากที่สุด จากนั้นทำการสุ่มแปลงปลูกมันสำปะหลังในแต่ละอำเภอเป็นพื้นที่ศึกษา

วิธีการสำรวจเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง

ทำการสำรวจเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูโดยกำหนดพื้นที่สำรวจในไร่มันสำปะหลังให้เป็นพื้นที่ติดต่อกันประมาณ 1 ไร่ จากนั้นเดินสำรวจจากขอบแปลงเป็นเส้นทแยงมุม 1 เส้น จำนวน 10 จุด ๆ ละ 1 ต้น ให้ครอบคลุมพื้นที่แปลงสำรวจ ในกรณีสำรวจไม่พบเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพูให้ทำการสำรวจใหม่อีกครั้งโดยเดินเปลี่ยนอีกเส้นทแยงมุม โดยวิธีการสำรวจนั้นเริ่มจากใบที่คลี่แล้วจากยอดจนถึงใบที่ 10 ทั้งบริเวณบนใบ ใต้ใบ และยอด พร้อมกับบันทึกข้อมูลเบื้องต้นบนของเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ลำดับแปลง สถานที่แปลงสำรวจ วันและเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง พันธุ์และอายุของมันสำปะหลัง นอกจากนี้ ณ วันที่ทำการสำรวจ ยังทำการบันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์ และความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร) ของแปลงสำรวจด้วย GPS Handheld Garmin eTrex 10 และบันทึก อุณหภูมิ (°C) และความชื้นสัมพัทธ์ (%) ด้วย ST-8820 Multi-Function Environment 4 in 1

การจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังนั้นกระทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ รุ่น SZ2-ILA (Olympus) ที่ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แผนที่แสดงการทำนายพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* โดยใช้แบบจำลอง Ecological Niche Modelling

เพื่อแสดงพื้นที่ที่มีศักยภาพในการกระจายตัวหรือการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู ทำการ

สร้างแบบจำลองด้วย Maxent software (version 3.2.19) โดยค่าจากการทำนาย (prediction value) ที่แสดงในแผนที่จะอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1.00 และค่าจาก Jackknife test จะแสดงให้เห็นทราบว่าปัจจัยแวดล้อมใดที่มีผลต่อการปรากฏหรือการระบาดของเพลี้ยมันสำปะหลังมากที่สุด โดยความน่าเชื่อถือของแบบจำลองนั้นสามารถประเมินได้จากกราฟ receiver operating curve (ROC) ซึ่งเป็นการพล็อตกราฟระหว่างค่าแสดง sensitivity value กับ ค่าแสดง false positive ของทุกปัจจัยที่นำเข้าสู่แบบจำลอง ถ้าพื้นที่ใต้กราฟ (area under the curve: AUC) มีค่าใกล้ 1 แสดงว่าแบบจำลองนั้นเป็นแบบจำลองที่ดี ถ้าต่ำกว่า 0.5 แสดงว่าแบบจำลองนั้นเป็นแบบจำลองที่ไม่ดี จากนั้นนำเสนอข้อมูลของแบบจำลอง ecological niche model โดยใช้โปรแกรม ArcGIS 10.1 (ESRI Inc, 2012) โดยข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาอยู่ในระบบพิกัดภูมิศาสตร์ บนพื้นหลักฐาน World Geodetic System 1984 (WGS84) มีดังนี้

1) ข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ของแปลงสำรวจที่พบเพลี้ยมันสำปะหลังสีชมพู จำนวน 204 แปลง

2) ข้อมูลสภาพภูมิอากาศ จากค่าเฉลี่ยรายเดือน ตั้งแต่ มกราคม ถึง ธันวาคม ระหว่าง พ.ศ. 2552 ถึง พ.ศ. 2557 ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ จากสถานีตรวจวัดอากาศภาคตะวันออกเฉียง 10 สถานี และ สถานีตรวจวัดอากาศจังหวัดนครราชสีมา 2 สถานี แล้วนำข้อมูลสภาพภูมิอากาศดังกล่าว มาประมาณค่าเชิงพื้นที่ (spatial interpolation) ด้วยวิธี inverse distance weight (IDW) โดยใช้ค่าถ่วงน้ำหนัก รวมทั้งสิ้น 36 ชั้นข้อมูล

3) ข้อมูลการรับรู้ระยะไกล (remotely sensed data) โดยนำภาพถ่ายดาวเทียมของแต่ละเดือน ระหว่างปี พ.ศ. 2552 ถึง พ.ศ. 2557 มาหาค่าเฉลี่ยโดยใช้เครื่องมือ raster calculator โดยมี output grid มีขนาดของกริด (cell size) เท่ากับพื้นที่ 1 ตารางกิโลเมตร ด้วยโปรแกรม ArcGIS 10.1 ซึ่งข้อมูลการรับรู้ระยะไกล ได้แก่

- อุณหภูมิพื้นผิวโลกระหว่างวัน (daytime land surface temperature: LST) จากดาวเทียม Terra MODIS (Product: MOD11C-CMG Monthly Land-

Surface Temperature/Emissivity-0.05 Deg.) หน่วย องศาเซลเซียส (°C) รวมทั้งสิ้น 12 ชั้นข้อมูล

- ค่าดัชนีพืชพรรณ (NDVI) จากดาวเทียม Terra MODIS (Product: MOD13A3-Level 3 Monthly Vegetation Indices-1km.) เพื่อนำมาประเมินหาข้อมูลเกี่ยวกับพืชพรรณในพื้นที่นั้น ๆ โดยมีค่าตั้งแต่ -1 ถึง 1 ดังนั้นพื้นที่ที่มีพืชพรรณปรากฏจะมีค่า NDVI สูง รวมทั้งสิ้น 12 ชั้นข้อมูล

- ข้อมูลแบบจำลองความสูงภูมิประเทศ จาก shuttle radar topography Mission (SRTM) ในรูปแบบของ digital elevation model (DEM) จากนั้นสร้างชั้นข้อมูลความลาดชันของพื้นที่ (slope: steepness of terrain) และชั้นข้อมูลทิศทางความลาดเอียงของพื้นที่ (Aspect: Direction slope faces) โดยค่าที่ได้มีหน่วยเป็น องศา (degree) รวมทั้งสิ้น 3 ชั้นข้อมูล

ผลการทดลอง

จากการสำรวจเพลี้ยมันสำปะหลังสีชมพูในพื้นที่ไร่มันสำปะหลังของจังหวัดปราจีนบุรี ระบุองศาแกว่และนครราชสีมา พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังในแปลงศึกษา ได้แก่ พันธุ์ CMR 89, เกษตรศาสตร์ 50, ระยะเวลา 5, ระยะเวลา 9, ระยะเวลา 11, ระยะเวลา 72, ระยะเวลา 81, ระยะเวลา 90 และห้วยบง 90 โดยชนิดของเพลี้ยมันสำปะหลังที่สำรวจพบมี 4 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยมันสำปะหลังสีชมพู (*Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero) เพลี้ยมันสำปะหลังแคบ (Pseudococcus jackbeardsleyi Gimpel and Miller) เพลี้ยมันสำปะหลังหรือ เพลี้ยมันมะละกอ *Paracoccus marginatus* Williams and Granara de Willink) และเพลี้ยมันสำปะหลังลาย (*Ferrisia virgata* (Cockerell)) ซึ่งสัดส่วนของจำนวนเพลี้ยมันสำปะหลังที่พบแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ของแต่ละจังหวัด กล่าวคือ

ที่จังหวัดปราจีนบุรี อำเภอท่าตูม (17 แปลง) พบเพลี้ยมันสำปะหลังตัวเต็มวัย *P. manihoti* มากที่สุดคิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 100 ในขณะที่ อำเภอนาดี (16 แปลง) พบเพลี้ยมันสำปะหลังตัวเต็มวัย *P. jackbeardsleyi* มากที่สุด

รองลงมาคือ *P. manihoti* และ *P. marginatus* คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 64.00, 31.00 และ 5.00 ตามลำดับ

ที่จังหวัดระยอง อำเภอเมืองระยอง (17 แปลง) พบเพลี้ยแป้งตัวเต็มวัย *P. marginatus* มากที่สุด รองลงมาคือ *P. jackbeardsleyi* และ *P. manihoti* คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 63.00, 28.00 และ 9.00 ตามลำดับ ที่อำเภอบ้านฉาง (20 แปลง) พบเพลี้ยแป้งตัวเต็มวัย *P. jackbeardsleyi* มากที่สุด รองลงมาคือ *P. marginatus* และ *P. manihoti* คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 49.00, 37.00 และ 14.00 ตามลำดับ ที่อำเภอนิคมน้ำอ่าว (23 แปลง) พบเพลี้ยแป้งตัวเต็มวัย *P. marginatus* มากที่สุด รองลงมาคือ *P. manihoti* และ *P. jackbeardsleyi* คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 93.00, 6.00 และ 1.00 ตามลำดับ

ที่จังหวัดสระแก้ว อำเภออรัญประเทศ (37 แปลง) และอำเภอคลองหาด (31 แปลง) พบเพลี้ยแป้งตัวเต็มวัย *P. manihoti* มากที่สุด รองลงมาคือ *P. marginatus* และ *P. jackbeardsleyi* คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 63.00, 33.00 และ 4.00 ตามลำดับ สำหรับอำเภออรัญประเทศ และ ร้อยละ 86.00, 10.00 และ 4.00 ตามลำดับ สำหรับอำเภอคลองหาด

ที่จังหวัดนครราชสีมา ที่อำเภอห้วยบง (31 แปลง) อำเภอเสิงสาง (25 แปลง) และอำเภอสีคิ้ว (28 แปลง) พบเพลี้ยแป้งตัวเต็มวัย *P. manihoti* มากที่สุด รองลงมาคือ *P. marginatus* และ *P. jackbeardsleyi* คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 79.00, 20.00 และ 1.00 ตามลำดับ สำหรับอำเภอห้วยบง คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 55.00, 38.00 และ 4.00 ตามลำดับ สำหรับอำเภอเสิงสาง และ คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 78.00, 12.00 และ 10.00 ตามลำดับ สำหรับอำเภอสีคิ้ว

เมื่อพิจารณาถึงจำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง *P. manihoti* ที่พบในพันธุ์มันสำปะหลังจำนวน 10 พันธุ์ เนื่องจากข้อมูลมีการแจกแจงของประชากรไม่เป็นแบบปกติ กลุ่มตัวอย่างมีขนาดเล็ก จึงนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยสถิตินอนพาราเมตริก (non parametric) ด้วย ครัสคาลและวัลลิส (The Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance By Rank Test) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ (statistical significance level) ค่า $P < 0.05$ ผลการวิเคราะห์ สรุปว่า

ค่ามัธยฐานของจำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ที่พบระหว่างพันธุ์มันสำปะหลังจำนวน 10 พันธุ์นั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2=6.402$, $df=9$, $P=0.699$) (ตารางที่ 1)

เมื่อวิเคราะห์แผนที่แสดงการทำนายพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* โดยใช้แบบจำลอง ecological niche modelling ด้วย maxent software (version 3.2.19) พบว่าให้ค่าทำนายของโอกาสของการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ตั้งแต่ 0.00 ถึง 0.90 ดังนั้นจึงแบ่งระดับโอกาสของการระบาดออกเป็น 3 ระดับ ตามค่าทำนายของโอกาสการเกิด (P) ดังนั้น $P > 0.60$ คือระดับสูง $P=0.3-0.60$ คือระดับปานกลาง และ $P<0.30$ คือระดับต่ำ ซึ่งระดับความน่าเชื่อถือของแบบจำลองนั้นจากการ run แบบจำลอง จำนวน 15 ครั้ง ได้ค่า AUC = 0.981 ซึ่งมีค่า ใกล้ 1 แสดงว่าแบบจำลองที่ได้นี้เป็นแบบจำลองที่ดี (ภาพที่ 1) และจากค่า Jackknife test แสดงให้ทราบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* คือปริมาณน้ำฝนในเดือนกรกฎาคม (07_rain) และเดือนสิงหาคม (08_rain) รองลงมาคือ ค่า LSTD ของเดือน กรกฎาคม (07_LST) และ ค่า NDVI ของเดือน พฤศจิกายน (11_NDVI) โดยปัจจัยดังกล่าวให้ค่า Contribution to Maxent model (%) สูงที่สุด ที่ร้อยละ 22.70, 20.00, 9.20 และ 8.30 ตามลำดับ (ภาพที่ 2) ดังนั้นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ได้แก่พื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนสะสมรายเดือนอยู่ในช่วงระหว่าง 100-135 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3A และ B) ค่าอุณหภูมิของผิวดินประมาณ -100 ถึง -30 °C (ภาพที่ 3 C) และมีค่าดัชนีพืชพรรณอยู่ที่ -0.3 ถึง 0.6 (ภาพที่ 3D)

จากที่กล่าวมาแผนที่แสดงการทำนายพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* แสดงในภาพที่ 4 อธิบายได้ดังนี้ ที่จังหวัดนครราชสีมา พื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* อยู่ทางด้านทิศตะวันออกของจังหวัด ได้แก่ พื้นที่ในอำเภอแก่งสนามนาง บ้านเลื่อม เทพารักษ์ ด่านขุนทด สีคิ้ว ปากช่อง และเสิงสาง โดยมีค่า

Table 1 Mean rank of adult *P. manihoti* sampled on 10 cassava varieties from cassava plantations in Prachin Buri, Rayong, Sa Kaeo and Nakhon Ratchasima

Cassava varieties	Number of cassava plantation	Mean rank
CMR 89	14	90.36a
KU 50	90	110.73a
Rayong 5	12	104.83a
Rayong 9	31	119.81a
Rayong 11	5	97.30a
Rayong 72	7	128.86a
Rayong 81	19	103.97a
Rayong 90	5	131.80a
Huay Bong 60	28	92.05a
Huay Bong 80	4	104.25a

Mean rank in the column followed by the same letters do not significantly difference (Chi-Square=6.402, df=9, $P=0.699$)

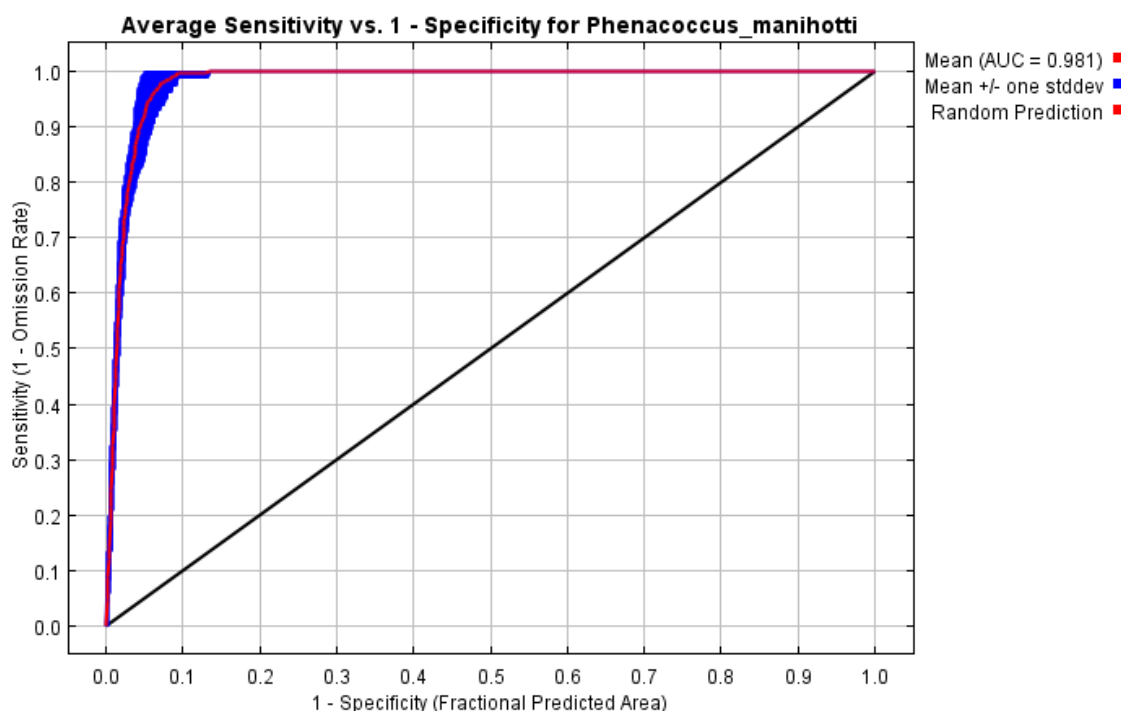


Figure 1 The average under the curve (AUC) for 15 Maxent runs. The mean AUC value of 0.981 suggests an excellent model.

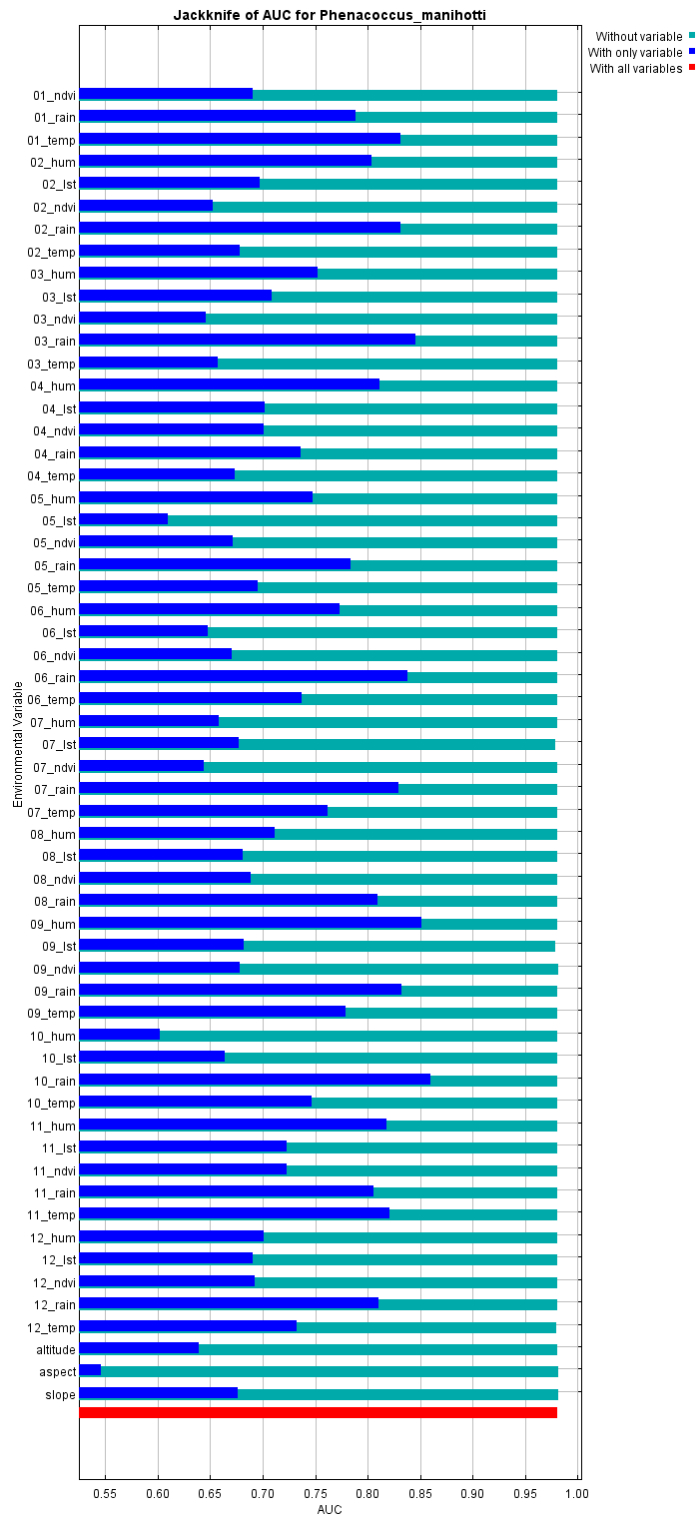


Figure 2 Average jackknife analysis results of training gain, test gain, and area under the curve (AUC) for 15 Maxent runs presenting the most contributed environmental factors on *P. manihoti* populations

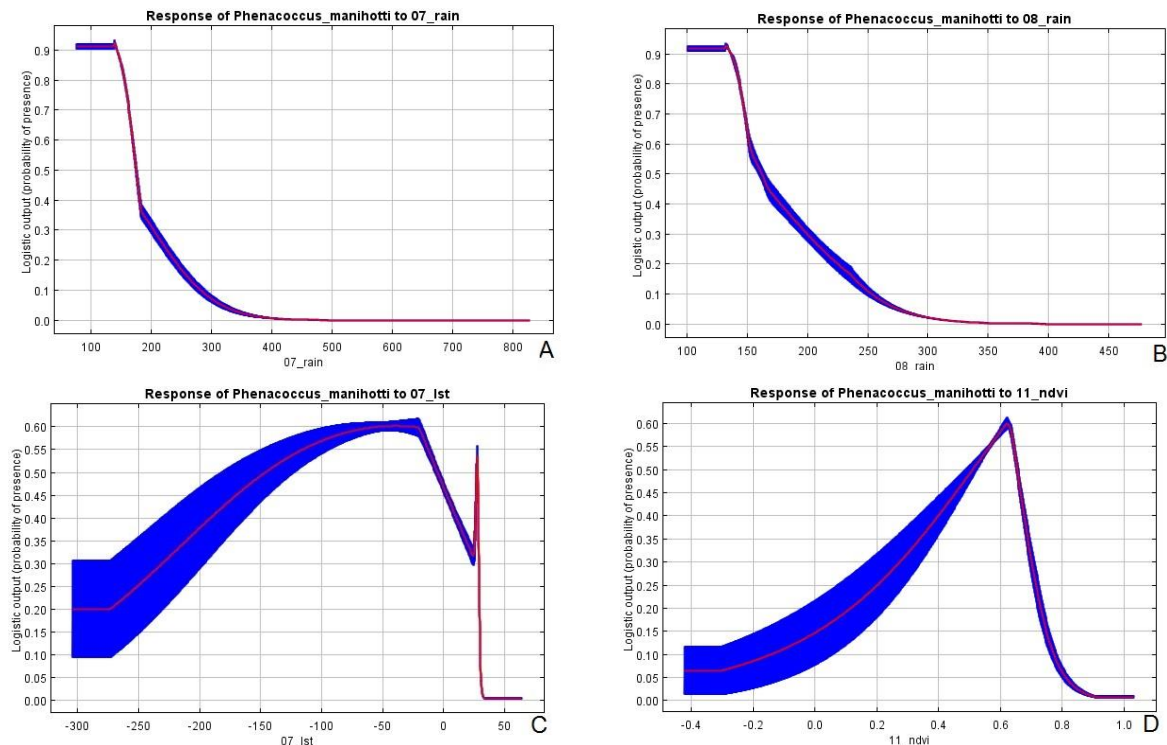


Figure 3 Response curves for the environmental variables related to the distribution of *P. manihotti*. The red line is the mean value for the 15 Maxent runs and the blue bar represents ± 1 standard deviation

ทำนายของโอกาสของการระบาดระดับสูง ($P=0.84$) ที่ จังหวัดปราจีนบุรี พื้นที่เสี่ยงอยู่ทางด้านทิศตะวันตก/ใต้ ของจังหวัด ได้แก่พื้นที่ในอำเภอนาดี กบินทร์บุรี ศรีมหาโพธิ์ ศรีมโหสถ และประจันตคาม โดยเฉพาะเขตติดต่อระหว่างอำเภอนาดี กบินทร์บุรี และศรีมหาโพธิ์ โดยมีค่าทำนายของโอกาสของการระบาดระดับสูง ($P=0.78$) ที่ จังหวัดสระแก้ว พื้นที่เสี่ยงอยู่ทางด้านทิศตะวันออกของ จังหวัด ได้แก่พื้นที่ในอำเภอคลองหาด และพื้นที่ติดต่อของอำเภอคลองหาดกับอำเภออรัญประเทศ โดยมีค่าทำนายของโอกาสของการระบาดระดับสูง ($P=0.87$) ที่ จังหวัดฉะเชิงเทรา พื้นที่เสี่ยงอยู่ทางด้านทิศเหนือของ จังหวัด โดยเฉพาะเขตติดต่อกับจังหวัดปราจีนบุรี ได้แก่ อำเภอบางน้ำเปรี้ยว บางคล้า ราชสาสน์ พนมสารคาม

และบางส่วนของ อำเภอบางน้ำเปรี้ยว และเมือง ฉะเชิงเทรา โดยมีค่าทำนายของโอกาสของการระบาดระดับกลาง ($P=0.46$) ที่จังหวัดชลบุรี พื้นที่เสี่ยงอยู่ทางด้านทิศใต้ของจังหวัด โดยเฉพาะเขตติดต่อกับจังหวัดระยอง ได้แก่ อำเภอบางละมุง และสัตหีบ โดยมีค่าทำนายของโอกาสของการระบาดระดับสูง ($P=0.72$) ที่ จังหวัดระยอง พื้นที่เสี่ยงอยู่ทางด้านทิศตะวันตก/ใต้ของ จังหวัด ได้แก่พื้นที่ติดต่อยกหว่างอำเภอบ้านฉาง นิคมพัฒนา และอำเภอเมืองระยอง นอกจากนี้ยังมีพื้นที่ บางส่วนของอำเภอบ้านค่ายที่มีบริเวณติดต่อกับนิคมพัฒนาและเมืองระยอง โดยมีค่าทำนายของโอกาสของการระบาดระดับสูง ($P=0.90$)

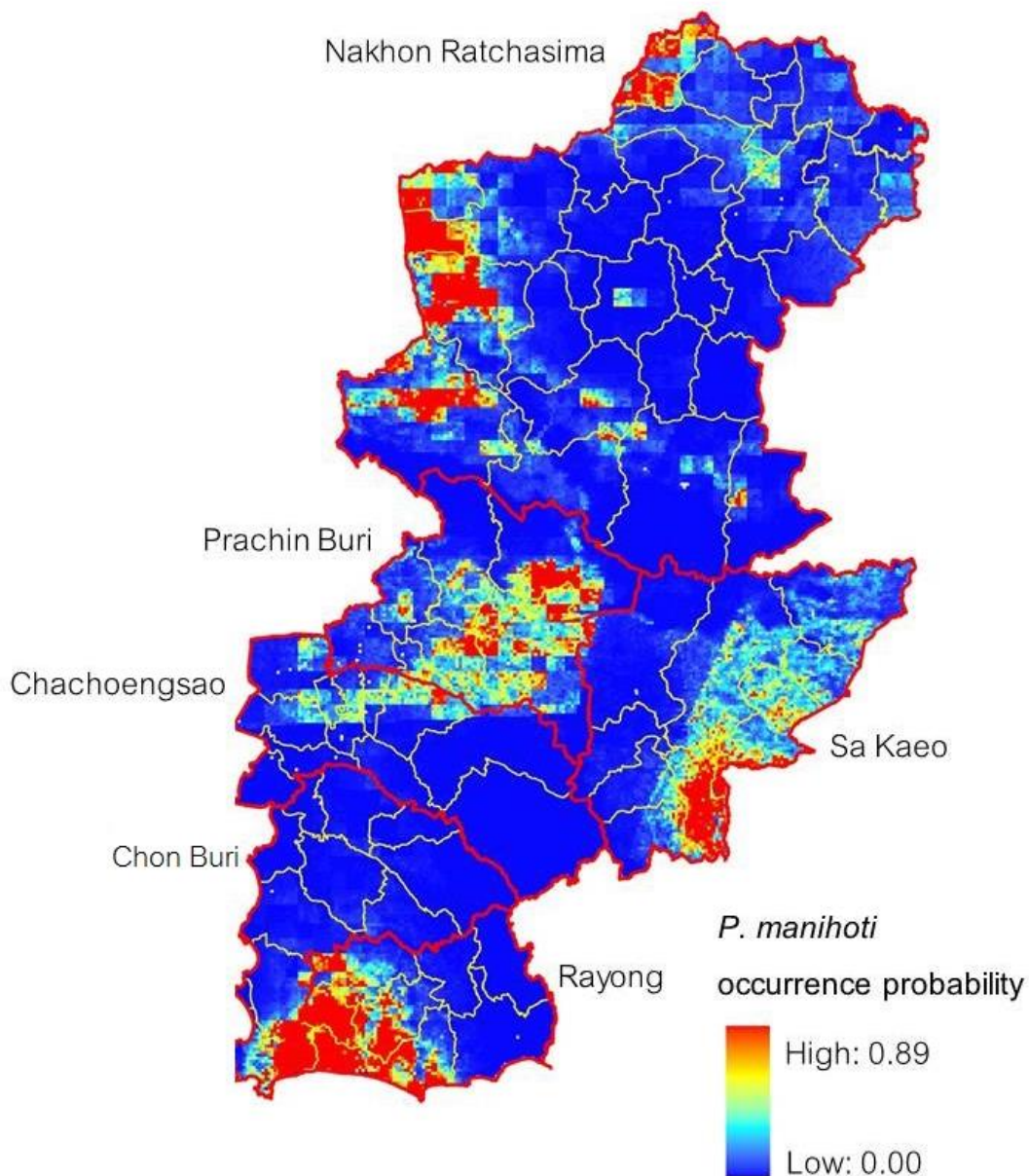


Figure 4 Maxent predicted risk map expressed as percent probability of *P. manihoti* occurrence in Nakhon Ratchasima, Prachin Buri, Sa Kaeo, Chachoengsao, Chon Buri and Rayong in municipality level

วิจารณ์

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าพันธุ์ระยะของ 72 เป็นพันธุ์มันสำปะหลังที่เกิดความเสียหายมากที่สุด หลังจากถูกเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* เข้าทำลาย รองลงมาคือพันธุ์ ระยะของ 9 และเกษตรศาสตร์ 50 และพันธุ์หัวยวง 60 เป็นพันธุ์ที่เกิดความเสียหายน้อยที่สุดต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งสีชมพู *P. manihoti* (Soysouvanh and Siri, 2013) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่สรุปในเบื้องต้นว่าสามารถพบเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* เข้าทำลายพันธุ์ CMR 89, KU 50, ระยะของ 5, ระยะของ 9, ระยะของ 11, ระยะของ 72, ระยะของ 81, ระยะของ 90 และหัวยวง 90 ได้ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากในการศึกษาค้างครั้งนั้น การสำรวจเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังของจังหวัดต่าง ๆ ได้มาจากการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (Simple random sampling) ดังนั้นตัวแทนของจำนวนแปลงพันธุ์มันสำปะหลังที่ทำการสำรวจแต่ละพันธุ์ จึงมีจำนวนที่ไม่เท่ากัน และศึกษาจากคำมัธยฐานของจำนวนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ต่อแปลง ระหว่างมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ เท่านั้น แต่ไม่ได้ประเมินระดับความเสียหายของมันสำปะหลังแต่ละพันธุ์ต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* เช่น จำนวนเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ที่พบต่อต้นมันสำปะหลัง 1 ต้น หรือ ลักษณะของยอดมันสำปะหลังที่ถูกทำลาย เป็นต้น จึงทำให้ผลการศึกษาที่ได้แตกต่างกันออกไป

จากการสร้างแผนที่แสดงศักยภาพของพื้นที่ต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* พบว่าปริมาณน้ำฝนมีอิทธิพลมากที่สุด กล่าวคือประมาณ 100-135 มิลลิเมตร ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานของสถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร (องค์การมหาชน) (2558) ที่ได้ระบุไว้ว่า ปริมาณน้ำฝนสะสมรายเดือนในช่วงฤดูแล้งของภาคตะวันออกเฉียงเหนือในปี 2556/2557 และ 2557/2558 อยู่ระหว่าง 0-120 มิลลิเมตร และสอดคล้องกับการศึกษาที่ระบุว่าปริมาณน้ำฝนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อความหนาแน่นและการเปลี่ยนแปลง

ของประชากรเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* โดยฤดูแล้งเป็นช่วงเวลาที่พบการระบาดมากที่สุด (Le Rü and Iziquel, 1990)

สำหรับปัจจัยดัชนีพืชพรรณ (NDVI) ที่มีอิทธิพลคือค่าของเดือนพฤศจิกายน ที่ -0.30 ถึง 0.60 นั้น ให้ค่าที่สอดคล้องกับพื้นที่เกษตรกรรมของประเทศไทยที่มีค่าดัชนีพืชพรรณ (NDVI) เท่ากับ 0.30-0.59 และช่วงเวลาดังกล่าวพบว่าอยู่ในช่วงต้นฤดูแล้งของประเทศไทยอีกด้วย กล่าวคือ เดือนพฤศจิกายนถึงเมษายน นอกจากนี้ การศึกษาที่ผ่านมาได้มีการนำค่าดัชนีพืชพรรณ (NDVI) มาใช้ประเมินความชื้นในดินบริเวณไร่มันสำปะหลัง อำเภอศรีนครินทร์ จังหวัดนครราชสีมา (ชนิษฐา และคณะ, 2554) และใช้เป็นดัชนีหนึ่งในการประเมินพื้นที่ความแห้งแล้ง โดยในปี 2554 นั้น พื้นที่ความแห้งแล้งของภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีค่าดัชนีพืชพรรณ (NDVI) ระหว่าง -0.75 ถึง -0.5 (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2554) นอกจากนี้ วลัยพร และคณะ (2555) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง NDVI กับผลผลิตมันสำปะหลังในจ.กำแพงเพชร พบว่าผลผลิตมันสำปะหลังพันธุ์ระยะของ 5 ที่ปลูกและเก็บเกี่ยวในปีเดียว มีสหสัมพันธ์ ทางบวกกับ NDVI ในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2552 ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าค่าดัชนีพืชพรรณ (NDVI) ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับปัจจัยปริมาณน้ำฝนสะสมรายเดือน ส่วนผลของค่าทำนาย ภาพอุณหภูมิพื้นผิวระหว่างวัน (LSTD) จากข้อมูลดาวเทียม นั้น กล่าวได้ในเบื้องต้นว่าสามารถแสดงความแตกต่างของอุณหภูมิพื้นผิวดินที่อยู่กับการใช้ประโยชน์ที่ดินและสิ่งปกคลุมดินได้อย่างชัดเจน โดยพื้นที่เกษตรกรรมจะมีค่าอุณหภูมิพื้นผิวค่อนข้างต่ำ

นอกจากการสร้างแผนที่แสดงศักยภาพของพื้นที่ต่อการระบาดของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ในการศึกษาครั้งนี้แล้ว ที่ผ่านมาก็ได้มีการศึกษาทางด้านแผนที่แสดงการกระจายตัวของประชากรเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ด้วย CLIMEX model ซึ่งเป็นแบบจำลองที่ใช้พยากรณ์การกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตในเชิงพื้นที่และเชิงเวลา โดยคำนึงถึงปัจจัยอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน และเป็นการศึกษาในกรอบใหญ่ กล่าวคือ

ครอบคลุมทวีปอเมริกาใต้ แอฟริกา และเอเชีย โดยในประเทศไทยมีจุดพิกัดอ้างอิงพื้นที่สำรวจเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* ทั้งหมด 31 จุด ในจังหวัดระยอง ฉะเชิงเทรา นครราชสีมา ชลบุรี มุกดาหาร สระบุรี กาญจนบุรี บุรีรัมย์ กำแพงเพชร และสระแก้ว ผลที่ได้จากแบบจำลองดังกล่าวทำนายไว้ว่าพื้นที่จังหวัดนครราชสีมาจัดเป็นพื้นที่เสี่ยงสูงต่อการกระจายตัวของเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู *P. manihoti* (Parsa et al., 2012) แต่ไม่ได้ทำการระบุถึงจังหวัดอื่น หรือขอบเขตพื้นที่ระดับอำเภอของจังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังหลักของประเทศไทย ดังผลการศึกษาในครั้งนี้

ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าแผนที่ทำนายจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นและสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาในการบริหารจัดการควบคุมและป้องกันการระบาดของเพลี้ยแป้งสีชมพูในเขตพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกได้ในอนาคต แต่อย่างไรก็ตามแผนที่ทำนายด้วย Ecological Niche Model นั้น ยังมีข้อจำกัดกล่าวคือไม่สามารถบอกการกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตในเชิงเวลาได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับเงินทุนสนับสนุนการทำงานวิจัย ขอขอบคุณ ผศ.ดร. สุทธเขตต์ นาคะเสถียร และ รศ.ดร. วิจารณ์ วิชชุกิจ ที่ให้การสนับสนุน รวมทั้งคำแนะนำ และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2554. ดรรชนีความแห้งแล้งสำหรับประเทศไทย. เอกสารวิชาการ. ส่วนอุตุนิยมวิทยาเกษตร สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา. กรุงเทพฯ. 103 หน้า.
ชินะสุธา สุทธิบริบาล สมณมิตร พุกงาม และ ปิยพงษ์ ทองดินนอก. 2554. การประเมินค่าความชื้นในดินโดยใช้ดัชนีพืชพรรณบริเวณไร่มันสำปะหลัง

อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา. วารสารวนศาสตร์ 30 (3): 24-32.

ชลิดา อุณหวุฒิ. 2554. อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งในมันสำปะหลัง. หน้า 35-39. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2554 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร.

เผ่าไท ถายะพิงค์ และ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์. 2558. การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีภูมิสารสนเทศในการศึกษาความหลากหลายชนิดและการแพร่กระจายของแมลงศัตรูกาแฟอบาปิกาในจังหวัดห้วยเชิงใหม่และเชียงราย. วารสารเกษตร 31(2): 203-213.

วลัยพร ศะศิประภา นรีลักษณ์ วรรณสาย สุภาพร รามันติก และ นิชา ไปทอง. 2555. ความสัมพันธ์ระหว่างดัชนีพืชพรรณผลต่างแบบนอร์มัลไลซ์กับผลผลิตมันสำปะหลังในจังหวัดกำแพงเพชร. วารสารวิชาการเกษตร 30(3): 290-299.

สถาบันพัฒนามันสำปะหลัง. 2553. คู่มือการเลี้ยงและการขยายพันธุ์แตนเบียน *Anagyrus lopezi* เพื่อควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลัง. เอกสารวิชาการ. มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย สถาบันพัฒนามันสำปะหลัง (ห้วยบง), นครราชสีมา. 16 หน้า.

สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร (องค์การมหาชน). 2558. บันทึกเหตุการณ์ภัยแล้ง 2557/2558. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.thaiwater.net/current/drought58/drought58.html> (24 พฤศจิกายน 2555).

อัมพร วินัยทัย ประภัสสร เขยคำแหง รจนา ไวยเจริญ ชลิดา อุณหวุฒิ อิสระ พุทธิสมมา วัชริน แหลมคม และ เถลิงศักดิ์ วีระวุฒิ. 2553. การนำเข้าแตนเบียน *Anagyrus lopezi* เพื่อควบคุมเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีชมพู. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://www.doa.go.th/research/files/1796_2553.pdf. (24 พฤศจิกายน 2555).

- โอภาส บุญเรือง. 2552. เพลี้ยแป้ง มหันตภัยต่อมันสำปะหลัง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: http://thaitapiocastarch.org/article20_th.asp (24 พฤศจิกายน 2555).
- Bellotti, A.C., A.R. Braun, B. Arias, J.A. Castillo and J.M. Guerrero. 1994. Origin and management of neotropical cassava arthropod pests. *African Crop Science Society* 2: 407-417.
- Bellotti, A.C., L. Smith and S.L. Lapointe. 1999. Recent advances in cassava pest management. *Annual Review of Entomology* 44: 343-370.
- Iheagwam, E.U. and M.C. Eluwa. 1983. The effects of temperature on the development of the immature stages of the Cassava Mealybug, *Phenacoccus manihoti* Mat-Ferr. (Homoptera, Pseudococcidae). *Deutsche Entomologische Zeitschrift* 30(1-3): 17-22.
- Lema, K.M. and H.R. Herren. 1985. The influence of constant temperature on population growth rates of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 38(2): 165-169.
- Le Rü, B.P. and Y. Iziquel. 1990. An experimental study, with the aid of a rain simulator, of the mechanical effect of rainfall on populations of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*. *Acta Oecologica* 11(5): 741-754.
- Nassar, N. M.A. and R. Ortiz. 2007. Cassava improvement: challenges and impacts. *The Journal of Agricultural Science* 145: 163-171.
- Parsa, S., T. Kondo and A. Winotai. 2012. The cassava mealybug (*Phenacoccus manihoti*) in Asia: first records, potential distribution, and an Identification Key. *PLoS ONE*. 7(10): e47675.
- Peterson, A.T. 2006. Uses and requirements of ecological niche models and related distributional models. *Biodiversity Informatics* 3: 59-72.
- Peterson, A.T. and D.A. Vieglais. 2001. Predicting species invasions using ecological niche modeling: new approaches from bioinformatics attack a pressing problem. *BioScience* 51(5): 363-371.
- Poramacom, N., A. Ungsuratana, P. Ungsuratana and P. Supavititpattana. 2013. Cassava production, prices and related policy in Thailand. *American International Journal of Contemporary Research* 3(5): 43-51.
- Ratanawaraha, C., N. Senanarong and P. Suriyapan. 2000. Status of cassava in Thailand: Implications for future research and development. *Proceedings of the validation forum on the global cassava development strategy*. Rome, April 26-28, Vol. 3. FAO/International Fund for Agricultural Development.
- Soysouvanh, P. and N. Siri. 2013. Population abundance of pink mealybug, *Phenacoccus manihoti* on four cassava varieties. *Khon Kaen Agriculture journal* J. 41(SUPPL. 1): 149-153.
- Warren, D. and S. Seifert. 2011. Environmental niche modeling in Maxent: the importance of model complexity and the performance of model selection criteria. *Ecological Applications* 21: 335-342.

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ ในการควบคุมหนอนใยผัก

Efficacy of Aloe Rind Extracts on Diamondback Moth Larva Control

ปัทมรสี สู้ศิริรัตน์^{1/*}
Pannarasi Susirirut^{1/*}

^{1/} คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต กรุงเทพมหานคร 10210

^{1/} Faculty of Applied Science, Dhurakij Pundit University, Bangkok 10210, Thailand

*Corresponding author: Email: pannarasi.sus@dpu.ac.th

(Received: 4 January 2016; Accepted: 21 June 2016)

Abstract: The efficacy of aloe (*Aloe vera* L. Burm. f.) rind extracts on larva of diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) was found that ethanol soxhlet extraction was used against the diamondback moth. The repellency of the extract to diamondback moth (5 hr) showed percentage repellency (PR) class of 3 (40.1-60.00% repellency) when exposed to 1.0, 2.0 and 3.0% w/v and percentage repellency (PR) class of 4 (60.1-80.00% repellency) when exposed to 4.0 and 5.0% w/v. The median antifeedant index; AFI₅₀ (24 hr) was 2.97 % w/v. The extract exhibited 100% mortality at concentration of 3.0 % w/v and median lethal dose (LD₅₀) 72 hr was 1.83% w/v. Evaluations of detoxification enzymes namely; esterase and glutathione S-transferase in three generations were assayed. Manipulative data showed the level of detoxification enzyme activity were not significantly different.

Keywords: Aloe, diamondback moth, resistant, enzyme

บทคัดย่อ: ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ (*Aloe vera* L. Burm. f.) ในการควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) เมื่อนำสารสกัดโดยใช้เอทานอลด้วยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) เพื่อทดสอบการไล่ การยับยั้งการกินอาหาร และอัตราการตายของหนอนใยผักพบว่าการไล่เมื่อเวลาผ่านไป 5 ชั่วโมง ความเข้มข้นที่ 1.0, 2.0 และ 3.0% (w/v) ให้เปอร์เซ็นต์การไล่ 40.1-60.00 % ความเป็นสารไล่อยู่ระดับ 3 ส่วนที่ความเข้มข้น 4.0 และ 5.0% w/v มีค่า 60.1-80.00% ความเป็นสารไล่อยู่ระดับ 4 สำหรับการทดสอบการยับยั้งการกินอาหารพบค่า median antifeedant index; AFI₅₀ ที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 2.97% (w/v) และค่าอัตราสำหรับการตาย 100% อยู่ที่ความเข้มข้น 3% (w/v) ขณะที่ค่า LC₅₀ ที่ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 1.83% และผลการศึกษากการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษ 2 ชนิด คือ เอสเทอเรสและกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรสไม่พบความแตกต่างของเอนไซม์ทำลายพิษ 2 ชนิดในหนอนใยผักทุกรุ่นที่ความเข้มข้นเดียวกัน

คำสำคัญ: ว่านหางจระเข้ หนอนใยผัก ความต้านทาน เอนไซม์

คำนำ

ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ว่านหางจระเข้เพื่อการบริโภค มีเปลือกว่านหางจระเข้เป็นของเสียที่เหลือจากกระบวนการผลิต มากถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุดิบ ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งที่ไม่เกิดมูลค่าใด ๆ อีกทั้งเปลือกว่านหางจระเข้มีสารฟลูออโนแอนทราควิโนน (anthraquinone) ซึ่งมีฤทธิ์เป็นยาระบายอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นเพื่อเป็นการแก้ปัญหาทางการเกษตรโดยใช้เทคโนโลยี และเงินลงทุนที่จำกัด จึงทำการศึกษาวิธีการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช

หนอนไผ่เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของผักคะน้าซึ่งเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย นิยมปลูกเพื่อบริโภคทั้งส่วนของต้นและใบ หนอนไผ่เป็นแมลงขนาดเล็กที่มีวงจรชีวิตสั้นและขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ยากแก่การป้องกัน วิธีป้องกันและกำจัดที่เกษตรกรนิยมใช้มากที่สุด คือ การใช้สารเคมีฆ่าแมลง เนื่องจากใช้ง่าย สะดวก เห็นผลอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อใช้ไปนาน ๆ หนอนไผ่จะสามารถต้านทานต่อสารเคมีฆ่าแมลงได้ โดยเมื่อหนอนไผ่ได้รับสารพิษจะมีการเปลี่ยนแปลงการสร้างเอนไซม์กำจัดพิษออกมาในชนิดและปริมาณที่เหมาะสม เพื่อทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการขจัดพิษ การเปลี่ยนแปลงนี้มีแนวโน้มที่จะถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกต่อไปจึงต้องใช้สารเคมีในปริมาณมากขึ้น หรือเปลี่ยนไปใช้สารเคมีชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์มากกว่าเดิม และเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตมากยิ่งขึ้นปัจจุบันรัฐบาลตระหนักถึงความสำคัญของปัญหาดังกล่าว จึงมีนโยบายส่งเสริมให้เกษตรกรใช้สารจากพืชมาทดแทนสารเคมี เนื่องจากมีราคาถูก ใช้ง่ายและเห็นผลค่อนข้างเร็วมีการออกฤทธิ์ค่อนข้างเฉพาะเจาะจง อัตราการสลายตัวสูง พิษตกค้างในธรรมชาติน้อย ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาการนำสารสกัดหยาบจากเปลือกว่านหางจระเข้มาทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนไผ่ เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ทดแทนสารเคมีฆ่าแมลงต่อไป

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดหนอนไผ่ในแง่

การไล่ การยับยั้งการกินอาหาร และอัตราการตาย และเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่ สำหรับดูแนวโน้มในการสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้

นำเปลือกว่านหางจระเข้ไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด (tray dryer) ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง และปั่นให้ละเอียด นำผงว่านหางจระเข้ 50 กรัม ไปสกัดสารด้วยวิธีซอกซ์เลต (soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอล (ethanol) 500 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย นาน 8 ชั่วโมงจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotatory vacuum evaporator) นำตัวอย่างสารสกัดที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอนทราควิโนน (anthraquinone) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้

นำหนอนไผ่ (*Plutella xylostella*) จากแหล่งปลูกผักแปลงเกษตรกรมาขยายพันธุ์โดยใช้ผักคะน้า ซึ่งปลูกโดยวิธีปลอดจากสารฆ่าแมลง และนำมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการไล่ การยับยั้งการกินและการตายของหนอนไผ่

2.1 ประสิทธิภาพในการไล่

ดัดแปลงวิธีของเกรียงไกร และคณะ (2540) และ Mc Donald et al. (1970) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) โดยเตรียมสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ 5 ความเข้มข้น คือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 (น้ำหนัก/ปริมาตร, w/v) จำนวน 3 ซ้ำ ตัดกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร (Whatman No.1) แบ่งออกเป็น 2 ส่วน เท่า ๆ กันหยดสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ปริมาตร 400 ไมโครลิตร (จากข้อ 1) ลงบนกระดาษกรองส่วนแรก

สำหรับกระดาศกรงส่วนที่สอง หยดด้วยตัวทำลาย
เอทานอล ปริมาตร 400 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นกรรมวิธี
ควบคุม (control) ติดกระดาศกรงกับ Petri dish เมื่อ
เอทานอลระเหยจึงทำการปล่อยหนอนใยผักวัยที่ 2 ลงไป
ตรงกลางของกระดาศกรงจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ จำนวน 3
ซ้ำ ปิดฝา Petri dish จดบันทึกจำนวนหนอนใยผักในแตร
ละส่วนของกระดาศกรงทุก 1 ชั่วโมง จนครบ 5 ชั่วโมง
บันทึกข้อมูลนำมาคำนวณค่า percentage repellency
(PR) โดยใช้สูตรของ Talukder and Howse (1995) และ
นำมาวิเคราะห์โดยใช้ ANOVA และ Duncan's New
Multiple Range Test (DMRT)

ซึ่ง percentage repellency (PR) = $2 (C-50)/C$
คือ เปอร์เซ็นต์ของหนอนใยผักบนกระดาศกรงส่วนที่ไม่มี
สารสกัดโดยค่า PR ที่เป็นบวกแสดงว่าเป็นสารไล่
(repellency) และค่า PR ที่เป็นลบแสดงว่าเป็นสารดึงดูด
(attractancy) นำค่าเฉลี่ยที่ได้มาจัดระดับความเป็นสาร
ไล่แบ่งออกเป็น 5 ระดับดังนี้ Talukder and Howse,
(1995) ระดับ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 Repellency rate
(%)>0.01-0.1, 0.1-20, 20.1-40, 40.1-60, 60.1-80 และ
80.1-100 เปอร์เซ็นต์

2.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหาร

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ CRD โดย
เตรียมสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ 5 ความเข้มข้น
คือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 w/v จำนวน 3 ซ้ำ ตัดใบ
คะน้าที่ปลูกประมาณ 30 วัน เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าน
ศูนย์กลาง 1 นิ้ว จุ่มลงในสารสกัดจากเปลือกว่านหาง
จระเข้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งใส่สารจับใบ 1 หยดจุ่มเป็น
เวลา 30 วินาที นำไปผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปใส่กล่อง
พลาสติกขนาด 3 x 2 x 0.8 นิ้ว ซึ่งมีกระดาศกรงอยู่ นำ
หนอนใยผักวัยที่ 2 จำนวน 10 ตัว ผ่านการอดอาหาร 2
ชั่วโมงปล่อยลงบนใบคะน้าดังกล่าว ตรวจวัดพื้นที่การกิน
ของหนอนใยผักภายใน 24 ชั่วโมง นำข้อมูลที่ได้มา
คำนวณค่าดัชนีการยับยั้งการกิน (antifeedant index ;
AFI) ตามวิธีของ Abivardi and Benz (1984) และ
วิเคราะห์ด้วย probit analysis เพื่อหาค่า median
antifeedant index (AFI₅₀) ของสารสกัดจากเปลือกว่าน
หางจระเข้ต่อหนอนใยผักสูตรการคำนวณค่าดัชนีการ
ยับยั้งการกิน มีดังนี้

$$AFI = (1 - T / C) \times 100$$

เมื่อ C คือพื้นที่การกินในกลุ่มควบคุมและ T คือ พื้นที่
การกินในกลุ่มทดลอง

2.3 ประสิทธิภาพต่ออัตราการตาย และค่า LC₅₀

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ CRD โดย
การทดสอบแบบจุ่มใบ (leaf dipping bioassay) ดัดแปลง
วิธีการของ Visetson and Milne (2001) โดยเตรียมสาร
สกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้สกัดเช่นเดียวกับข้อ 1 ใช้
ความเข้มข้น 0.01, 0.025, 0.05, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00,
1.25, 1.50, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75 และ 3.00% (w/v) ตัด
ใบคะน้าที่ปลูกประมาณ 30 วัน เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าน
ศูนย์กลาง 1 นิ้ว จุ่มลงในสารสกัดจากเปลือกว่านหาง
จระเข้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งใส่สารจับใบ 1 หยดจุ่ม
เป็นเวลา 30 วินาที นำไปผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปใส่กล่อง
พลาสติกขนาด 3 x 2 x 0.8 นิ้ว ซึ่งมีกระดาศกรงอยู่ นำ
หนอนใยผักวัยที่ 2 จำนวน 10 ตัว ผ่านการอดอาหาร 2
ชม. ปล่อยลงบนใบคะน้าที่ชุบสารสกัดจากเปลือกว่าน
หางจระเข้ เปลี่ยนใบคะน้าทุก 24 ชั่วโมง ตรวจเปอร์เซ็นต์
การตายของหนอนใยผักภายใน 72 ชั่วโมง หาค่า
เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott's formula
(Finney, 1978) เพื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างความ
เข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ต่อ
เปอร์เซ็นต์การตายจริงของหนอนใยผักหลังจากได้รับสาร
สกัดนำข้อมูลการตายมาวิเคราะห์โดยวิธี probit analysis
เพื่อหาค่า median lethal concentration (LC₅₀) ของสาร
สกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ต่อหนอนใยผัก
เปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ
ค่าเฉลี่ยของอัตราการตาย โดยวิธี One - way ANOVA ที่
ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

3. ปริมาณเอนไซม์ทำลายพืชของหนอนใยผัก
ทำการศึกษาน้ำหนัก 3 รุ่น เมื่อหนอนใยผักวัย 2 ได้รับสาร
สกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ (สกัดเช่นเดียวกับข้อ 1) ที่
ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยวิธีทดสอบแบบ CRD โดย
เตรียมสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ 3 ระดับ ที่
เหมาะสม โดยพิจารณาจากค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่
แท้จริงนำใบคะน้าที่ปลูกประมาณ 30 วัน มาชุบสารสกัด
จากเปลือกว่านหางจระเข้ตามระดับความเข้มข้นดังกล่าว

ใส่สารจับใบ 1 หยด เป็นเวลา 30 วินาที นำมาผึ่งให้แห้ง แล้วใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 6 x 8 x 3 นิ้ว ที่มีกระดาษซับรองอยู่ นำหนอนใบฝักวันที่ 2 จำนวน 10 ตัว ผ่านการอดอาหาร 2 ชั่วโมง มาปล่อยลงบนใบคะน้าที่ชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ดังกล่าว เปลี่ยนใบคะน้าทุก 24 ชั่วโมง จนหนอนเข้าสู่วัยที่ 4 นำหนอนใบฝักวัยที่ 4 มาสกัด และตรวจวัดเอนไซม์โดยดัดแปลงวิธีการของ Feng *et al.* (1995) และ Visetson and Milne (2001) เพื่อใช้ตรวจวัดระดับเอนไซม์ทำลายพืชโดยตรวจวัดระดับเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase) ใช้วิธี PNPA assay ของ Mackness *et al.* (1983) และ Yu and Hsu (1985) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 400 นาโนเมตร ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของ paranitrophenol โดยเอนไซม์เอสเทอเรส จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารตั้งต้น คือ paranitrophenyl acetate (PNPA) ไปเป็น paranitrophenol ได้สารละลายสีเหลือง และตรวจวัดระดับเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione s-transferase) ใช้วิธี CDNB-DCNB assay ของ Booth *et al.* (1961); สุรพล และ เรวดี (2542); สุรพล และคณะ (2544) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 340 นาโนเมตรตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของ monochloronitrobenzene glutathione ซึ่ง dichloronitrobenzene จะเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ glutathione โดยมีเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (one way analysis of variance) ทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับเอนไซม์ทำลายพืชของหนอนใบฝักในแต่ละรุ่น ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ต่อการควบคุมหนอนใบฝักนั้น พบว่าสามารถสกัดได้ด้วยเอทานอล และสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้นั้นสามารถไล่ ยับยั้งการกินอาหาร และฆ่าหนอนใบฝักได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งแนวโน้ม

ของระดับเอนไซม์ทำลายพืชไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. สารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้

สกัดด้วยวิธีชอกห์เลต โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธีทดสอบ T-CM-050 Based on Food and Chemical Toxicology (1999) พบว่าปริมาณแอนทราควิโนน (Anthraquinone) จากสารสกัดหยาบ (crude extract) เปลือกกว่านหางจระเข้มีปริมาณ 27.38 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก, w/w) ทั้งนี้เนื่องจากสารที่สกัดได้จากเปลือกกว่านหางจระเข้นั้นจะอยู่ในรูปของแอนทราควิโนน ไกลโคไซด์ (Anthraquinone glycoside) (อคุลย์, 2537) การสกัดด้วยวิธีชอกห์เลตที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (Du *et al.*, 1998) จึงสามารถละลายในเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วได้ดี

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ต่อหนอนใบฝัก

2.1 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ในการไล่หนอนใบฝัก พบว่าสารสกัดมีผลต่อการไล่หนอนใบฝักวัยที่ 2 นับเปอร์เซ็นต์การไถ่ถอน 5 ชั่วโมง เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใบฝัก โดยใช้ One-way ANOVA มีผลดังตารางที่ 1

เมื่อระยะเวลา 5 ชั่วโมง ระดับการไล่แมลงอยู่ในระดับ 3 เมื่อทำการทดสอบกับสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0% w/v และอยู่ในระดับ 4 ที่ระดับความเข้มข้น 4.0 และ 5.0% w/v โดยค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใบฝักสูงสุดคือ 73.33 ± 3.33 เปอร์เซ็นต์ คือที่ระดับ 5% แอนทราควิโนนมีคุณสมบัติทางเคมีกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloid) มีฤทธิ์เป็นเบส อยู่ในสารจำพวกได้แมลงเป็นพิษระคายเคืองต่อผิวหนังสัมผัส คงอยู่ในสภาพธรรมชาติ ได้นานกว่ากลุ่มน้ำมันหอมระเหย (essential oils) จากผลการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารไล่แมลงของน้ำมันหอมระเหยจาก ใบยูคาลิปตัส *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh ต่อหนอนกระทู้ฝัก *Spodoptera litura* (Fabricius) พบว่า ประสิทธิภาพในการไล่ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป และเมื่อใช้เวลา 5 ชั่วโมง หนอนถูกไล่เพียง

45-72 เปอร์เซ็นต์ (ศิริพรรณ และคณะ, 2550) ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ซึ่งยังมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป และสารแอนทราควิโนนมีค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (acute oral toxicity) LD₅₀ มากกว่า 5000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Anthraquinone Fact Sheet, 1998) จึงจะเป็นอันตรายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

2.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการยับยั้งการกินของหนอนใยผักโดยใช้วิธีทดสอบแบบจุ่มใบ กับหนอนใยผักวัยที่ 2 ตรวจวัดพื้นที่การกินภายใน 24 ชั่วโมงโดยใช้ความเข้มข้น 5 ระดับพบดัชนีการยับยั้งการกิน (AFI) สูงสุด 82.60% และมีค่า AFI₅₀ 2.97% เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วย probit analysis (ภาพที่ 1) ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชั่วโมงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ใช้ในการทดสอบเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการกินของหนอนใยผักสูงสุดที่ 24 ชั่วโมง คือ 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มีค่าดัชนียับยั้งการกินเท่ากับ 82.60 เปอร์เซ็นต์และความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการกินของหนอนใยผักต่ำสุดที่ 24 ชั่วโมง คือ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มีค่าดัชนียับยั้งการกินเท่ากับ 15.01 และสมการ regression คือ $y = 16.364X + 1.338$ ค่า AFI₅₀ เท่ากับ 2.97 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยใช้ probit analysis แสดงว่าแอนทราควิโนนและอนุพันธ์อื่นที่เป็นองค์ประกอบคือสารซาโปนิน (saponin) และ กลุ่ม triterpenoids (Waller *et al.*, 1978) ที่ได้จากการสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักที่ 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักหรือแมลงชนิดอื่นเมื่อได้รับสารสกัดทุติยภูมิจากพืชในกลุ่มอัลคาลอยด์ ชนิดอื่น ๆ ได้ผล

Table1 Percentage of repellency rate and level of repellent of aloe (*Aloe vera*) rind extract to diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) at different concentrations at 1, 2, 3, 4 and 5 hr.

Concentration (% w/v)	Mean ¹ ±SD of percentage of repellency rate in each hour (%)				
	1	2	3	4	5
	(level of repellent)				
1.0	3.33 ^a ±3.33	10.00 ^a ±5.77	20.00 ^a ±5.77	20.00 ^a ±5.77	43.33 ^a ±3.33 (3)
2.0	20.00 ^b ±11.55	20.00 ^{ab} ±11.55	26.67 ^a ±6.67	33.33 ^b ±6.67	53.33 ^b ±3.33 (3)
3.0	26.67 ^b ±8.82	33.33 ^b ±6.67	40.00 ^b ±5.77	40.00 ^b ±5.77	50.00 ^{ab} ±5.77 (3)
4.0	16.67 ^b ±6.67	33.33 ^b ±3.33	33.33 ^{ab} ±6.67	56.67 ^c ±3.33	63.33 ^c ±3.33 (4)
5.0	26.67 ^b ±8.82	36.67 ^b ±8.82	46.67 ^b ±3.33	60.00 ^c ±5.77	73.33 ^d ±3.33 (4)

¹Means with different letters in the same column are significantly different (P<0.05)

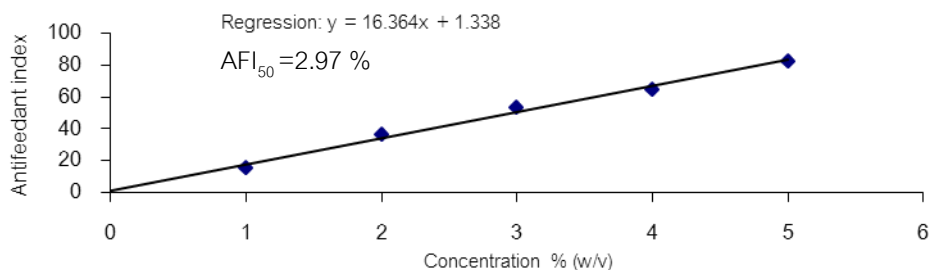


Figure 1 The efficacy of aloe (*Aloe vera*) rind extract on antifeedant index (AFI) of diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) for 24 hr.

เป็นไปในทางเดียวกันคือ ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดา 3 ชนิด คือ สะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* A. Juss) สะเดาช้าง (*A. excels* (Jack) Jacobs) และสะเดาไทย (*A. indica* A. Juss. var. *siamensis* Valetton) ต่อหนอนใยผัก พบว่าผลการยับยั้งการกินใบค่น้ำของหนอนใยผักเท่ากับ 55.69, 79.69 และ 44.45% ตามลำดับ (รติยา และคณะ, 2546) หรือสารพวก terpinoid ซึ่งมีรสขมสามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักได้ ดังผลการศึกษา Reed *et al.* (1982) ตลอดจนนักวิจัยอีกหลายท่านที่ได้ให้ความสนใจนำน้ำมันสกัดจากเมล็ดสะเดา azadirachtin ซึ่งเป็น tetranor-terpinoid มีผลควบคุมแมลงได้หลายด้าน ตัวอย่างเช่น สามารถหยุดยั้งการกินอาหารของแมลงวันบ้าน ตัวอ่อนหนอนใยผัก ตัวเต่าแดง เป็นต้น

2.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ต่อการตายของหนอนใยผัก ซึ่งมีเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย โดยใช้วิธีทดสอบแบบจุ่มใบ กับหนอนใยผักวัยที่ 2 ซึ่งผ่านการอดอาหาร 2 ชั่วโมง นับเปอร์เซ็นต์การตายที่ 72 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบเปอร์เซ็นต์การตายจริงคำนวณโดยใช้ Abbott's formula (Finney, 1978) มีค่า LC_{50} 1.83% เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยใช้ probit analysis (ภาพที่ 2)

จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ทำให้หนอนใยผักตาย 100% คือ 3% (w/v) และพบค่า LC_{50} 1.83% (w/v) การที่แอนทราควิโนนสามารถทำให้หนอนใยผักตายได้ภายใน 72 ชั่วโมง เนื่องมาจากคุณสมบัติทางเคมีเมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะถูกรีดิวซ์ให้เป็นแอนทรานอล (Anthranol) ซึ่งระคายเคืองต่อลำไส้ (อดุลย์, 2537) หรืออีกสาเหตุหนึ่งคือแอนทราควิโนน ไม่มีผลทำให้กลไกการทำลายสารพิษในหนอนใยผักเกิดการเหนี่ยวนำให้สร้างเอนไซม์ทำลายพิษของสารแปลกปลอมในปริมาณน้อยเกินไป ซึ่งเอสเทอร์และกลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ถือว่าเป็นกลไกหลักของแมลงที่จะถูกเหนี่ยวนำให้มีปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงไป เพื่อทำลายความเป็นพิษของสารแปลกปลอม (Yu, 1984) ดังนั้นจึงทำให้หนอนใยผักไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในทางตรงกันข้าม หนอนใยผักที่รอดตายจะมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ทำลายพิษปริมาณมากพอที่จะพาของสารแปลกปลอมออกไปจนไม่สามารถทำอันตรายให้ถึงกับตายได้ และทั้งนี้หนอนใยผักในรุ่นต่อไปหรือหนอนใยผักในพื้นที่อื่น ๆ อาจจะสามารถสร้างความต้านทานต่อสารสกัดได้แตกต่างกัน ดังผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงกลุ่มไดอะไมด์ (diamide) คือ chlorantraniliprole (CTPR) ต่อหนอนใยผักจาก

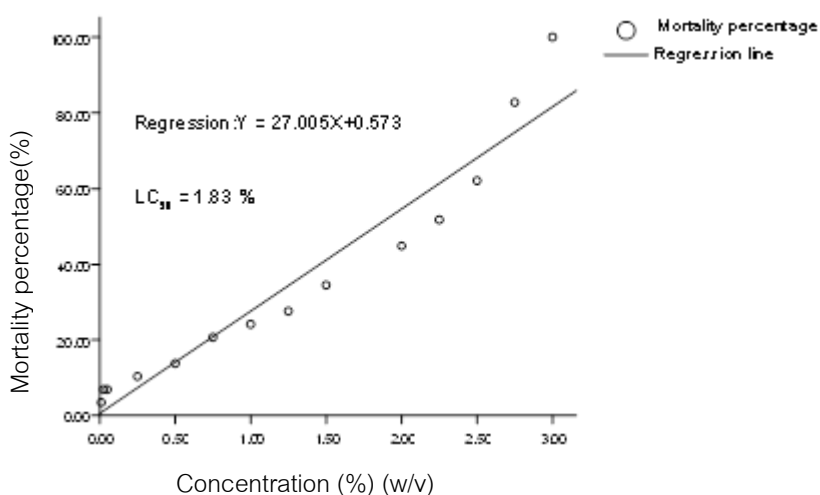


Figure 2 The efficacy of aloe (*Aloe vera*.) rind extract at various concentrations on mortality percentage of diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) for 72 hr.

ประชากรจังหวัดเชียงใหม่ และสุพรรณบุรีในห้องปฏิบัติการพบว่ามีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.1191 และ 7.1484 ppm แสดงว่าหนอนใยผักจากประชากรจังหวัดสุพรรณบุรีมีความต้านทานต่อสาร CTPR เป็น 60 เท่าของหนอนใยผักจากประชากรจังหวัดเชียงใหม่ (กฤษณา และ ยาวลักษณ์, 2557) เนื่องจากหนอนใยผักแต่ละพื้นที่จะมีการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ต่างกันตามระยะเวลาและปริมาณการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลง

3. ผลการศึกษาในระดับเอนไซม์ทำลายพืชของหนอนใยผักรุ่นที่ 1, 2 และ 3 เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของปริมาณเอสเทอเรส (esterase) โดยใช้ One - way ANOVA ให้ผลดังตารางที่ 2 ส่วนระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ของหนอนใยผัก รุ่นที่ 1, 2 และ 3 เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างโดยใช้ One - way ANOVA ให้ผลดังตารางที่ 3

เมื่อนำกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรสของหนอนใยผักรุ่นที่ 1, 2 และ 3 ที่เลี้ยงด้วยค่น้ำชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 0.00, 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มาวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ความแตกต่างของปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ของหนอนใยผักรุ่นที่ 1, 2 และ 3 ที่เลี้ยงด้วยค่น้ำชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้นเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกัน

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพืช คือ เอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส โดยพบว่าเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น Yu (1984) ได้กล่าวว่าเมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากพืชจะทำให้แมลงมีการสร้างเอนไซม์

Table 2 Esterase in diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) fed with aloe extract-coated Chinese kale (*Brassica oleracea*.)

Concentration % (w/v)	Mean ¹ ± SD of esterase (n mole)		
	F1	F2	F3
0.00	5.47 ^a ±0.09	5.47 ^a ±0.14	5.45 ^a ±0.16
1.50	7.29 ^b ±0.53	7.32 ^{ab} ±0.24	7.21 ^{ab} ±0.51
2.00	9.47 ^c ±0.72	9.43 ^b ±0.67	9.40 ^b ±0.48
2.25	11.03 ^c ±0.38	11.02 ^b ±0.31	10.97 ^b ±0.92

¹Means with different letters in the same column are significantly different (P<0.05)

Table 3 Glutathione S-transferase in diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) fed with aloe extract-coated Chinese kale (*Brassica oleracea*.)

Concentration(%) (w/v)	Mean ¹ ± SD of glutathione S-transferase (n mole)		
	F1	F2	F3
0.00	0.59 ^a ±0.03	0.59 ^a ±0.06	0.55 ^a ±0.06
1.50	0.63 ^{ab} ±0.04	0.62 ^{ab} ±0.01	0.62 ^{ab} ±0.02
2.00	0.71 ^{bc} ±0.09	0.70 ^{bc} ±0.02	0.69 ^{bc} ±0.04
2.25	0.78 ^c ±0.08	0.78 ^c ±0.09	0.76 ^c ±0.02

¹Means with different letters in the same column and roll are significantly different (P<0.05)

ทำลายพิษ ปริมาณที่เหมาะสมเพื่อทำลายพิษจากสารสกัดจากพืชซึ่งเป็นสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายให้มีความเป็นพิษน้อยลงหรือไม่มีพิษเลยและการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษในแมลงแต่ละชนิดต่อสารพิษที่แตกต่างกัน หรือในแมลงชนิดเดียวกันถ้าได้รับสารพิษคนละชนิด การเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษก็จะแตกต่างกันด้วย (Rose and Terriere, 1980)

ในการศึกษาเอนไซม์ของหนอนใยผักรุ่นที่ 1, 2 และ 3 เมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ เพื่อดูแนวโน้มการต้านทานของหนอนใยผักต่อสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ จากผลการทดลองพบว่าเอสเทอร์เอส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรสของหนอนใยผักทั้ง 3 รุ่นไม่แตกต่างกัน การสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีแต่ละชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดจะใช้เวลาแตกต่างกัน และพบว่าสารเคมีในกลุ่ม pyrethroid เป็นสารเคมีที่แมลงสร้างความต้านทานได้เร็วที่สุด คือ 2 ปี การสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดต้องใช้เวลาลายรุ่น ซึ่งการสร้างเอนไซม์ถูกควบคุมโดยยีนบนโครโมโซมคู่ที่ 2 (Metcalf, 1989) และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไป ซึ่งจะมีผลทำให้แมลงมีความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัด ดังนั้นผลการศึกษาก็ยังสรุปไม่ได้ว่า หนอนใยผักไม่สามารถสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้แต่จะไม่มีเปลี่ยนแปลงในระยะเวลานาน

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ต่อการควบคุมหนอนใยผักนั้นพบว่าสารสกัดที่ได้โดยวิธีซอกโทเลต โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีประสิทธิภาพในการไล่หนอนใยผักวัย 2 พบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาและความเข้มข้นมากขึ้น ส่วนในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักวัย 2 มีค่า AFI_{50} เท่ากับ 2.97% (w/v) ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบเพิ่มขึ้นการ

ทดสอบประสิทธิภาพต่อการตายพบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักที่ 72 ชม. มีค่า LC_{50} คือ 1.83% (w/v) จากผลการศึกษาระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนใยผักรุ่นที่ 1, 2, 3 ตรวจวัดปริมาณ เอสเทอร์เอสและกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น และพบว่าพบว่าระดับเอสเทอร์เอสและกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ของหนอนใยผักทั้ง 3 รุ่นไม่แตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

ควรตรวจวิเคราะห์หาสารทุติยภูมิตัวอื่น ๆ ในเปลือกว่านหางจระเข้ที่สามารถออกฤทธิ์ในการควบคุมหนอนใยผักได้ หรือทำการแยกสารทุติยภูมิแต่ละชนิดให้บริสุทธิ์รวมทั้งสารแอนทราควิโนน แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักเพื่อเปรียบเทียบหาสารที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด และควรมีการทดลองกับแมลงศัตรูพืชอื่น และศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่มีผลต่อระยะต่าง ๆ ในวงจรชีวิต เช่น การวางไข่ การเป็นตัวหนอน การเข้าดักแด้ การลอกคราบ เป็นต้น และควรทดสอบผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่มีต่อระดับเอนไซม์ทำลายพิษของแมลงในระยะยาว เพื่อดูแนวโน้มการต้านทานของแมลง และควรมีการทดสอบในพื้นที่จริง โดยทดลองพ่นในแปลงผักชนิดต่าง ๆ เพื่อทดสอบการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในสภาพธรรมชาติ และวิเคราะห์ต้นทุนในการที่เกษตรกรจะนำไปใช้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กฤษณา สุเมธะ และ ยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2557. พืชนเนสคอสต์ของความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงกลุ่มไดอะไมด์ในหนอนใยผัก. วารสารเกษตร 30(1): 29-37.
- เกรียงไกร จำเริญมา และ เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธิ์. 2540. ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดากับหนอนกระทู้หอม. กล้วยและสัตววิทยา 19(2): 78-88.

- รติยา คุณเขตพิทักษ์วงศ์ สังวาล สมบูรณ์ สุภาณี พิมพ์
สมาน และ วชิร คุณกิตติ. 2546. การ
เปรียบเทียบปริมาณสาร azadirachtin และฤทธิ์
การยับยั้งการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดา
สามชนิดต่อหนอนใยผัก. วารสารวิจัย
มหาวิทยาลัยขอนแก่น 8(2): 11-16.
- ศิริพรรณ ตันตาคม นันทิยา จิตธรรมมา บุญฤทธิ์
ส้ายมพล สุรัตน์วดี จิระจินดา และ ธรรมศักดิ์
ทองเกตุ. 2550. ประสิทธิภาพในการเป็นสาร
ไล่หนอนกระทู้ผักของน้ำมันหอมระเหยจากใบยู
คาลิปตัส. วิทยาศาสตร์การเกษตร 5(1): 30-35.
- สุรพล วิเศษสรรค์ มณัญญา เพียรเจริญ และ ธานี วัฒน-
สมบัติ. 2544. ผลของสารสกัดจากใบสาบเสือ
(*Chromolaena odorata*) และเหง้าข่า (*Alpinia
galangal* Stuntz) ต่อระดับเอนไซม์ทำลายพืช
ในหนอนใยผัก (*Plutella maculipennis* L.) หน้า 55-
61. ใน: รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืช
แห่งชาติ ครั้งที่ 5 เรื่องอารักขาพืช: ผลิตอาหาร
เพื่อประชากรโลก:สมาคมคนไทย-ผู้ประกอบการ
ธุรกิจสารเคมีเกษตร/สมาคมอารักขาพืชไทย/
สมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย,
กรุงเทพฯ.
- สุรพล วิเศษสรรค์ และ เรวดี ชูช่วย. 2542. ประสิทธิภาพ
ของสารสกัดจากตะไคร้หอม และสะเดากับการ
เปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพืชในหีบ
สุ่นซ์ หน้า 847-851. ใน: รายงานผลการวิจัย
ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย.
การประชุมวิชาการประจำปี โครงการ BRT ครั้งที่ 3.
11-14 ตุลาคม 2542. หาดใหญ่, สงขลา.
- อดุลย์ รัตนมโนเกษม. 2537. ว่านหางจระเข้ตำหรับแพทย์
จีนฉบับปรับปรุง. นานมี บุ๊คส์, กรุงเทพฯ.
- Abivardi, C. and G. Benz. 1984. Tests with extracts
of 21 medicinal plants for antifeedant
activity against larvae of *Pieris brassicae* L.
Mitteilungen der Schweizerische
Entomologische Gesellschaft 57(4): 383-
392.
- Du. H., R.A. Fuh, J. Li, A. Corkanand and J.S.
Lindsey. 1998. Photochem CAD: A
computer-aided design and research tool in
photochemistry. Photochemistry and
Photobiology 68: 141-142.
- Feng, R., W. Chen and M.B. Isman. 1995.
Synergism of malathion and inhibition of
midgut esterase activities by an extract
from *Melastoma* (Meliaceae).
Pesticide Biochemistry and Physiology 53:
34-41.
- Finney, D.J. 1978. Statistical Methods in Biological
Assay, 3rd ed. Charles Griffin and Company
Limited, London. 365 p.
- Mackness, M., I.C.H. Walker, D.G. Rowland and N.
R. Price. 1983. Esterase activity in
homogenates of three strains of the rust red
flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst).
Comparative Biochemistry and Physiology
74(1): 65-68.
- McDonald, L.L., R.H. Guyard and R.D. Speirs. 1970.
Preliminary evaluation of new candidate
materials as toxicants, repellents and
attractants against stored product insect.
Marketing Research Report No. 882.
Agricultural Research Service, US., Dept. of
Agriculture, Washington D.C.
- Metcalf, R.L. 1989. Insect resistance to insecticides.
Journal of Pesticide Science 26: 333-358.
- Rose, H.A. and L.C. Terriere. 1980. Microsomal
oxidase activity of tree blowfly species and
its induction by phenobarbital and p-
naphthoflavone. Pesticide Biochemistry and
Physiology 14: 275-281.
- Reed, D.K., J.D. Warthen, Jr., E.C. Uebeland and G.
L. Reed. 1982. Effect of two-triterpenoids
from neem on feeding by cucumber
beetles, (Coleoptera: Chrysomelidae).

- Journal of Economic Entomology 75: 1109-1113.
- Talukder, F.A. and P.E. Howse. 1995. Evaluation of *Aphanamixis polystachya* as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum*. Journal of Stored Products Research 31(1): 55-61.
- U.S. Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs 1961. Anthraquinone Fact Sheet, 1998 http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet_122701.htm, (20 November, 2010) .Booth, J., E Boyland P. Sims. An enzyme from rat liver catalyzing conjugation with glutathione. Biochem.
- Visetson, S. and M. Milne. 2001. Effects of root extract from derris (*Derris elliptica* Benth) on mortality and detoxification enzyme levels in the diamondback moth larvae (*Plutella xylostella* Linn.). Kasetsart Journal : Natural Science 35: 157-163.
- Waller, G.R., S. Mangiafico and C.R. Ritchey. 1978. A Chemistry investigation of *Aloe barbadensis* MILLER. Proceedings of the Oklahoma Academy of Science 58: 69-76.
- Yu, S.J. 1984. Interaction of allelochemical with detoxification enzymes of insecticides susceptible and resistance fall armyworm. Pesticide Biochemistry and Physiology 22: 60-68.
- Yu, S.J. and E.L. Hsu. 1985. Induction of hydrolases by allelochemicals and host plants in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Environmental Entomology 14: 512-515.
-

ผลของการใช้วัสดุปรับปรุงดินร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดินภายใต้ทรงพุ่มมะรุม

Effect of Soil Amendments Combined with Phosphate Solubilizing Bacteria on Soil Chemical Properties under Moringa Canopy

จิราภรณ์ อินทสาร^{1*}, จัตรปวีณ์ เดชจिरรัตนศิริ^{1/} และ ประวิทย์ บุญมี^{2/}
Jiraporn Inthasan^{1*}, Chatprawee Dechjirattanasiri^{1/} and Pravrit Boonmee^{2/}

^{1/}สาขาวิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

^{1/}Division of Soil Resources and Environment, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

^{2/}ศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ ตำบลโป่งผา อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย 57130

^{2/}Prince Chakraband Pensiri Center for Plant Development, Chiang Rai 57130, Thailand

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

(Received: 14 March 2016; Accepted: 24 June 2016)

Abstract: On field trials were conducted in Moringa seeding area at Prince Chackraband Pensiri Center for Plant Development, Chiang Rai, during January-December 2014. Fifteen isolates of phosphate solubilizing bacteria were collected which the highest clear zone on Czapek medium at 1.25 cm of Isolate 14. The isolate 14 was chosen in medium for treatment with 1×10^8 CFU/ml using Randomized Complete Block Design (RCBD). The experiment consisted of 4 treatments; 1) control, 2) Dolomite (100 kg rai^{-1}), 3) Rock Phosphate (50 kg rai^{-1}) and 4) Rock Phosphate (50 kg rai^{-1}) plus Phosphate solubilizing bacteria (PSB-Isolate 14) with 4 replications. Results of the study showed that all soil amendment application provided higher soil reaction (pH) under moringa canopies than control treatment at 3 and 6 months after applied. Organic matter is ranging from 3.80 to 2.83% at 3 months after treated and 3.86 to 3.25 at 6 months after treated, on top and subsoil respectively but not significant among treatments. Rock phosphate combining with PSB-isolate 14 caused the highest extractable P on topsoil at 58 mgP kg^{-1} at 3 months after treated ($P<0.05$). The application of dolomite 100 kg rai^{-1} provided the highest value of extractable Ca $1,640$ and $1,214 \text{ mgCa kg}^{-1}$ at 3 and 6 months after treated respectively ($P<0.01$). On the other hand, extractable K, Mg and trace elements were not significant both in top and subsoil under moringa canopies at 3 and 6 months after treated.

Keywords: Soil amendment, phosphate solubilizing bacteria, moringa

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของการใช้วัสดุปรับปรุงดินร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดินได้ทรงพุ่มมะรุม ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะรุมของศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย ตั้งแต่เดือนมกราคม - ธันวาคม 2557 โดยพบเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยสลายฟอสเฟตทั้งหมด 15 ไอโซเลท ซึ่งเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่ 14 มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟตโดยวัดความกว้างของวงใสในอาหารเลี้ยงเชื้อ สูงที่สุดคือ 1.25 เซนติเมตร จึงนำมาขยายเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดเหลวที่มีปริมาณเชื้อ 1×10^8 CFU/ml เพื่อนำมาวางแผนการทดลองแบบสุ่มลงในบล็อคอ้อย่างสมบูรณ์ (RCBD) ประกอบด้วย 4 ตำรับทดลอง 4 ซ้ำ ดังนี้ 1) ตำรับควบคุม (control) 2) ตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินโดโลไมท์ อัตรา 100 กิโลกรัม/ไร่ 3) ตำรับที่ใส่หินฟอสเฟต อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ และ 4) ตำรับที่ใส่หินฟอสเฟต อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟต พบว่า ค่าความเป็นกรดต่างของดินได้ทรงพุ่มมะรุมหลังใส่ปุ๋ยอินโดโลไมท์ หินฟอสเฟต และการใส่หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อแบคทีเรียย่อยสลายฟอสเฟต สูงกว่าตำรับควบคุมในเดือนที่ 3 และ 6 หลังใส่ตำรับทดลอง ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินมีค่าเฉลี่ย 3.80 และ 2.83% ในเดือนที่ 3 และ 3.86 และ 3.25% ในเดือนที่ 6 หลังใส่ตำรับทดลองในดินระดับบนและดินระดับล่างตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ปริมาณฟอสเฟตที่สกัดได้ได้ทรงพุ่มมะรุมสูงที่สุดเมื่อมีใส่หินฟอสเฟต อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟต คือ 58 mg kg^{-1} ในดินระดับบน หลังจากใส่ตำรับทดลอง 3 เดือน ($P < 0.05$) การใส่โดโลไมท์ อัตรา 100 กก/ไร่ ส่งผลให้ปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้สูงที่สุดคือ $1,640$ และ $1,214 \text{ mg kg}^{-1}$ หลังใส่ตำรับทดลอง 3 และ 6 เดือน ตามลำดับ ($P < 0.01$) ขณะที่ปริมาณโพแทสเซียม แมกนีเซียม และ ธาตุอาหารเสริมทุกตัวที่สกัดได้ในดินไม่มีความแตกต่างในทางสถิติระหว่างตำรับทดลองในดินได้ทรงพุ่มมะรุม ที่ระยะ 3 และ 6 เดือนหลังการใส่ตำรับทดลอง

คำสำคัญ: วัสดุปรับปรุงดิน แบคทีเรียย่อยสลายฟอสเฟต มะรุม

คำนำ

มะรุม (*Moringa oleifera* Lam.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ ศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ ตำบลโป่งผา อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ทำการผลิตเมล็ดพันธุ์มะรุมให้เกษตรกรที่สนใจ นำไปสร้างรายได้ หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับสมุนไพรในท้องตลาด โดยจะพบว่ามะรุมมีคุณสมบัติที่ดีในการนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ได้หลายส่วน เช่น ผลมะรุมที่นิยมนำมารับประทานเป็นอาหาร ใบมะรุมนำมาสกัดทำยาสมุนไพร เมล็ดสกัดทำน้ำมันเพื่อรับประทานหรือประกอบอาหาร รวมถึงใช้ในด้านความสวยความงาม นอกจากนี้ใบและฝักมะรุม ยังมีองค์ประกอบของสารที่ออกฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ สารที่ออกฤทธิ์ช่วยลดความดัน ด้านแบคทีเรียและรา และด้านการอักเสบ (เรืองศิริ, 2554; รัตติยา และ ศศิวิมล, 2552; แพร่วี, 2554) ซึ่งการเพาะปลูกมะรุมนั้นสามารถปลูกด้วยการเพาะเมล็ด หรือ การปักชำ เกษตรกรสามารถเก็บใบและฝักมะรุมเมื่อมีอายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป (อภิชาติ, 2553)

อย่างไรก็ตามปัญหาที่พบสำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์ในพื้นที่ศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงรายนั้น เนื่องจากมีสภาพดินที่เป็นกรดจัดค่าความเป็นกรดต่างเฉลี่ย 4.5-5.0 และความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ที่อยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ ทำให้ผลผลิตของเมล็ดพันธุ์ไม่สม่ำเสมอ ซึ่งค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมต่อการเพาะปลูกมะรุมนั้นอยู่ในช่วง 5.5-8.0 (Kokou, et al., 2001) การปรับปรุงดินกรดนั้นสามารถใช้วัสดุปรับปรุงดินได้หลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นปุ๋ยขาว ปุ๋ยอินโดไมท์ ปุ๋ยหมัก หรือ หินฟอสเฟต (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548; ปิยะ, 2553; ยงยุทธ์ และคณะ, 2551) สภาพที่ดินเป็นกรดจัดจึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ธาตุอาหารหลักหลายตัวเกิดความไม่สมดุลและไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยเฉพาะ ฟอสฟอรัส จะเห็นได้ว่าในดินกรดจัดนั้นจะเพิ่มการตรึงฟอสฟอรัสที่อยู่ในดินและลดการละลายฟอสเฟตซึ่งเป็นรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลงรักษาระดับ pH ของดินให้อยู่ในช่วง 6-7 โดยการใส่วัสดุ

ปรับปรุงดินประเภทปูน หินฟอสเฟต หรือการใส่ปุ๋ย ฟอสเฟตแบบโรยปุ๋ยเป็นแถวและรองกันหลุม และการใช้ เชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต จึงเป็นวิธีการที่ถูกนำมา ปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมีของดิน (จิราภรณ์, 2557; ธงชัย, 2550) โดยจุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้มี หลายชนิดทั้งที่เป็นแบคทีเรีย เชื้อรา และแอคติโนมัยซิส (Illmer *et al.*, 1995) จุลินทรีย์เหล่านี้กระจายอยู่ทั่วไปใน ดิน แต่พบมากในดินบริเวณรากพืช จากงานวิจัยที่ทำการ ทดสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตพบว่าเชื้อราที่มี ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตสูงกว่าเชื้อแบคทีเรีย และแอคติโนมัยซิส เช่น *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* และ *Penicillium* sp. เป็นต้น (Kucey, 1983; Illmer and Schinner, 1992; Illmer *et al.*, 1995; Oliveira *et al.*, 2009) ซึ่งมีการรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้ยัง สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารอื่น ๆ ใน ดินได้และยังมีส่วนในการควบคุมโรคในพืชเช่น *Bacillus megaterium* ที่สามารถควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว พันธ์ กข6 ที่มีเชื้อรา *Rhizoctonia solani* เป็นเชื้อสาเหตุ อีกด้วย (Nibha *et al.*, 2007; ปิรันธนา และศราวิชญ์, 2558) ดังนั้นจึงมีวัตถุประสงค์ศึกษาการปรับปรุง คุณสมบัติของดินใต้ทรงพุ่มมะรุมด้วยวัสดุปรับปรุงดิน ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต เพื่อใช้ เป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตของเมล็ดพันธุ์มะรุมได้

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

การศึกษาค้นคว้าผลของการใช้วัสดุปรับปรุงดินร่วมกับ เชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตต่อการ เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดินใต้ทรงพุ่มมะรุม นั้นได้ทำ การทดสอบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะรุมของศูนย์พัฒนา พันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย ระยะเวลาใน การศึกษา 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม 2557 โดยทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากมะรุมเพื่อทำ การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อย ฟอสฟอรัสมาทดสอบร่วมกับการเติมวัสดุปรับปรุงดินใน แปลงมะรุมเพื่อลดความเป็นกรด-ด่าง และนำตัวอย่างดิน วิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการ ณ อาคารปฏิบัติการ

ทางดินและปุ๋ยชั้นสูง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ก่อนการวางตัวรับทดลอง

การคัดแยกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตจากดิน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบ รากมะรุมภายในบริเวณแปลงของศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย โดยทำการคัดแยกแบคทีเรีย บนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้เชื้อแบคทีเรียที่มีความบริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมาทดสอบ ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek medium ตามวิธีของ Atlas (1993) และ เปรียบเทียบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตบนอาหาร แข็งโดยค่า Solubilization Index (SI) ซึ่งวัดรัศมีของ บริเวณวงใส (clear zone) และรัศมีของโคโลนี เพื่อนำมา คำนวณหาค่า SI ตามวิธีการของ Collavino *et al.* (2010) ดังสูตรต่อไปนี้

$$SI = \frac{(\text{Colony diameter} + \text{Halozone diameter})}{\text{Colony diameter}}$$

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดมาผลิตเป็น หัวเชื้อจุลินทรีย์ ในรูปแบบหัวเชื้อเหลวเข้มข้นด้วยอาหาร เหลว Nutrient Broth โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ 1×10^8 CFU/ml

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต ในแปลงมะรุม

การวางแผนทดลองแบบสุ่มลงในบล็อกอย่าง สมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วยสิ่งทดลอง 4 ตัวรับดังนี้

1. ตัวรับควบคุม (control)
2. ตัวรับที่ใส่ปุ๋ยอินโดไมท์ อัตรา 100 กิโลกรัม/ไร่
3. ตัวรับที่ใส่หินฟอสเฟต อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่
4. ตัวรับที่ใส่หินฟอสเฟต อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตที่มีปริมาณ

จุลินทรีย์ 1×10^8 CFU/ml จำนวน 50 ml ใส่ได้ทรงพุ่ม
มะรุ่มระยะ 1 ตารางเมตร

การเก็บตัวอย่างดินและการวิเคราะห์ดินทางเคมี

เก็บตัวอย่างดินก่อนและหลังปลูก ในพื้นที่แปลงมะรุ่ม ที่ต้นมะรุ่มมีอายุ 5-8 ปี ที่ระดับความลึก 0-15 และ 15-30 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างดินแบบรวม (composite sample) โดยการเก็บตัวอย่างจะสุ่มเก็บรอบทรงพุ่มมะรุ่ม 4 จุดต่อ 1 ต้น ภายใต้พื้นที่บริเวณรอบรากมะรุ่ม 1 ตารางเมตร และทำให้แห้งโดยตากไว้ในที่ร่ม (air-dried) นำไปบด และผ่านตะแกรงร่อนดินขนาด 0.5 และ 2.0 มิลลิเมตร เพื่อนำตัวอย่างดินมาวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางเคมีของดิน ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ใช้ดิน 10 กรัมต่อน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร (1:1) วัดค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้เครื่องมือ pH-meter (Wayne, 1980), ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (soil organic matter) นำมาวิเคราะห์โดยวิธี Walkley and Black (1947) และ FAO (2008) ปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ (extractable phosphorous) โดยวิธี Brayll ตามวิธีการของ Watanabe and Olsen (1962) และ FAO (2008) ปริมาณโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สกัดได้ (extractable potassium, calcium, magnesium) สกัดด้วย NH_4OAc pH 7.0 (Wayne, 1980) และ ปริมาณเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดงที่สกัดได้ด้วยน้ำยาสกัด DTPA-Diethylene Triamine Penta Acetic acid (Wayne, 1980) อ่านค่าด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มลงในบล็อกอย่างสมบูรณ์ (RCBD) เมื่อพบความแตกต่างกันในทางสถิติจึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธีจัดกลุ่มของสิ่งทดลอง (Least Significant Difference-LSD)

ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลของการตรวจสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณฟอสเฟตเป็นส่วนประกอบของอาหาร พบแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต ทั้งหมด 15 Isolates โดย Isolate 14 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตดีที่สุดโดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของค่า Solubilization Index (SI) สูงที่สุดคือ 2.50 ใกล้เคียงกับเชื้อ Isolate 10 ที่มีค่า SI เท่ากับ 2.30 และยังพบเชื้อแบคทีเรีย Isolate 5, 4, 7 และ 6 ที่มีประสิทธิภาพละลายฟอสเฟต อยู่ในระดับสูงโดยมี ค่า SI เท่ากับ 2.10, 1.94, 1.90 และ 1.80 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จึงทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย Isolate 14 ไปทดสอบกับการจัดการดินในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยหินฟอสเฟตในแปลงมะรุ่ม

คุณสมบัติทางเคมีของดินก่อนทำการทดลอง

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินก่อนพบว่าดินที่สอกระดับความลึก คือ 0-15 เซนติเมตร และ 15-30 เซนติเมตร มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.10-5.28 ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินระดับบนมีค่าอยู่ที่ 3.51% และ 2.93% ในดินระดับล่าง ปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 20 mgP kg^{-1} และ 11 mgP kg^{-1} ในดินระดับบนและล่างตามลำดับ ปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้อยู่ที่ 183 mgK kg^{-1} ในดินบนและ 130 mgK kg^{-1} ในดินล่าง ปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินบนมีค่าอยู่ที่ $1,087 \text{ mgCa kg}^{-1}$ และ 913 mgCa kg^{-1} ในดินล่าง ปริมาณแมกนีเซียมที่สกัดได้ในดินมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 86 mgMg kg^{-1} สำหรับปริมาณธาตุอาหารเสริมในดินก่อนการทดลองพบว่ามีปริมาณแมงกานีสที่สกัดได้ในดินอยู่ที่ 116 และ 102 mgMn kg^{-1} ในดินระดับบนและดินระดับล่างตามลำดับ ปริมาณเหล็กที่สกัดได้ในดินระดับบนมีค่าอยู่ที่ 90 mgFe kg^{-1} ส่วนปริมาณทองแดงที่สกัดได้ในดินมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 3.7 mgCu kg^{-1} ขณะที่ปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ในดินก่อนการทดลองมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.8 mgZn kg^{-1} (ตารางที่ 2)

Table 1 Solubilization Index (SI) of the selected PSB strains during 7 days of incubation

Isolate Number	Solubilization Index (SI)
Isolate 1	0.20
Isolate 2	0.44
Isolate 3	0.70
Isolate 4	1.94
Isolate 5	2.10
Isolate 6	1.80
Isolate 7	1.90
Isolate 8	0.70
Isolate 9	0.58
Isolate 10	2.30
Isolate 11	1.70
Isolate 12	1.30
Isolate 13	0.40
Isolate 14	2.50
Isolate 15	0.50

Table 2 Soil properties before applied

soil depth	pH	OM (%)	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Cu	Zn
----- (mg kg ⁻¹) -----										
0-15 cm	5.10	3.51	20	183	1,087	87	116	90	3.7	0.9
15-30 cm	5.28	2.93	11	130	913	85	102	87	3.6	0.8
Mean	5.19	3.22	16	156	1,000	86	109	88	3.7	0.8

คุณสมบัติของดินหลังการทดลอง

คุณสมบัติทางเคมีของดินหลังการจัดการด้วยวัสดุปรับปรุงดินและเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต 3 เดือน ได้ทรงพุ่มมะรุมของดินระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร นั้นพบว่ามีเพียงปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่สกัดได้ในดินมีความแตกต่างในทางสถิติ ขณะที่ดินระดับความลึก 15-30 เซนติเมตร คุณสมบัติทางเคมีดินไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ โดยค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินทั้งสองระดับไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างตัวรับทดลองอย่างใด โดยพบว่าตัวรับที่ใส่โดโลไมท์ส่งผลให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุดคือ 5.78 ในดินระดับบน และ 5.53 ในดินระดับล่าง ขณะที่ปริมาณอินทรีย์วัตถุพบว่าตัวรับที่ใส่หิน

ฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟต มีค่าสูงที่สุด คือ 4.09% ในดินระดับบน และ 3.29% ในดินระดับล่าง สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสในดินระดับพบว่า ตัวรับที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินสูงที่สุดคือ 58 mgP kg⁻¹ ซึ่งมีความแตกต่างในทางสถิติกับทุกตัวรับทดลองอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) ขณะที่การใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวส่งผลให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินเพียง 30 mgP kg⁻¹ ตัวรับควบคุม ส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุดคือ 23 mgP kg⁻¹ แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับตัวรับที่ใส่การใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว และการใส่ปูนโดโลไมท์ สำหรับดินระดับล่างปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน

กับดินระดับบนคือตำรับที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินสูงที่สุด ซึ่งพบปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้อยู่ที่ 24 mgP kg^{-1} ส่วนตำรับที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวส่งผลให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินเพียง 23 mgP kg^{-1} การใส่ปุ๋ยโดโลไมท์ส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุดคือ 15 mgP kg^{-1} ซึ่งทุกตำรับทดลองไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ

ปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้ในดินระดับบนมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 289 mgK kg^{-1} โดยไม่มีความแตกต่างระหว่างตำรับทดลองของดินทั้งสองระดับปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดิน พบว่าตำรับที่ใส่ปุ๋ยโดโลไมท์ส่งผลให้มีค่าสูงที่สุดคือ $1,640 \text{ mgCa kg}^{-1}$ ซึ่งไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับทุกตำรับทดลอง ($P>0.05$) ยกเว้นตำรับควบคุมซึ่งมีปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุดคือ 965 mgCa kg^{-1} ขณะที่ดินระดับล่างมีปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินเฉลี่ยอยู่ที่ 962 mgCa kg^{-1} โดยทุกตำรับทดลองไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ปริมาณแมกนีเซียมที่สกัดได้ในดินทั้งสองระดับพบว่าตำรับที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณแมกนีเซียมที่สกัดได้ในดินสูงที่สุดคือ 159 mgMg kg^{-1} ในดินระดับบน และ 119 mgMg kg^{-1} ในดินระดับล่าง ตามลำดับ ซึ่งทุกตำรับทดลองไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ

ปริมาณธาตุอาหารเสริมหลังใส่ตำรับ 3 เดือนพบว่าทุกตำรับทดลองไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ โดยปริมาณแมงกานีสที่สกัดได้ในดินระดับบนมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 105 mgMn kg^{-1} และในดินระดับล่าง มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 94 mgMn kg^{-1} ปริมาณเหล็กที่สกัดได้ในดินมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 73 และ 75 mgFe kg^{-1} ในดินระดับบน และดินระดับล่าง ตามลำดับ ปริมาณทองแดงที่สกัดได้ในดินทั้งสองระดับมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 4.17 และ $4.06 \text{ mgCu kg}^{-1}$ ในดินระดับบน และ ในดินระดับล่าง ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างระหว่างตำรับทดลอง ส่วนปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ในดินหลังใส่ตำรับ 3 เดือนพบว่าตำรับที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ในดินสูงที่สุดทั้งสองระดับความลึกคือ $0.98 \text{ mgZn kg}^{-1}$ ในดินระดับบน และ $1.09 \text{ mgZn kg}^{-1}$ ในดินระดับล่าง ขณะที่การใส่ปุ๋ยโดโลไมท์หรือ หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวส่งผลให้มี

ปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ในดินน้อยกว่าการใส่ร่วมกับจุลินทรีย์ แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับทุกตำรับทดลอง ส่วนตำรับควบคุมพบปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุด ทั้งสองระดับความลึกคือ $0.74 \text{ mgZn kg}^{-1}$ ในดินระดับบน และ $0.71 \text{ mgZn kg}^{-1}$ ในดินระดับล่าง (ตารางที่ 3)

คุณสมบัติทางเคมีของดินหลังทำการทดลองหลังใส่เชื้อจุลินทรีย์ 6 เดือน

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินหลังใส่ตำรับทดลอง 6 เดือน พบว่ามีเพียงปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินระดับ 0-15 เซนติเมตรเท่านั้นที่มีความแตกต่างในทางสถิติ โดยตำรับที่ใส่ปุ๋ยโดโลไมท์ส่งผลให้มีปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินสูงที่สุดคือ $1,214 \text{ mgCa kg}^{-1}$ ซึ่งมีความแตกต่างในทางสถิติกับทุกตำรับทดลอง ($P<0.05$) ยกเว้นตำรับที่ใส่หินฟอสเฟตอัตรา 50 กก./ไร่ ($1,136 \text{ mgCa kg}^{-1}$) ขณะที่ปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุดพบในตำรับควบคุมคือ 711 mgCa kg^{-1} สำหรับดินระดับล่างมี ปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินเฉลี่ยอยู่ที่ 463 mgCa kg^{-1} ตำรับที่ควบคุมมีปริมาณแคลเซียม ที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุดคือ 434 mgCa kg^{-1} ขณะที่การใส่โดโลไมท์ส่งผลให้ ปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินสูงที่สุดคือ 505 mgCa kg^{-1} แต่ทุกตำรับทดลองไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่างของดินได้ทรงพุ่มมะรุ่มที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร อยู่ในช่วง 5.08-5.78 โดยพบว่าทุกตำรับทดลองไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ขณะที่ปริมาณอินทรีย์วัตถุไม่มีความแตกต่างในทางสถิติระหว่างตำรับทดลองในดินทั้งสองระดับโดยอินทรีย์วัตถุมีค่าอยู่ในช่วง 2.85-4.20% (0-30 เซนติเมตร) นอกจากนี้ปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินทั้งสองระดับไม่มีความแตกต่างในทางสถิติเช่นกัน สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินระดับดินบน พบว่าตำรับที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินสูงที่สุดคือ 20 mgP kg^{-1} ขณะที่การใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวมีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินเพียง 19 mgP kg^{-1} ตำรับควบคุมมีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุดคือ 13 mgP kg^{-1} ซึ่งทุกตำรับทดลองไม่มีความ

Table 3 Soil properties under moringa canopies after applied soil amendment and phosphate solubilizing bacteria at 3 months

Treatment	pH	OM (%)	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Cu	Zn
-----mg kg ⁻¹ -----										
Top soil 0-15 cm										
Control	5.52	3.84	23b	250	965b	137	111	67	4.43	0.74
Dolomite	5.78	3.50	25b	288	1,640a	157	98	75	3.91	0.95
Rock P	5.59	3.77	30b	316	1,533a	130	105	77	4.21	0.89
Rock P+ PSB	5.73	4.09	58a	303	1,403ab	159	106	75	4.12	0.98
Grand Mean	5.65	3.80	34	289	1,385	146	105	73	4.17	0.89
F-test	ns	ns	*	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
CV	4.36	11.30	34.84	22.88	21.67	14.52	14.77	11.06	8.48	13.89
Sub soil 15-30 cm										
Control	5.29	2.27	17	179	895	117	103	69	4.43	0.71
Dolomite	5.53	2.67	15	180	1,017	118	78	77	3.35	0.91
Rock P	5.42	3.10	23	168	964	116	93	81	4.20	0.91
Rock P+ PSB	5.30	3.29	24	175	970	119	104	75	4.25	1.09
Grand Mean	5.39	2.83	20	175	962	118	94	75	4.06	0.91
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV	4.90	25.71	27.22	10.91	18.10	7.23	23.50	13.15	19.99	7.37

Mean in the same column followed by different letters were different significantly by LSD **=0.01, *=0.05 and ns= Nonsianificant

แตกต่างกันทางสถิติ สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินระดับล่างก็ไม่มี ความแตกต่างในทางสถิติ เช่นเดียวกับดินระดับบนโดยดำรับที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมกับ เชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินสูงที่สุด ซึ่งพบปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้อยู่ที่ 17 mgP kg⁻¹ ส่วน ดำรับที่ใส่หินฟอสเฟต เพียงอย่างเดียวส่งผลให้มีปริมาณ ฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินเพียง 15 mgP kg⁻¹ ดำรับ ควบคุมมีปริมาณฟอสฟอรัส ที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุดคือ 8 mgP kg⁻¹ ซึ่งทุกดำรับทดลองไม่มีความแตกต่างในทาง สถิติ

ปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้ในดินระดับบนมี ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 128 mgK kg⁻¹ ดำรับที่ใส่หินฟอสเฟต ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ส่งผลให้มีปริมาณโพแทสเซียมที่สกัด ได้ในดินสูงที่สุดคือ 128 mgK kg⁻¹ และดำรับที่ใส่ปูน โดโลไมท์พบปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้ต่ำที่สุดคือ 112 mgK kg⁻¹ ขณะที่ในดินระดับล่าง มีค่าเฉลี่ยของปริมาณ

โพแทสเซียมที่สกัดได้ในดินอยู่ที่ 69 mgK kg⁻¹ การใส่ปูน โดโลไมท์ ส่งผลให้ปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้ในดินล่าง สูงที่สุดคือ 74 mgK kg⁻¹ ขณะที่การใส่หินฟอสเฟตร่วมกับ เชื้อจุลินทรีย์ส่งผลให้ปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้ในดิน ต่ำที่สุดอยู่ที่ 61 mgK kg⁻¹ ซึ่งทุกดำรับทดลองไม่มีความ แตกต่างในทางสถิติปริมาณแมกนีเซียมที่สกัดได้ในดิน ระดับบนมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 67 mgMg kg⁻¹ ขณะที่ดินระดับ ล่างมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 54 mgMg kg⁻¹ ซึ่งทุกดำรับทดลอง ไม่ มีความแตกต่างในทางสถิติ

ปริมาณธาตุอาหารเสริมที่สกัดได้ในดิน พบว่า ปริมาณแมงกานีสที่สกัดได้ในดิน ระดับบนมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 72 mgMn kg⁻¹ ดำรับที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวมี ปริมาณแมงกานีสที่สกัดได้ในดิน สูงที่สุดคือ 76 mgMn kg⁻¹ ทุกดำรับทดลองไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ปริมาณเหล็กที่สกัดได้ในดิน ระดับบนและดินระดับล่างมี ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 122 และ 169 mgFe kg⁻¹ ปริมาณทองแดงที่

สกัดได้ในดินทั้งสองระดับ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ ตำรับที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ มีปริมาณทองแดงที่สกัดได้ในดินสูงที่สุดในดินทั้งสองระดับมีค่าอยู่ที่ $4.23 \text{ mgCu kg}^{-1}$ ในดินระดับบน และ $4.36 \text{ mgCu kg}^{-1}$ ในดินระดับล่าง ส่วนตำรับที่ใส่ปูนโดโลไมท์ที่มีปริมาณทองแดงที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุด ทั้งสองระดับความลึกคือ $3.63 \text{ mgCu kg}^{-1}$ ในดินระดับบน และ $3.04 \text{ mgCu kg}^{-1}$ ในดินระดับล่าง ปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ในดินหลังใส่

ตำรับ 6 เดือนพบว่าตำรับที่ใส่ปูนโดโลไมท์ที่มีปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ในดินสูงที่สุดทั้งสองระดับความลึกคือ $2.60 \text{ mgZn kg}^{-1}$ ในดินระดับบน และ $1.20 \text{ mgZn kg}^{-1}$ ในดินระดับล่าง ส่วนตำรับควบคุมพบปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ในดินต่ำที่สุดทั้งสองระดับความลึกคือ $1.52 \text{ mgZn kg}^{-1}$ ในดินระดับบน และ $0.65 \text{ mgZn kg}^{-1}$ ในดินระดับล่าง (ตารางที่ 4)

Table 4 Soil properties under moringa canopies after applied soil amendment and phosphate solubilizing bacteria at 6 months

Treatment	pH	OM (%)	P	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Cu	Zn
mg kg ⁻¹										
Top soil 0-15 cm										
Control	5.45	3.78	13	130	711c	68	74	108	4.15	1.52
Dolomite	5.78	3.50	18	112	1,214a	71	62	92	3.63	2.60
Rock P	5.70	3.98	19	127	1,136ab	68	76	133	4.05	2.18
Rock P+PSB	5.75	4.20	20	142	864bc	61	75	156	4.23	2.13
Grand Mean	5.67	3.86	17.4	128	981	67	72	122	4.01	2.10
F-test	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
CV	4.71	8.20	23.19	20.17	14.04	17.34	14.06	15.89	11.35	39.17
Sub soil 15-30 cm										
Control	5.08	3.33	8	72	434	55	68	106	4.36	0.65
Dolomite	5.43	2.85	12	74	457	54	48	97	3.04	1.20
Rock P	5.25	3.28	15	68	505	55	70	116	4.20	0.81
Rock P+PSB	5.33	3.55	17	61	457	53	79	169	4.63	0.86
Grand Mean	5.27	3.25	13.1	69	463	54	66	122	4.05	0.88
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV	5.20	17.07	35.93	12.08	15.02	9.78	21.74	25.54	22.22	27.03

Mean in the same column followed by different letters were different significantly by LSD **=0.01, *=0.05 and ns= Nonsignificant

การทดลองและวิจารณ์

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะรุม จากศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ ตำบลโป่งผา อำเภอแม่สลาย จังหวัดเชียงราย นั้นพบเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถย่อยฟอสเฟต ทั้งหมด 15 ไอโซเลท โดยไอโซเลทที่ 14 มีค่าความสามารถในการละลายฟอสเฟตดีที่สุดโดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของค่า Solubilization Index (SI) สูงที่สุดคือ 2.50 ซึ่งการเกิดวงใสในอาหารนั้นมักจะผันแปรตามสภาพแวดล้อมและแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ (สมพร, 2549; Ashara *et al.*, 2007; Chung *et al.*, 2005) จากผลการทดลองพบว่าดินที่ใช้ในการปลูกมะรุมค่อนข้างมีความเป็นกรดจัดซึ่งมีค่าน้อยกว่า 5.50 พบว่าการจัดการดินโดยการเติมวัสดุปูน 2 ชนิด คือ โดโลไมท์ และหินฟอสเฟตมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างทั้งดินระดับบนและดินระดับล่างเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับค่าควบคุมหลังจากใส่วัสดุดังกล่าวหลังจาก 3 เดือนและ 6 เดือน โดยเห็นผลชัดเจนเฉพาะดินระดับบน (0-15 เซนติเมตร) สอดคล้องกับงานทดลองของ Chen *et al.* (2006) ซึ่งทำการใช้ปูนโดโลไมท์ และ หินฟอสเฟตมาปรับปรุงดินกรด และลดการชะล้างปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินทราย หลังจากบ่มวัสดุปรับปรุงดินที่อัตราต่าง ๆ ดังกล่าว 2 และ 4 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังพบว่าการใส่ หินฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยฟอสเฟตมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้นเล็กน้อยในระยะ 3 เดือน แต่กลับลดลงในช่วงระยะ 6 เดือนหลังจากใส่ตัวรับดังกล่าว ซึ่งความเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างครั้งนี้อาจเกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ทำให้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริเวณรอบรากมะรุมสูงกว่าตัวรับอื่น ๆ แต่ไม่มีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีด้านอื่น ๆ เช่น ปริมาณอินทรีย์วัตถุที่พบว่าการใส่วัสดุปรับปรุงดินทุกตัวรับไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอินทรีย์วัตถุทั้งในดินระดับบนและดินระดับล่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยผลการทดลองดังกล่าวมีผลไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานของ Srivastana *et al.* (2003) ที่พบว่า แบคทีเรียกลุ่ม phosphate solubilizing จะทำให้ค่าความเป็นกรด

ต่ำลงเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังการบ่มเชื้อในดิน 24 ชั่วโมง แต่กลับเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมงในดินที่เติมหินฟอสเฟตของชุดดิน Alfisols ซึ่งมีความเป็นกรดและมีองค์ประกอบของ FeP ในระดับที่สูง อย่างไรก็ตามกลับพบความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารโดยเฉพาะฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในช่วง 3 เดือนแรกที่ใช้หินฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์มีผลทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้สูงกว่าตัวควบคุมอย่างมีนัยสำคัญในดินระดับบน สอดคล้องกับงานของ Richa (2003) พบว่าการใช้หินฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายฟอสเฟตทำให้ปริมาณธาตุอาหารในดินสูงขึ้น ขณะที่ปริมาณโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมเพิ่มสูงขึ้นในช่วงระยะ 3 เดือนหลังใส่ตัวรับทดลอง และลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไปในรอบ 6 เดือน ทั้งนี้อาจเป็นผลของการชะล้างของประจุบวกทั้ง 3 ตัวในช่วงฤดูฝนทำให้ปริมาณดังกล่าวลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ทั้งนี้กลับพบว่าการใช้วัสดุปรับปรุงดิน โดยเฉพาะโดโลไมท์และหินฟอสเฟตมีผลทำให้ปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ของดินระดับบนสูงกว่าตัวควบคุมอย่างเห็นได้ชัด สำหรับปริมาณธาตุอาหารเสริมทั้ง 4 ธาตุ คือ แมงกานีส เหล็ก ทองแดง และสังกะสี มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากในระยะ 3 เดือนหลังการใส่ตัวรับทดลอง พบเพียงปริมาณแมงกานีสที่ลดลงในเดือนที่ 6 เหลือเพียง 72 และ 66 mgMn kg⁻¹ ขณะที่ปริมาณสังกะสีกลับเพิ่มสูงขึ้นจาก 0.9 และ 0.8 เป็น 2.10 และ 0.88 mgZn kg⁻¹ ในดินระดับบนและล่างตามลำดับ โดยจะพบว่าการใส่วัสดุปูนทุกประเภททำให้ปริมาณสังกะสีเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ จิตมา (2542) และศิริพร (2543) ที่ได้นำวัสดุปูนโดโลไมท์มาใช้ในการเพิ่มผลผลิตของถั่วเหลืองและถั่วลิสงในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำปาง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างหลังจากการใส่โดโลไมท์เพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินหลังการเพาะปลูกสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้จิราภรณ์และคณะ (2556) ได้ทดสอบนำจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยฟอสเฟตไปปรับปรุงคุณสมบัติของดินใต้ทรงพุ่มลำไยอินทรีย์ พบว่าการใส่หินฟอสเฟตในอัตรา 30 กก./ไร่ และการใช้หินฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยหินฟอสเฟตมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มสูงขึ้นจากตัวควบคุม

รวมทั้งความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสของดินหลังการเก็บเกี่ยวลำไยอินทรีย์ดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ขณะที่สุภาพรและคณะ (2553) พบว่าการใช้หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟตมีผลทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินสูงกว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับรายงานของ Illmer and Schinner (1992) ที่พบว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญในวัฏจักรฟอสฟอรัส และการเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารเสริม เพราะมีการปลดปล่อยเอนไซม์ ฟอสฟาเทส และสร้าง humic substance ทั้งในดินกรดและดินด่าง นั้นแสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียย่อยสลายฟอสเฟตร่วมกับหินฟอสเฟตมีผลทำให้ความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินและธาตุอาหารเสริมสูงขึ้นได้

สรุป

การใช้วัสดุปรับปรุงดิน ในรูปปูนโดโลไมท์ และหินฟอสเฟตมีแนวโน้มทำให้ค่าความเป็นกรดต่างสูงขึ้น ขณะที่การใช้หินฟอสเฟตร่วมกับแบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต ทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของดินเพิ่มสูงกว่าการใส่วัสดุปรับปรุงดินเพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะในดินระดับบน (0-15 เซนติเมตร) ที่พบว่ามีปริมาณฟอสฟอรัสที่สกัดได้สูงที่สุดหลังการใส่ได้รับทดลอง 3 เดือน คือ 58 mgP kg⁻¹ ขณะที่ปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ในดินระดับบนหลังจากการใส่วัสดุปรับปรุงดินและการใช้เชื้อแบคทีเรียที่ย่อยละลายฟอสเฟตทำให้ปริมาณแคลเซียมสูงกว่าค่าควบคุม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ ตำบลโป่งผา อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย และมูลนิธิชัยพัฒนา ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 547 หน้า.
- จิตติมา กาบเย็น. 2542. การตอบสนองของถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ที่มีต่อการใส่ปุ๋ย NPK ยิปซัม โดโลไมท์ และถั่วลยถิกไนต์ในชุดดินหำงฉัตร(Hc). ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- จิราภรณ์ อินทสาร. 2557. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. คณะผลิตกรรมการเกษตร, มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 288 หน้า.
- จิราภรณ์ อินทสาร ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร และจักรพงษ์ ไชยวงศ์. 2556. การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์สามารถละลายฟอสเฟตได้ภายใต้การผลิตลำไยอินทรีย์ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน. รายงานผลการวิจัย. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 58 หน้า.
- ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 300 หน้า.
- ปิยะ ดวงพัตรา. 2553. สารปรับปรุงดิน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 256 หน้า.
- ปิลันธนา ฐานพงษ์วรกุล และ ศราวิชญ์ สายมงคล. 2558. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิบักร์ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข6. วารสารเกษตร 31(3): 301-310.
- แพรวดี. 2554. สมุนไพรไทยนพเก้า. สำนักพิมพ์ไพลิน, กรุงเทพฯ. 112 หน้า.
- ยงยุทธ โอสดสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มีโรจน์ และ ชวลิต สงประยูร. 2551. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 519 หน้า.

- รัตติยา มากทรัพย์ และ ศศิวิมล วิชัยรัมย์. 2552. ฤทธิ์
ต้านอนุมูลอิสระของมะรุม. กรุงเทพฯ: คณะ
เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เรืองศรี อิศระ. 2554. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี
และฤทธิ์ทางเวชสำอางของสารสกัดจากใบและ
ฝักมะรุม. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 78 หน้า.
- ศิริพร เตชะเทพ. 2543. การเผดอชิงข้าวและการใช้
โดโลไมท์กับยิปซัมที่มีผลต่อผลผลิตของถั่ว
เหลือง. ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษ์ศาสตร์
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สุภาพร จันรุ่งเรือง เบญจมาสร ธิโสภา และ กรรณิการ์
สัจจาพันธ์. 2553. ผลของแบคทีเรียละลาย
ฟอสเฟต *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ Rs01 ต่อ
การเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2.
วิทยาสารกำแพงแสน ปีที่ 8 ฉบับที่ 1.
- สมพร ชุนห์ลือชานนท์. 2549. การผลิตปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพ
เพื่อเพิ่มธาตุอาหารพืช. สำนักงานกองทุนศึกษา
สนับสนุนงานวิจัย (สกว.). 152 หน้า.
- อภิชาติ ศรีสาธิต. 2553. คู่มือการเพาะปลูก แปลรูป และ
ผลิตภัณฑ์ มะรุม ครอบคลุมวงจร. กรุงเทพฯ. 112
หน้า.
- Ashara, P., H. Yasuyuki, O. Jumpem, G. Sayjai, S.O.
Manoon, S. Takuro, W. Toshihoro and O.
Mitsuru. 2007. Screening of phosphate-
solubilizing microorganisms in rhizosphere
and rhizoplane of adverse soil-adapting
plants in Southern Thailand. TROPICS,
Japan 16(1): 1-7.
- Atlas, R.M. 1993. Handbook of microbiological Media.
The United States of America. 1079 p.
- Collavino, M.M., P.A. Sansberro, L.A. Mroginski and
O.M. Aguilar. 2010. Comparison of in vitro
solubilization activity of diverse phosphate-
solubilizing bacteria native to acid soil and
their ability to promote *Phaseolus vulgaris*
growth. Biology and Fertility of Soils 46: 727-
738.
- Chen, G.C., Z.L. He, P.J. Stoffella, X.E. Yang, S. Yu
and D. Calvert. 2006. Use of dolomite
phosphate rock (DPR) fertilizers to reduce
phosphorus leaching from sandy soil.
Environmental Pollution: 139(1): 176-182.
- Chung, H.M., M. Park, M. Madhaiyan, S. Seshadri, J.
Song, H. Cho. and T. Sa. 2005. Isolation
and characterization of phosphate
solubilizing bacteria from the rhizosphere of
crop plants of Korea. Soil Biology and
Biochemistry 37: 1970-1974.
- FAO. 2008. FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin.
Rome, Italy: FAO. 220 p.
- Illmer, P. and F. Schinner. 1992 Solubilization of
inorganic phosphates by microorganisms
isolate from forest soil. Soil Biology and
Biochemistry 24: 389-395.
- Illmer P., A. Barbato and F. Schinner. 1995.
Solubilization of hardly-soluble $AlPO_4$ with P-
solubilizing microorganism. Soil Biology and
Biochemistry 27: 265-270.
- Kokou, K., T. Joet, M. Broin and A. Aidam. 2001.
Research on *Moringa oleifera* Lam.
cultivation in Togo. Cahiers Agricultures 2:
131-133.
- Kucey, R.M.N. 1983. Phosphate-solubilizing bacteria
and fungi in various cultivated and virgin
Alberta Soil. Canadian Journal of Soil
Science 63: 671-678.
- Nibha, G., S. Jyotasanmayee, P. Reena And K.
Dipika. 2007. Solubilization of tricalcium
phosphate and rock phosphate by
microbes isolated from chromite, iron and
manganese mines. Acta Botanica Croatica
66(2): 197-204.
- Richa, G. 2003. Rock Phosphate and Phosphate
solubilizing microbes as a source of

- nutrients for crop. Master dissertation. Thapar University. 51 p.
- Oliveira, C.A., V.M.C. Alves, I.E. Marriel, E.A. Gomes, M.R. Scotti, N.P. Carneiro, C.T. Guimarães, R.E. Schaffert and N.M.H. Sà. 2009. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 1782-1787.
- Srivastava, S., M.T. Kausalya, G. Archana, O.P. Rupela and G. Naresh-Kumar. 2003. Efficacy of organic acid secreting bacteria in solubilization of rock phosphate in acidic alfisols. In *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*, 16-19 July, 2002, E. Velázquez and C. Rodríguez-Barrueco, Eds., pp. 117-124.
- Walkley, A. and I.A. Black, 1947. Chromic acid Titration Method for Determination of Soil Organic Matter. *Soil Science Society of America Journal* 63: 257.
- Watanabe, F.S. and S.R. Olsen. 1962. Calorimetric Determination of Phosphorus in Water Extracts of Soil. *Soil Science* 93: 183-188.
- Wayne E.S. 1980. *Handbook on Reference Methods for Soil Testing*. Council on soil testing and plant Analysis Ed. Athens: University of Georgia. 130 p.
-

ผลของการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์ ต่อลักษณะการเจริญเติบโต คุณภาพซากและเนื้อของนกกระทาญี่ปุ่น

Effect of Replacement of Soybean Meal with Giant Mimosa on Growth, Carcass and Meat Quality of Japanese Quails

กฤตภาค บุรณวิทย์^{1*} และ มนตรี ปัญญาทอง^{2/}
Krittaphak Buranawit^{1*} and Montri Punyatong^{2/}

^{1/}สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

^{1/}Division of Animal Science, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao 56000, Thailand

^{2/}ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{2/}Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: krittaphak.bu@gmail.com

(Received: 28 March 2016; Accepted: 21 June 2016)

Abstract: This study aimed to investigate the effect of supplementing different levels of giant mimosa replaced soybean meal on some growth, carcass and meat quality traits of Japanese quails. The experiment was carried on one hundred and sixty 21-day old male birds which randomly divided into 4 treatment groups fed with different experimental diets: control group (T1) and the diet replacing soybean meal with 2, 4 or 6% of giant mimosa (T2, T3 and T4, respectively). There were 4 replicates of each treatment (10 birds per replicate). The results showed that the growth performance of T2, T3 and T4 were not statistically significantly different compared with control group ($p>0.05$). The T1 group had the significant highest values of live weight ($p<0.05$), whereas, the T3 group tended to have more carcass yield than the others. The meat of T2 showed the maximum L^* , while the highest a^* and b^* were found in T3 meat ($p<0.05$). Considering water holding capacity, the minimum drip or thawing losses was found in T3 and T4, respectively ($p<0.05$). The present results indicated that replacement of soybean meal with 4% giant mimosa tended to improve carcass characteristics and meat quality without adverse effects on growth performance in Japanese quails.

Keywords: Japanese quails, giant mimosa, growth, carcass, meat quality

บทคัดย่อ: การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ไมยราบยักษ์ที่ระดับต่างกันเพื่อทดแทนกากถั่วเหลืองต่อลักษณะการเจริญเติบโต ชากและคุณภาพเนื้อบางประการของนกกะทากญี่ปุ่น โดยใช้นกกะทากญี่ปุ่น เพศผู้ อายุ 21 วัน จำนวน 160 ตัว ทำการสุมนกกะทากญี่ปุ่นออกเป็น 4 กลุ่ม ให้ได้รับอาหารทดลองที่แตกต่างกัน ได้แก่ กลุ่มควบคุม (T1) กลุ่มที่ได้รับการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ (T2, T3 และ T4 ตามลำดับ) โดยทำการทดลองกลุ่มละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว ผลการทดลองพบว่า นกกะทากญี่ปุ่นกลุ่ม T2, T3 และ T4 มีสมรรถภาพการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมในทางสถิติ ($p>0.05$) น้ำหนักมีชีวิตรก่อนฆ่าของนกกะทากญี่ปุ่นกลุ่ม T1 มีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่นกกะทากญี่ปุ่นกลุ่ม T3 แสดงแนวโน้มที่จะมีเปอร์เซ็นต์ชากสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ เนื้อของนกกะทากญี่ปุ่นกลุ่ม T2 มีค่า L^* มากที่สุด ขณะที่เนื้อของนกกะทากญี่ปุ่นกลุ่ม T3 มีค่า a^* และ b^* มากที่สุด ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อพบว่า เนื้อของนกกะทากญี่ปุ่นกลุ่ม T3 และ T4 มีค่าการสูญเสียน้ำหนักขณะเก็บ และค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการละลายต่ำที่สุดตามลำดับ ($p<0.05$) ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มที่จะช่วยทำให้ลักษณะชากและคุณภาพเนื้อดีที่สุด โดยไม่ส่งเสียต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของนกกะทากญี่ปุ่น

คำสำคัญ: นกกะทากญี่ปุ่น ไมยราบยักษ์ การเจริญเติบโต ชาก คุณภาพเนื้อ

คำนำ

ค่าวัตถุดิบอาหารสัตว์จัดเป็นต้นทุนหลักที่สำคัญในการผลิตสัตว์ ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน วัตถุดิบอาหารสัตว์มีราคาสูงขึ้น และมีแนวโน้มที่จะสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะราคาของกากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ด้วยเหตุนี้อาจส่งผลให้เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ได้รับกำไรลดลง จึงทำให้มีการศึกษาที่ทำการทดลองเพื่อหาวัตถุดิบชนิดอื่นที่ราคาถูกลงมาใช้ทดแทนกากถั่วเหลือง (บุญล้อม และสุชน, 2538; สุชน และคณะ, 2544; ปิ่น และอัจฉรา, 2557) เช่นเดียวกับการเลี้ยงนกกะทากญี่ปุ่น ซึ่งส่วนใหญ่เกษตรกรผู้เลี้ยงนกกะทากมักเป็นเกษตรกรรายย่อย ด้วยเหตุนี้ต้นทุนด้านอาหารที่ใช้เลี้ยงนกกะทากจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อผลกำไรที่จะเกิดขึ้น ดังนั้นการหาวัตถุดิบอื่นมาทดแทนการใช้กากถั่วเหลืองในอาหารจึงอาจจะช่วยลดต้นทุนค่าอาหารนกกะทากได้เช่นกัน (Chantiratikul *et al.*, 2010; Sarıççek *et al.*, 2005) โดยที่พืชชนิดหนึ่งที่ได้รับความสะดวกคือ ไมยราบยักษ์ ซึ่งจัดเป็นวัชพืชชนิดหนึ่งที่อยู่ในตระกูลเดียวกับกระถิน มีปริมาณโปรตีนอยู่ในระดับสูงเช่นเดียวกับกระถิน (Miller, 2002) แต่ไม่มีสารพิษมิโมซีน (mimosine) ที่ส่งผลเสียต่อ

การย่อยอาหารของสัตว์ (เทอดชัย และคณะ, 2524) แม้ว่าระดับของโปรตีนจะต่ำกว่ากากถั่วเหลือง แต่เพื่อเป็นการนำวัชพืชที่มีอยู่ในพื้นที่มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และเพื่อลดต้นทุนค่าอาหารจึงมีการศึกษาการนำมาไมยราบยักษ์มาผสมลงในอาหารสัตว์ (เทอดชัย และคณะ, 2524; วุฒิพันธุ์ และคณะ, 2554; Nakkitsat *et al.*, 2008) จากการศึกษาการใช้ไมยราบยักษ์ผสมลงในอาหารนกกะทากพบว่า การใช้ไมยราบยักษ์ที่ระดับ 3 และ 6% ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตของนกกะทาก (นิรินทร์ และคณะ, 2522) ขณะที่การใช้ไมยราบยักษ์ที่ระดับ 10% มีความเหมาะสมสำหรับนกกะทากมากที่สุด (เพิ่มศักดิ์, 2528) อย่างไรก็ตามการศึกษการใช้ไมยราบยักษ์ผสมในอาหารนกกะทากญี่ปุ่นยังมีอยู่น้อยมาก และผลการศึกษาที่ได้ไม่สอดคล้องกัน ทำให้ไม่สามารถสรุปผลได้อย่างชัดเจน จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำไมยราบยักษ์มาใช้ในอาหารนกกะทาก รวมถึงระดับการใช้ที่เหมาะสม เพื่อการนำไปประยุกต์ใช้ในอนาคตต่อไป ดังนั้นการศึกษานี้ครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ไมยราบยักษ์ทดแทนกากถั่วเหลืองในระดับที่แตกต่างกัน โดยพิจารณาลักษณะการเจริญเติบโต ชากและคุณภาพเนื้อของนกกะทากญี่ปุ่น

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลองและการจัดการ

การศึกษานี้ใช้นกกกระทุงญี่ปุ่น เพศผู้ อายุ 21 วัน และมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยใกล้เคียงกัน (น้ำหนักเฉลี่ย 59.09 ± 0.21 กรัม) จำนวน 160 ตัว โดยทำการแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง ทำการทดลองซ้ำกลุ่มละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว ทำการเลี้ยงบนกรงตบขนาด $10 \times 60 \times 40$ เซนติเมตร จำนวน 16 กรง ในโรงเรือนแบบเปิด อุณหภูมิภายในโรงเรือนแปรผันตามอุณหภูมิภายนอกโรงเรือน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.2°C โดยมีการจัดการตามมาตรฐานฟาร์มของกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ นกกกระทุงญี่ปุ่นทุกกลุ่มได้รับอาหารพื้นฐานที่มีข้าวโพดและรำละเอียดเป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีระดับโปรตีน และพลังงานในอาหารตามความต้องการของนกกกระทุงญี่ปุ่น (NRC, 1994) และมีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา

การเตรียม และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไมยราบยักษ์แห้งป่น

นำไมยราบยักษ์สดมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบที่ตู้อบ (Beschickung-Loading Modell 100-800, Memmert) ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการบดละเอียดไมยราบยักษ์อบแห้งด้วยเครื่องบดอาหารเพื่อเตรียมนำไปผสมในสูตรอาหารทดลองต่อไป และทำการสุ่มตัวอย่างไมยราบยักษ์แห้งป่นเพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีตามวิธีการของ AOAC (2011) ผลการวิเคราะห์พบว่า ไมยราบยักษ์แห้งป่นประกอบไปด้วยวัตถุแห้ง (dry matter) 99.86% โปรตีน (crude protein) 21.85% เยื่อใย (crude fiber) 24.90% ไขมัน (ether extract) 6.46% เถ้า (ash) 6.93% และคาร์โบไฮเดรต (nitrogen-free extract) 39.72%

กลุ่มการทดลอง และลักษณะที่ทำการศึกษา

ทำการสุมนกกกระทุงญี่ปุ่นให้ได้รับอาหารทดลองที่แตกต่างกัน 4 สูตร คือ กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติหรือกลุ่มควบคุม (T1) กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ (T2, T3 และ T4 ตามลำดับ) (ตารางที่ 1) โดยมี

โปรตีนรวมในอาหารเท่ากับ 21.67, 21.22, 20.78 และ 20.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีพลังงานไม่น้อยกว่า 2,900 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัมอาหาร ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 28 วัน โดยทำการบันทึกน้ำหนักตัวนกกกระทุงญี่ปุ่น และปริมาณอาหารที่กินทุก 7 วัน ตลอดระยะเวลาการทดลอง เพื่อนำไปคำนวณหาน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (body weight gain, BWG) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG) ปริมาณอาหารที่กิน (feed intake, FI) อัตราการแลกน้ำหนัก (feed conversion ratio, FCR) และต้นทุนค่าอาหารต่อตัว (feed cost per head, FCH) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการสุมนกกกระทุงญี่ปุ่นจากแต่ละกลุ่มการทดลองกลุ่มละ 20 ตัว (ซ้ำละ 5 ตัว) ทำการอดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการชำและชำแหละซากตามวิธีการของ Genchev and Mihaylov (2008) เพื่อทำการประเมินลักษณะซาก ได้แก่ น้ำหนักมีชีวิตก่อนชำ (body live weight, BLW) น้ำหนักซาก (carcass weight, CW) และเปอร์เซ็นต์ซาก (carcass yield, CY) และลักษณะคุณภาพเนื้อหน้าอก ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างของเนื้อ (pH) (Five Easy Plus, Mettler-Toledo, Switzerland) สีของเนื้อ (meat color: L*, a* and b*) (Color Quest XE, Hunter Lab, USA) โดยทำการวัดภายใน 45 นาทีหลังการชำ และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ซึ่งพิจารณาจากค่าการสูญเสียน้ำขณะเก็บ (drip loss, DL) และค่าการสูญเสียน้ำหลังจากการละลาย (thawing loss, TL) ตามวิธีการของสัจชัย (2555)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสุ่มบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จากนั้นทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยวิธีการทดสอบแบบพหุเชิงพหุของดันแคน (Duncan's new multiple range test, DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป R (R Core Team, 2015)

Table 1 Ingredients of experimental diets

Ingredient (% , as-fed basis)	Experimental diet ¹			
	T1	T2	T3	T4
Corn	29.00	29.00	29.00	29.00
Rice bran	28.47	28.47	28.47	28.47
Soybean meal	25.00	23.00	21.00	19.00
Fish meal	10.00	10.00	10.00	10.00
Giant mimosa	0.00	2.00	4.00	6.00
Animal Fat	5.00	5.00	5.00	5.00
Dicalcium phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin-mineral premix ²	1.00	1.00	1.00	1.00
D-Methionine	0.28	0.28	0.28	0.28
L-Lysine	0.20	0.20	0.20	0.20
Sodium chloride	0.05	0.05	0.05	0.05

¹ T1 = basal diet (control); T2, T3, T4 = diet replacing soybean meal with different levels of giant mimosa (2, 4 and 6%, respectively)

² Provided per kg of diet: 36,000 IU vitamin A; 7,200 IU vitamin D3; 10.8 mg vitamin E; 3.6 mg vitamin K3; 0.36 mg vitamin B1; 7.65 mg vitamin B2; 63 mg nicotinic acid; 10 mg calcium pantothenate; 0.09 mg vitamin B6; 1,250 mg choline chloride; 10 mg Fe; 20 mg Mn; 20 mg Zn

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะการเจริญเติบโต

ผลของการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห่งป่นต่อการเจริญเติบโตของนกกระทาญี่ปุ่นแสดงดังตารางที่ 2 ผลการศึกษาพบว่า นกกระทาญี่ปุ่นที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห่งป่นที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มที่จะมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดสอบต่ำที่สุด ($p = 0.0900$) แต่เมื่อพิจารณาน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันพบว่า ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มอื่น ๆ ในทางสถิติ ($p>0.05$) เนื่องจากนกกระทาญี่ปุ่นที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีน้ำหนักตัวเมื่อเริ่มต้นการทดสอบค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับนกกระทาญี่ปุ่นในการศึกษาอื่น ๆ ที่อายุเดียวกัน (3 สัปดาห์) (Adeogun and Adeoye, 2004; Ozbey and Ozcelik, 2004; Sartowska *et al.*, 2015) จึงส่งผลทำให้น้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดสอบมีค่าต่ำ คือ 145.31 กรัม โดยมีค่าอยู่ในช่วง 138.50 ถึง 151.25 กรัม เนื่องจากน้ำหนักตัว

ของนกกระทาญี่ปุ่นในแต่ละสัปดาห์มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันในระดับปานกลางถึงสูง (Adeogun and Adeoye, 2004) ขณะที่ปริมาณอาหารที่กินของนกกระทาญี่ปุ่นในแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของเพมศักดิ์ (2528) ที่ทำการศึกษาการผสมไมยราบยักษ์ที่ระดับ 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารนกกระทา โดยพบว่านกกระทาในกลุ่มที่มีการใช้ไมยราบยักษ์ที่ระดับสูงขึ้นมีแนวโน้มที่จะกินอาหารเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อพิจารณาปริมาณอาหารที่กินของนกกระทากลุ่มที่ใช้ไมยราบยักษ์ 5 เปอร์เซ็นต์ (ใกล้เคียงกับระดับที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้) พบว่า มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (512.84 และ 495.15 กรัม ตามลำดับ) เมื่อพิจารณาอัตราการแลกน้ำหนักพบว่า นกกระทาญี่ปุ่นกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห่งป่นที่ระดับ 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการแลกน้ำหนักไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมในทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีค่าต่ำกว่าการศึกษาของเพมศักดิ์ (2528) ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 4.43 ถึง 5.60

Table 2 Growth performance of Japanese quails fed different experimental diets in the period from 22 to 49 days of age

Trait	Treatment [†]				SEM	p-value
	T1	T2	T3	T4		
Initial body weight (g)	59.35	58.80	59.12	59.18	0.250	0.9287
Final body weight (g)	149.75	138.50	149.75	151.25	2.164	0.0900
Body weight gain (g)	90.45	79.70	82.68	92.08	2.428	0.2118
Average daily gain (g/d)	3.23	2.85	2.96	3.29	0.087	0.2116
Feed intake (g)	505.14	497.10	499.09	494.87	10.597	0.9908
Feed conversion ratio	5.56	6.18	6.01	5.35	0.172	0.3076
Feed cost per head (baht)	2.08	2.01	1.98	1.92	0.046	0.6779

[†] T1 = basal diet (control); T2, T3, T4 = diet replacing soybean meal with different levels of giant mimosa (2, 4 and 6%, respectively)

อย่างไรก็ตามสมรรถภาพการผลิตของนกกกระทาญี่ปุ่นในการศึกษาครั้งนี้มีค่าต่ำกว่าหลายการศึกษา (Soares *et al.*, 2003; Elangovan *et al.*, 2004; Rabie and El-Maaty, 2015) ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งปน โดยไม่ได้ทำการปรับระดับของโปรตีนในอาหารแต่ละสูตรให้มีค่าเท่ากัน (มีการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์จำเป็นลงในอาหารนกกกระทาเพื่อป้องกันการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็น) ส่งผลให้ระดับโปรตีนรวมในอาหารมีค่าลดลง ขณะที่ปริมาณเยื่อใยในอาหารมีค่าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งส่งผลทำให้การย่อยได้ของอาหาร และการย่อยได้ของโปรตีนมีแนวโน้มต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมา รวมถึงปัจจัยอื่นๆ ที่ส่งผลทำให้สมรรถภาพของนกกกระทาญี่ปุ่นมีความแตกต่างกัน เช่น การเสริมสารเสริม หรือสมุนไพรต่าง ๆ ลงในอาหาร (วิศิษฐ์ และคณะ, 2551; Denli *et al.*, 2004; Elangovan *et al.*, 2004) ระดับพลังงานในอาหาร (Elangovan *et al.*, 2004) สภาพแวดล้อมในการเลี้ยง (Ozbey and Ozcelik, 2004) รวมถึงพื้นหลังทางพันธุกรรม (genetic background) ของนกกกระทาญี่ปุ่น (Alkan *et al.*, 2010; Jatoi *et al.*, 2015; Ozbey and Ozcelik, 2004) เป็นต้น

เมื่อพิจารณาด้านต้นทุนค่าอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง นกกกระทาพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละกลุ่มการทดลอง ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตามการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งปนสามารถลดต้นทุนได้

ประมาณ 0.07 ถึง 0.16 บาทต่อกิโลกรัมอาหาร จากการศึกษาในครั้งนี้ใช้นกกกระทาญี่ปุ่น 40 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง ซึ่งนกกกระทาญี่ปุ่นกินอาหารเฉลี่ย 12.48 กรัมต่อตัวต่อวัน และใช้เวลาในการเลี้ยง 28 วัน สามารถลดต้นทุนค่าอาหารได้ประมาณ 0.97 ถึง 2.24 บาท ดังนั้นหากมีการเลี้ยงกระทาเป็นจำนวนมาก จะสามารถลดต้นทุนค่าอาหารได้เพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย

ลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ

ลักษณะซากและคุณภาพเนื้อของนกกกระทาญี่ปุ่นที่ได้รับอาหารทดลองที่แตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 3 น้ำหนักมีชีวิตก่อนฆ่าของนกกกระทาญี่ปุ่นกลุ่มควบคุมมีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รองลงมาคือ นกกกระทาญี่ปุ่นในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งปนที่ระดับ 4, 6 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับน้ำหนักซากของนกกกระทา เนื่องจากน้ำหนักซากของนกกกระทาจะแปรผันไปตามน้ำหนักมีชีวิตก่อนฆ่า (Alkan *et al.*, 2010) แม้ว่านกกกระทาในกลุ่มควบคุมจะแสดงแนวโน้มของน้ำหนักซากที่มากกว่านกกกระทาในกลุ่มอื่น ๆ แต่เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ซากพบว่า นกกกระทากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งปนที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มที่จะมีเปอร์เซ็นต์ซากสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับที่มีการรายงานว่า เปอร์เซ็นต์ซากของนกกกระทาไม่ได้แปรผันไปตามน้ำหนักมีชีวิตก่อนฆ่า

(Alkan *et al.*, 2010; Denli *et al.*, 2004; Narinc *et al.*, 2014) โดยที่เปอร์เซ็นต์ซากของนกกระทาญี่ปุ่นในการศึกษาครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับนกกระทาที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยใช้น้ำป่น (Wolffia meal) ที่ระดับ 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ (Chantiratikul *et al.*, 2010) และนกกระทาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมไขมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรในปริมาณ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (Denli *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ซากในการศึกษาครั้งนี้มีค่าสูงกว่าบางการศึกษา (Alkan *et al.*, 2010; Ozbey and Ozelik, 2004; Sariççek *et al.*, 2005)

ตารางที่ 4 แสดงลักษณะคุณภาพซากของนกกระทาญี่ปุ่นเมื่อได้รับอาหารทดลองที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่า ค่า pH ของเนื้อของนกกระทาญี่ปุ่นในแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่เนื้อของนกกระทาญี่ปุ่นกลุ่มควบคุมมีค่า pH

ต่ำที่สุด และเนื้อของนกกระทาญี่ปุ่นที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า pH สูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Narinc *et al.* (2013) ที่รายงานว่า ค่า pH ของเนื้อ และน้ำหนักตัวของนกกระทามีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงข้ามกันทั้งด้านพันธุกรรม ($r_g = -0.28$) และลักษณะปรากฏ ($r_p = -0.26$) อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับที่เคยมีการรายงานไว้ (pH = 6.17, Genchev *et al.*, 2008; pH = 5.88 ถึง 6.00, Genchev *et al.*, 2010; pH = 5.94, Narinc *et al.*, 2013) และมีค่าใกล้เคียงกับค่า pH ปกติของเนื้อสัตว์ปีก ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 6.02 ถึง 6.41 ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการเกิดภาวะเกร็งตัวหลังตาย (rigor mortis) ของสัตว์ ส่งผลทำให้ค่า pH ลดลงจากสภาพความเป็นกลาง และมีค่าอยู่ในช่วงดังกล่าว (สัญชัย, 2555; Genchev *et al.*, 2010) ค่า pH ของเนื้อนกกระทายังแสดงให้เห็นแนวโน้มความสัมพันธ์กับค่าความสว่าง

Table 3 Carcass characteristics of Japanese quails fed different experimental diets

Trait	Treatment [†]				SEM	p-value
	T1	T2	T3	T4		
Live weight (g)	155.67 ^a	103.62 ^d	147.40 ^b	140.95 ^c	5.216	<0.0001
Carcass weight (g)	126.08 ^a	78.34 ^c	119.44 ^{ab}	112.26 ^b	4.864	<0.0001
Carcass yield (%)	80.99 ^a	75.60 ^b	81.02 ^a	79.62 ^a	0.769	0.0185

^{a, b, c, d} Different superscripts within each row are significantly different ($p < 0.05$)

[†] T1 = basal diet (control); T2, T3, T4 = diet replacing soybean meal with different levels of giant mimosa (2, 4 and 6%, respectively)

Table 4 Meat quality traits of Japanese quails fed different experimental diets

Trait	Treatment [†]				SEM	p-value
	T1	T2	T3	T4		
pH	5.95 ^d	6.70 ^a	6.30 ^b	6.04 ^c	0.075	<0.0001
Meat color						
L*	37.97 ^c	42.48 ^a	39.07 ^{bc}	40.09 ^b	0.500	0.0010
a*	7.09 ^b	4.05 ^c	9.20 ^a	7.30 ^b	0.505	<0.0001
b*	7.69 ^b	7.34 ^b	9.52 ^a	8.10 ^b	0.258	0.0021
Water holding capacity (%)						
Drip loss	6.91 ^b	7.08 ^a	5.03 ^d	5.45 ^c	0.231	<0.0001
Thawing loss	2.45 ^b	5.79 ^a	2.38 ^b	0.90 ^c	0.464	<0.0001

^{a, b, c, d} Different superscripts within each row are significantly different ($p < 0.05$)

[†] T1 = basal diet (control); T2, T3, T4 = diet replacing soybean meal with different levels of giant mimosa (2, 4 and 6%, respectively)

ของเนื้อ โดยที่เนื้อที่มีค่า pH ต่ำมีแนวโน้มที่ความสว่างของเนื้อจะมีค่าต่ำเช่นกัน (Genchev *et al.*, 2010)

เนื้อนกกกระทุงญี่ปุ่นในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า L^* สูงที่สุด ($p < 0.05$) ซึ่งค่า L^* ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้มีค่าต่ำกว่าที่เคยมีการรายงานไว้ (Genchev *et al.*, 2010; Narinc *et al.*, 2013) ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากนกกกระทุงญี่ปุ่นที่ใช้ในการศึกษานี้ถูกฆ่าที่อายุน้อยกว่าการศึกษาข้างต้น โดยที่ Genchev *et al.* (2010) รายงานว่า ความสว่างของเนื้อจะมีแนวโน้มที่จะมีค่าแปรผกผันกับอายุของนกกกระทุงที่ถูกฆ่า นอกจากนี้ค่าความสว่างของเนื้อยังมีความสัมพันธ์กับค่า pH ของเนื้ออีกด้วย โดยเนื้อของนกกกระทุงกลุ่มที่มีค่า pH ต่ำ (T_1) มีแนวโน้มที่จะมีค่าความสว่างของเนื้อต่ำกว่าเนื้อที่มีค่า pH สูง (T_2) เช่นเดียวกับการศึกษาในไก่เนื้อที่พบว่า ความสว่างของเนื้อจะแปรผกผันกับค่า pH ของเนื้อ (Fletcher, 1999) ขณะที่ ค่า a^* และ b^* ของเนื้อนกกกระทุงญี่ปุ่นในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ($p < 0.05$) และมีค่าใกล้เคียงกับเนื้อของนกกกระทุงญี่ปุ่นพันธุ์ Pharaon ($a^* = 10.16$ และ $b^* = 9.55$, Genchev *et al.*, 2008) และพันธุ์ Manchurian Golden ($a^* = 9.26$ ถึง 11.83 และ $b^* = 10.61$ ถึง 11.18 , Genchev *et al.*, 2010)

เมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการอุ้มน้ำพบว่า เนื้อของนกกกระทุงกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น ๆ ($p < 0.05$) ขณะที่เนื้อของนกกกระทุงกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการสูญเสีย น้ำขณะเก็บต่ำที่สุด และเนื้อของนกกกระทุงกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการสูญเสีย น้ำหลังจากการละลายต่ำที่สุด ($p < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 5.03 และ 0.90 ตามลำดับ ทั้งนี้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อในแต่ละการศึกษาอาจมีค่าแตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลเนื่องจากอายุของสัตว์ที่ถูกฆ่า โดยที่ค่าการ

สูญเสีย น้ำขณะเก็บมีแนวโน้มลดลง เมื่อสัตว์มีอายุเพิ่มขึ้น (Genchev *et al.*, 2010) รวมถึงค่า pH และค่าความสว่างของเนื้อ โดยที่เนื้อที่มีค่า pH สูง และมีค่าความสว่างต่ำ จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงขึ้น (Van Laack *et al.*, 2000) ซึ่งแตกต่างจากผลของการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาลักษณะคุณภาพเนื้อในครั้งนี้มีจำนวนน้อยเกินไป ทำให้ได้ข้อสรุปที่ไม่สอดคล้องกับที่เคยมีการรายงานไว้ (สัณชัย, 2555; Van Laack *et al.*, 2000; Genchev *et al.*, 2010)

สรุป

สมรรถภาพการเจริญเติบโตของนกกกระทุงที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมในทางสถิติ โดยที่การทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มที่จะทำให้เปอร์เซ็นต์ซาก และคุณภาพเนื้อดีที่สุด ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยไมยราบยักษ์แห้งป่นสามารถลดต้นทุนค่าอาหารได้ โดยที่ไม่ส่งผลเสียต่อลักษณะการเจริญเติบโตของนกกกระทุงญี่ปุ่นในช่วงอายุ 22 ถึง 49 วัน และระดับการทดแทนที่เหมาะสมคือ 4 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมสำหรับนกกกระทุงญี่ปุ่นในช่วงแรกเกิดจนถึงอายุ 21 วัน เพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนิสิตปริญญาตรี และนักวิทยาศาสตร์ของคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา สำหรับการเก็บข้อมูล และการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ตลอดจนบุคคลที่เกี่ยวข้องที่ทำให้การศึกษานี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- เทอดชัย เวียรศิลป์ บุญลือ เผือกผ่อง และ สิ้นชัย เรืองไพบูลย์. 2524. การใช้ไมยราบยักษ์แทนใบกระถินในอาหารสุกร. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 19. 3-5 กุมภาพันธ์ 2524. 21. (บทคัดย่อ)
- นรินทร์ ทองวิทยา สุภากร อสิริโยดม จิระพันธุ์ เมนะคงคา และ วาด วานิช. 2522. ผลของการใช้ไมยราบยักษ์ในอาหารนกกระทาไข่. การประชุมทางวิชาการเกษตรศาสตร์และชีววิทยาแห่งชาติ ครั้งที่ 17. 2-7 กุมภาพันธ์ 2522. 519-524.
- บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และ สุชน ตั้งทวีพัฒน์. 2538. การใช้กากงาทดแทนกากถั่วเหลืองในอาหารไก่ไข่. วารสารเกษตร. 11(1): 18-26.
- ปิ่น จันจุฬา และ อัจฉรา เฟื่องฟู. 2557. การทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ในอาหารชั้นต่อการย่อยได้ และความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะรูเมนของแพะ. วารสารเกษตร 30(2): 181-190.
- เพิ่มศักดิ์ ศิริวรรณ. 2528. ผลของการใช้ไมยราบยักษ์ระดับสูงในอาหารนกกระทาญี่ปุ่น. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 23. 5-7 กุมภาพันธ์ 2528. 1-15.
- วิศิษฐ์ เกตุปัญญาพงศ์ อับดุลรอฮิม เปาะอีเต และ ฮานียะ เปาะเยาะ. 2551. การเจริญเติบโตและคุณภาพซากของนกกระทาญี่ปุ่นที่กินอาหารเสริมกากกระเจียบแดง. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. 3(2): 97-105.
- วุฒิพันธุ์ เนตรวิชัย อานูภาพ เล็งสาย และ สุรนนท์ น้อยอุทัย. 2554. การใช้ไมยราบยักษ์แห้งเป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงแพะพันธุ์ลูกผสมพื้นเมือง. หน้า 137-148. ใน: กมลวิมลศิริ (บก.). รายงานผลงานวิจัยกองอาหารสัตว์ ประจำปี พ.ศ. 2554. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- สัณชัย จตุรสิทธิ์. 2555. เทคโนโลยีเนื้อสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 4. มิ่งเมือง, เชียงใหม่. 367 หน้า.
- สุชน ตั้งทวีพัฒน์ รุ่งรัตน์ ปิงเมือง และ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2544. การใช้กากทานตะวันทดแทนกากถั่วเหลืองในอาหารไก่เนื้อ. วารสารเกษตร 17(3): 230-240.
- Adeogun, I.O. and A.A. Adeoye. 2004. Heritabilities and phenotypic correlations of growth performance traits in Japanese quails. Livestock Research for Rural Development 16: 103. (Online). Available: <http://www.lrrd.org/lrrd16/12/adeo16103.htm> (September 20, 2014).
- Alkan, S., K. Karabag, A. Galic, T. Karsli and M.S. Balcioglu. 2010. Determination of body weight and some carcass traits in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) of different lines. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 16(2): 277-280.
- AOAC. 2011. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg.
- Chantiratikul, A., P. Chantiratikul, A. Sangdee, U. Maneechote, C. Bunchasak and O. chinrasri. 2010. Performance and carcass characteristics of Japanese quails fed diets containing Wolffia meal [*Wolffia globosa* (L.) Wimm.] as a protein replacement for soybean meal. International Journal of Poultry Science 9(6): 562-566.
- Denli, M., F. Okan and A.N. Uluocak. 2004. Effect of dietary supplementation of herb essential oils on the growth performance, carcass and intestinal characteristics of quail (*Coturnix coturnix japonica*). South African Journal of Animal Science 34(3): 174-179.
- Elangovan, A.V., A.B. Mandal, P.K. Tyagi, P.K. Tyagi, S. Toppo and T.S. Johri. 2004. Effects of enzymes in diets with varying energy levels on growth and egg production performance

- of Japanese quail. Journal of the Science of Food and Agriculture 84: 2028-2034.
- Fletcher, D.L. 1999. Broiler breast meat color variation, pH, and texture. Poultry Science 78: 1323-1327.
- Genchev, A. and R. Mihaylov. 2008. Slaughter analysis protocol in experiments using Japanese quails (*Coturnix japonica*). Trakia Journal of Sciences 6(4): 66-71.
- Genchev, A., G. Mihaylova, S. Ribarski, A. Pavlov and M. Kabakchiev. 2008. Meat quality and composition in Japanese quails. Trakia Journal of Sciences 6(4): 72-82.
- Genchev, A., S. Ribarski and G. Zhelyazkov. 2010. Physicochemical and technological properties of Japanese quail meat. Trakia Journal of Sciences 8(4): 86-94.
- Jatoi, A.S., S. Mehmood, J. Hussain, H.M. Ishaq, Y. Abbas and M. Akram. 2015. Comparison of six-week growth performance in four different strains of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Sarhad Journal of Agriculture 31(1): 59-64.
- Miller, I.L. 2002. Uses for *Mimosa pigra*. Research and Management of *Mimosa pigra*, the 3rd International Symposium on the Management of *Mimosa pigra*. Darwin, Australia. 22-25 September 2002. 63-67.
- Nakkitset, S., C. Mikled and I. Ledin. 2008. Effect of feeding head lettuce, water spinach, ruzi grass or *Mimosa pigra* on feed intake, digestibility and growth in rabbits. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 21(8): 1171-1177.
- Narinc, D., E. Karaman and T. Aksoy. 2014. Effects of slaughter age and mass selection on slaughter and carcass characteristics in 2 lines of Japanese quail. Poultry Science 93: 762-769.
- Narinc, D., T. Aksoy, E. Karaman, A. Aygun, M.Z. Firat and M.K. Uslu. 2013. Japanese quail meat quality: Characteristics, heritabilities, and genetic correlations with some slaughter traits. Poultry Science 92: 1735-1744.
- NRC. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th revised ed. National Academy Press, Washington D.C. 155 p.
- Ozbey, O. and M. Ozcelik. 2004. The effect of high environmental temperature on growth performance of Japanese quails with different body weights. International Journal of Poultry Science 3(7): 468-470.
- R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (Online). Available: <http://www.R-project.org/> (August 14, 2015).
- Rabie M.H. and H.M.A. El-Maaty. 2015. Growth performance of Japanese quail as affected by dietary protein level and enzyme supplementation. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 10(2): 74-85.
- Sarıççek, B.Z., U. Kılıç and A.V. Garipoğlu. 2005. Replacing soybean meal (SBM) by canola meal (CM): The effects of multi-enzyme and phytase supplementation on the performance of growing and laying quails. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 18(10): 1457-1463.
- Sartowska, K.E., A. Korwin-Kossakowska and G. Sender. 2015. Genetically modified crops in a 10-generation feeding trial on Japanese quails-Evaluation of its influence on birds'

-
- performance and body composition. Poultry Science 94: 2909-2916.
- Soares, R., J.B. Fonseca, A.S. Santos and M.B. Mercandante. 2003. Protein requirement of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during rearing and laying periods. Revista Brasileira de Ciência Avícola 5(2): 153-156.
- Van Laack, R.L.J.M., C.-H. Liu, M.O. Smith and H.D. Loveday. 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. Poultry Science 79: 1057-1061.
-

ต้นทุนและผลตอบแทนการผลิตโคเนื้อของเกษตรกร ในอำเภอบัวโบสถ์ และอำเภอฟาร์มโพธิ์ จังหวัดพิษณุโลก

Beef Production Cost and Returns of Farmers in Wat Bot and Phrom Phiram District, Phitsanulok Province

สุภาวดี แหยมคง^{1/*}
Suphawadee Yaemkong^{1/*}

^{1/}สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000

^{1/}Department of Animal Science, Faculty of Food and Agriculture Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000

**Corresponding author: Email: suphayaku@hotmail.com*

(Received: 7 September 2015; Accepted: 29 April 2016)

Abstract: The objective of this study was to estimate production cost and return from raising cows to produce calves and fattening cattle of small scale farmers in Wat Bot and Phrom Phiram district, Phitsanulok province from 115 farms. The purposive sample used in this study. Total cost and income of fattening cattle and raising cows to produce calves was statistical analyzed. Results showed that total cost and income for fattening cattle and raising cows to produce calves were 36,082.86 $\pm$ 20,514.87 and 18,898.45 $\pm$ 10,152.28, and 50,725.00 $\pm$ 35,871.35 and 28,440.23 $\pm$ 11,241.10 baht per head, respectively. So that net return for fattening cattle and raising cows to produce calves were 14,642.14 $\pm$ 5,814.98 and 9,541.78 $\pm$ 2,548.59 baht per head. However, considering only net cash return for fattening cattle and raising cows to produce calves were 19,207.81 $\pm$ 7,243.85 and 15,266.71 $\pm$ 9,412.54 baht per head, respectively.

Keywords: Profit, fattening cattle, cost

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อประมาณต้นทุนการผลิตและผลตอบแทนการผลิตโคเนื้อในการเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูกและโคขุน จากเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อในอำเภอวัดโบสถ์ และอำเภอยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 115 ครัวเรือน จากการเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจง ข้อมูลต้นทุนรวม และราคาจำหน่ายโคขุนและเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูก ถูกนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ผลการศึกษาพบว่า โคเนื้อที่ศึกษามีต้นทุนรวมในการผลิตโคขุนและเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูก เท่ากับ 36,082.86 $\pm$ 20,514.87 และ 18,898.45 $\pm$ 10,152.28 บาทต่อตัว ซึ่งสามารถจำหน่ายโคขุนและเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูก เท่ากับ 50,725.00 $\pm$ 35,871.35 และ 28,440.23 $\pm$ 11,241.10 บาทต่อตัว จึงทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคขุนและเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูกจะมีผลตอบแทนสุทธิเท่ากับ 14,642.14 $\pm$ 5,814.98 และ 9,541.78 $\pm$ 2,548.59 บาทต่อตัว อย่างไรก็ตามหากพิจารณาเฉพาะผลตอบแทนในรูปเงินสด เกษตรกรผู้เลี้ยงโคขุนและเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูกจะมีกำไร เท่ากับ 19,207.81 $\pm$ 7,243.85 และ 15,266.71 $\pm$ 9,412.54 บาทต่อตัว ตามลำดับ

คำสำคัญ: กำไร โคขุน ต้นทุน

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยให้ความสำคัญกับประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (ASEAN Economic Community หรือ AEC) ซึ่งคำว่า AEC มีบุคคลจำนวนมากที่รู้จักและเข้าใจ เนื่องจากส่วนใหญ่คิดว่า AEC เป็นโอกาสที่ประเทศไทย จะได้ขยายตลาดรองรับหรือโอกาสในการทำการค้า โดยเฉพาะด้านการเกษตร ปศุสัตว์ และอุตสาหกรรมต่อเนื่อง แต่การจะใช้โอกาสและประโยชน์จาก AEC ได้นั้น จำเป็นต้องเตรียมความพร้อม สำหรับการผลิตปศุสัตว์ โดยเฉพาะโคเนื้อ ซึ่งจากสถานการณ์ราคาโคเนื้อตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2552 เป็นช่วงที่ตกต่ำถึงขั้นวิกฤต ทำให้เกษตรกรหลายรายตัดสินใจจำหน่ายโคเข้าโรงฆ่า และไปประกอบอาชีพอื่น ซึ่งในจำนวนนี้มีโคเพศเมียที่มีคุณภาพเหมาะนำมาใช้ทำแม่พันธุ์ปะปนอยู่ด้วย จากสาเหตุดังกล่าวทำให้ราคาโคเนื้อปรับตัวสูงขึ้น แต่เกษตรกรไม่สามารถหาแม่พันธุ์มาเลี้ยงส่งผลให้ผลผลิตเนื้อโคไม่เพียงพอกับความต้องการทั้งภายในประเทศ และการตลาดที่จะเกิดขึ้นหลังจากการเปิดเป็นประชาคมอาเซียนในปี พ.ศ. 2558 (กรมปศุสัตว์, 2557) ปัจจุบันเกือบทุกประเทศในกลุ่มอาเซียน มีความต้องการโคเนื้อและเนื้อโคเพิ่มมากขึ้น ขณะที่การผลิตโคเนื้อของแต่ละประเทศยังไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาด ต้องอาศัยการนำเข้าเป็นหลัก จึงนับเป็นโอกาสดีของประเทศไทยที่จะเพิ่มการผลิตและขยายการตลาดโคเนื้อไปยังประเทศในกลุ่มอาเซียน (มนิสรา, 2556)

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้อมูลที่ใช้ได้มาจากการสัมภาษณ์เชิงลึกเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อในอำเภอวัดโบสถ์ (55 ราย เป็นเกษตรกรที่เลี้ยงแม่โคเนื้อเพื่อผลิตลูกทั้งหมด) และพรหมพิราม (60 ราย เป็นเกษตรกรที่เลี้ยงแม่โคเนื้อเพื่อผลิตลูก 50 ราย และเป็นเกษตรกรที่เลี้ยงโคขุน จำนวน 10 ราย) จำนวน 115 ครัวเรือน ทำการเลือกแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive Sampling) จากการสุ่มตัวอย่างของประชากรผู้เลี้ยงโคเนื้อจากข้อมูลของกรมปศุสัตว์ (2557) โดยใช้วิธีการคิดขนาดกลุ่มตัวอย่างของทาโร ยามาเน่ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และใช้ความคลาดเคลื่อนที่ 10% โดยใช้เครื่องมือเป็นแบบสอบถาม (Questionnaire) เกี่ยวกับข้อมูลต้นทุนการผลิต และรายได้ต่อฤดูกาลที่เลี้ยงจากการจำหน่ายโคเนื้อเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูก และโคขุนของเกษตรกรในอำเภอดังกล่าวถูกสัมภาษณ์ในช่วงระยะเวลาเดือนพฤศจิกายน 2557 ถึง เดือนมกราคม 2558 จากนั้นข้อมูลที่ได้ถูกนำมาพิจารณาต้นทุนการผลิตและผลตอบแทนโคเนื้อ โดยมีการจำแนกเป็น 1) ต้นทุนผันแปร ซึ่งประกอบด้วย ค่าแรงงาน ค่าพันธุ์ ค่าอาหารหยาบ ค่าแร่ธาตุ ค่าผสมพันธุ์ ค่าเวชภัณฑ์และยา ค่าน้ำประปา ค่าไฟฟ้า ค่าน้ำเชื้อพันธุ์ และบริการ ค่าเสียโอกาสเงินลงทุน เป็นต้น และ 2) ต้นทุนคงที่ ได้แก่ ค่าเสื่อมโรงเรียน และค่าเสื่อมแม่โค เป็นต้น ค่าเฉลี่ยดังกล่าวถูกคำนวณค่าโดยสมการการวิเคราะห์ต้นทุนและผลตอบแทน (ซวลิต และคณะ, 2555; Limsombunchai and Kao-ian, 2010) ดังนี้

1. ค่าพันธุ์โค หมายถึง ค่าโคที่ซื้อมาเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูกและเพื่อการขุน

2. ค่าอาหาร ประกอบด้วย ค่าอาหารหยาบและอาหารข้น มีหลักในการคำนวณ ดังนี้

ค่าอาหารต่อการเลี้ยงโคเนื้อ 1 ตัว = ค่าอาหารใน 1 เดือน/จำนวนโคเนื้อ × ระยะเวลาในการเลี้ยงโคเนื้อ

3. ค่าแรงงาน มีหลักในการคำนวณ ดังนี้
ค่าแรงงานต่อเดือน = จำนวนแรงงาน × ค่าแรงต่อเดือน และค่าแรงงานต่อวัน = ค่าแรงงานต่อเดือน/30
นอกจากนี้ยังมีค่าแรงงานต่อการเลี้ยงโคเนื้อ 1 ตัว = ค่าแรงงานต่อวัน × ระยะเวลาในการเลี้ยงโคเนื้อ/จำนวนโคเนื้อ

4. ค่าเวชภัณฑ์ มีหลักในการคำนวณ ดังนี้
ค่าเวชภัณฑ์ต่อการเลี้ยงโคเนื้อ 1 ตัว = ค่าเวชภัณฑ์ใน 1 เดือน × ระยะเวลาการเลี้ยงโคเนื้อ/จำนวนโคเนื้อ

5. ค่าผสมพันธุ์ โดยมีหลักในการคำนวณ ดังนี้
ค่าผสมพันธุ์ = จำนวนแม่โค × ค่าผสมพันธุ์แม่โค

6. ค่าน้ำประปา และค่าไฟฟ้า มีหลักในการคำนวณ ดังนี้

ค่าน้ำ/ไฟฟ้าต่อการเลี้ยงโคเนื้อ 1 ตัว = ค่าน้ำ/ไฟฟ้าใน 1 เดือน × ระยะเวลาในการเลี้ยงโคเนื้อ/จำนวนโคเนื้อ

7. ค่าน้ำมันเชื้อเพลิง มีหลักในการคำนวณ ดังนี้

ค่าน้ำมันเชื้อเพลิงต่อการเลี้ยงโคเนื้อ 1 ตัว = ค่าน้ำมันเชื้อเพลิงโคเนื้อใน 1 เดือน × ระยะเวลาในการเลี้ยงโคเนื้อ/จำนวนโคเนื้อ

8. ค่าเสียโอกาสเงินทุน มีหลักในการคำนวณ ดังนี้

ค่าเสียโอกาสเงินลงทุนต่อเดือน = ต้นทุนที่เป็นเงินสด × อัตราดอกเบี้ยเงินกู้ (0.42%)

ค่าเสียโอกาสของเงินลงทุนต่อการเลี้ยงโคเนื้อ 1 ตัว = (ค่าเสียโอกาสเงินลงทุนต่อเดือน) × ระยะเวลาในการเลี้ยงโคเนื้อ/จำนวนโคเนื้อ

9. ค่าใช้ที่ดิน มีหลักในการคำนวณ ดังนี้

ค่าเช่าที่ดินต่อการเลี้ยงโคเนื้อ 1 ตัว = ค่าเช่าที่ดินต่อเดือน × ระยะเวลาในการเลี้ยงโคเนื้อ/จำนวนโคเนื้อ

10. ค่าเสื่อมโรงเรือน มีหลักในการคำนวณ ดังนี้
ค่าเสื่อมของคอกหรือโรงเรือน = มูลค่าก่อสร้าง/อายุการใช้งาน

11. ค่าเสื่อมแม่พันธุ์ มีหลักในการคำนวณ ดังนี้
ค่าเสื่อมแม่พันธุ์โคเนื้อ = มูลค่าแม่โคซื้อเข้า - มูลค่าแม่โคขายออก/ช่วงเวลาการให้ผลผลิตที่ 8 ปี
ค่าเสื่อมแม่พันธุ์โคเนื้อต่อเดือน = ค่าเสื่อมแม่โคต่อปี/12 เดือน

ค่าเสื่อมแม่พันธุ์โคเนื้อต่อการผลิตลูกโค 1 ตัว = ค่าเสื่อมแม่พันธุ์โคเนื้อต่อเดือน × ระยะเวลาในการคุมท้อง - ไคร์น

12. ราคาโคเนื้อที่จำหน่าย มีหลักในการคำนวณ ดังนี้

ราคาจำหน่ายลูกโคเนื้อ = ราคารับซื้อ × น้ำหนักโค

13. กำไร มีหลักในการคำนวณ ดังนี้
กำไรสุทธิ = ผลตอบแทนทั้งหมด - ต้นทุนการผลิตทั้งหมด

กำไรขั้นต้น หรือกำไรที่เป็นเงินสด = ผลตอบแทนทั้งหมด - ต้นทุนที่เป็นเงินสด

ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพรรณนา (Descriptive statistics) และค่าเฉลี่ยของรายรับและรายจ่ายถูกคำนวณค่าโดยสมการการวิเคราะห์ต้นทุนและผลตอบแทนในการผลิตโคเนื้อ

ผลการทดลอง

ผลการสำรวจข้อมูลการผลิตโคเนื้อ พบว่าพันธุ์ส่วนใหญ่ของเกษตรกรที่เลี้ยงโคเนื้อ ได้แก่ พันธุ์ลูกผสมบราห์มัน จำนวน 1,779.00 ± 981.54 ตัว รองลงมา เป็นพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 495.00 ± 154.37 ตัว โคเนื้อลูกผสมชาร์โลเลส์ จำนวน 220.00 ± 58.32 ตัว โคเนื้อลูกผสมฮินดูบราซิล จำนวน 80.00 ± 10.57 ตัว และโคเนื้อพันธุ์อื่นๆ (เช่น โคลูกผสมเดรทท์มาสเตอร์ และโคพันธุ์ตาก เป็นต้น) จำนวน 48.00 ± 27.84 ตัว ตามลำดับ

จากการศึกษาต้นทุนและผลตอบแทนของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อ ในอำเภอดงหลวง และอำเภอพนา จังหวัดพะเยา พบว่า

1. ต้นทุนและผลตอบแทนในการเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูก จากผลการศึกษาพบว่า มีต้นทุนรวมของการผลิตโคเนื้อทั้งหมด เท่ากับ 18,898.45 $\pm$ 10,152.28 บาทต่อตัว ซึ่งคิดเป็นเงินสด เท่ากับ 13,173.52 $\pm$ 9,547.32 บาทต่อตัว ไม่เป็นเงินสด เท่ากับ 5,724.93 $\pm$ 1,154.10 บาทต่อตัว

เกษตรกรมีการจำหน่ายโคเนื้อ เท่ากับ 28,440.23 $\pm$ 11,241.10 บาทต่อตัว ดังนั้นจะมีกำไรสุทธิรวม เท่ากับ 9,541.78 $\pm$ 2,548.59 บาทต่อตัว และที่เป็นเงินสด เท่ากับ 15,266.71 $\pm$ 9,412.54 บาทต่อตัว (ตารางที่ 1)

2. ต้นทุนและผลตอบแทนในการเลี้ยงโคขุน จากผลการศึกษาพบว่า มีต้นทุนรวมของการผลิตโคขุนทั้งหมด เท่ากับ 36,082.86 $\pm$ 20,514.87 บาทต่อตัว ซึ่งคิดเป็นเงินสด 31,517.19 $\pm$ 19,471.56 บาทต่อตัว ไม่เป็น

Table 1 Cost and return from raising cows to produce calves cattle of small scale farmers

Variable	Cash cost (Baht/ head)	Non cash cost (Baht/ head)	Total	Percentage
Variable cost	10,492.19 $\pm$ 3,918.24	488.99 $\pm$ 383.11	10,981.18 $\pm$ 4,112.08	58.11
- Concentrate	2,118.56 $\pm$ 1,581.10	-	2,118.56 $\pm$ 1,581.10	11.21
- Roughage	2,853.80 $\pm$ 1,831.52	83.25 $\pm$ 20.41	2,937.05 $\pm$ 1,567.21	15.54
- Mineral	286.13 $\pm$ 50.98	-	286.13 $\pm$ 50.98	1.51
- Supplement	1,919.17 $\pm$ 832.50	-	1,919.17 $\pm$ 832.50	10.16
- Labor	46.80 $\pm$ 10.54	152.54 $\pm$ 50.21	199.34 $\pm$ 115.95	1.05
- Veterinary and Medical	151.47 $\pm$ 89.47	-	151.47 $\pm$ 89.47	0.80
- Breeding	368.12 $\pm$ 156.87	-	368.12 $\pm$ 156.87	1.95
- Water	12.80 $\pm$ 5.32	-	12.80 $\pm$ 5.32	0.07
- Electricity	11.88 $\pm$ 9.57	-	11.88 $\pm$ 9.57	0.06
- Fuel	2,723.46 $\pm$ 1,254.20	-	2,723.46 $\pm$ 1,254.20	14.41
- Investment opportunity	-	253.20 $\pm$ 157.56	253.20 $\pm$ 157.56	1.34
0.42%				
Fixed cost	2,681.33 $\pm$ 674.21	5,235.94 $\pm$ 558.12	7,917.27 $\pm$ 986.41	41.89
- Land using	2,681.33 $\pm$ 942.87	944.66 $\pm$ 521.52	3,625.99 $\pm$ 1,014.23	19.19
- Housing depreciation	-	368.00 $\pm$ 124.21	368.00 $\pm$ 124.21	1.95
- Breeder depreciation	-	3,464.96 $\pm$ 881.12	3,464.96 $\pm$ 881.12	18.33
- Breeder opportunity	-	458.32 $\pm$ 67.02	458.32 $\pm$ 67.02	2.43
Total costs	13,173.52 $\pm$ 9,547.32	5,724.93 $\pm$ 1,154.10	18,898.45 $\pm$ 10,152.28	100.00
Income	28,440.23 $\pm$ 11,241.10	-	28,440.23 $\pm$ 11,241.10	150.49
Profit	15,266.71 $\pm$ 9,412.54	-	9,541.78 $\pm$ 2,548.59	50.49

เงินสด เท่ากับ 4,565.67 $\pm$ 2,101.56 บาทต่อตัว มีราคาโคเนื้อที่จำหน่ายของการผลิตโคขุน เท่ากับ 50,725.00 $\pm$ 35,871.35 บาทต่อตัว ดังนั้นจะมีกำไรสุทธิ 14,642.14 $\pm$ 5,814.98 บาทต่อตัว และที่เป็นเงินสด เท่ากับ 19,207.81 $\pm$ 7,243.85 บาทต่อตัว (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

จากการศึกษาต้นทุนและผลตอบแทนในการเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูก พบว่าต้นทุนผันแปรจะเป็นค่าอาหารหยาบมากที่สุด รองลงมาเป็นค่าน้ำมันเชื้อเพลิง ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549), ขวลิต และคณะ (2555) ที่มีต้นทุนค่าแรงงานมากที่สุด และมีค่าอาหารหยาบรองลงมา ทั้งนี้เนื่องจาก

เกษตรกรส่วนใหญ่ในพื้นที่สำรวจไม่มีการจ้างแรงงานเลี้ยงโคเป็นอาชีพหลัก และมีการใช้แรงงานภายในครอบครัว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ บัวทอง และวรทัศน์ (2556); บุญจันทร์ และจุฑา (2554) ที่พบว่าส่วนใหญ่ใช้แรงงานครัวเรือนในการเลี้ยงโคเนื้อ ทำให้ค่าแรงงานไม่สูงในต้นทุนผันแปร แต่เป็นค่าอาหารหยาบที่รองลงมา เพราะเกษตรกรส่วนใหญ่เลี้ยงแบบปล่อยทุ่งหรือปล่อยแทะเล็ม และให้กินอาหารหยาบเป็นหลัก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ เพียนทิพย์ และอับดุลเลาะ (2558) พบว่าระบบการเลี้ยงแกะของเกษตรกรส่วนใหญ่มีการเลี้ยงแบบปล่อยแทะเล็ม (50.88%) ในส่วนของต้นทุนรวมของการผลิตโคเนื้อที่เป็นต้นทุนคงที่จะมีการใช้ค่าใช้ที่ดินมากที่สุด รองลงมาเป็นค่าเสื่อมแม่พันธุ์ สอดคล้องกับการศึกษาของขวลิต และคณะ (2555) ที่มีค่าใช้ที่ดิน

Table 2 Cost and return from raising cows to produce fattening cattle of small scale farmers

Variable	Cash cost (Baht/ head)	Non cash cost (Baht/ head)	Total	Percentage
Variable cost	31,517.19 $\pm$ 10,567.23	31.87 $\pm$ 10.41	31,549.06 $\pm$ 11,423.17	87.44
- Concentrate	25,000.00 $\pm$ 15,832.71	-	25,000.00 $\pm$ 15,832.71	69.28
- Roughage	4,692.86 $\pm$ 3,541.23	-	4,692.86 $\pm$ 3,541.23	13.01
- Mineral	416.78 $\pm$ 189.57	-	416.78 $\pm$ 189.57	1.16
- Supplement	39.16 $\pm$ 10.54	-	39.16 $\pm$ 10.54	0.11
- Labor	389.61 $\pm$ 102.78	-	389.61 $\pm$ 102.78	1.08
- Veterinary and Medical	760.56 $\pm$ 523.71	9.52 $\pm$ 0.25	770.08 $\pm$ 698.23	2.13
- Breeding	52.35 $\pm$ 23.12	-	52.35 $\pm$ 23.12	0.15
- Water	49.72 $\pm$ 10.52	-	49.72 $\pm$ 10.52	0.14
- Electricity	2.45 $\pm$ 0.87	-	2.45 $\pm$ 0.87	0.01
- Fuel	113.7 $\pm$ 50.21	-	113.7 $\pm$ 50.21	0.32
- Investment opportunity 0.42%	-	22.35 $\pm$ 0.54	22.35 $\pm$ 0.54	0.06
Fixed cost	-	4,533.80 $\pm$ 2,378.11	4,533.80 $\pm$ 2,378.11	12.56
- Land using	-	172.69 $\pm$ 84.72	172.69 $\pm$ 84.72	0.48
- Housing depreciation	-	4,361.11 $\pm$ 3,213.75	4,361.11 $\pm$ 3,213.75	12.09
Total costs	31,517.19 $\pm$ 19,471.56	4,565.67 $\pm$ 2,101.56	36,082.86 $\pm$ 20,514.87	100.00
Income	50,725.00 $\pm$ 35,871.35	-	50,725.00 $\pm$ 35,871.35	140.58
Total costs	19,207.81 $\pm$ 7,243.85	-	14,642.14 $\pm$ 5,814.98	40.58

สูงสุดในต้นทุนคงที่ แต่อย่างไรก็ตามแตกต่างจากการศึกษาของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549) ที่มีค่าเสียโอกาสแม่พันธุ์สูงสุดในต้นทุนคงที่ เนื่องจากที่ดินมีราคาสูงขึ้น และเกษตรกรนิยมมาปลูกพืชเศรษฐกิจกันมากขึ้น ประกอบกับพื้นที่สาธารณะลดน้อยลง เป็นต้น สำหรับในส่วนของคุณทุนและผลตอบแทนในการเลี้ยงโคขุน พบว่าต้นทุนผันแปรเป็นในส่วนของคุณทุนมากที่สุด รองลงมาเป็น ค่าอาหารขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2549) ณรภมล และคณะ (2550) มีค่าพันธุ์มากที่สุดเช่นกัน นอกจากนี้พบว่าเกษตรกรมีกำไรจากการเลี้ยงแม่โคเพื่อผลิตลูกเป็นเงินสด เท่ากับ $15,266.71 \pm 9,412.54$ บาทต่อตัว สอดคล้องกับการศึกษาของ Suphawadee (2016) พบว่าเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้ออำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก มีกำไรจากการเลี้ยงโคเนื้อแรกเกิดถึงจำหน่าย เท่ากับ $16,075 \pm 7,523.74$ บาทต่อตัว สำหรับผู้ที่มีความสนใจที่จะเลี้ยงโคดังกล่าว ต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับการเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูกหรือโคขุนมาก่อน และต้องมีความเอาใจใส่ หมั่นดูแลที่สำคัญต้องมีการจดบันทึกข้อมูลทั้งหมดในการเลี้ยง อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงโคดังกล่าวอาจมีปัจจัยเสี่ยงอื่น ๆ เข้ามากระทบ เช่น ราคาของโคที่อาจผันแปรไปตามกระแสความนิยมในการเลี้ยง หากมีการเลี้ยงโคเนื้อมากเกินไปความต้องการอาจทำให้ราคาต่ำลงได้ เป็นต้น

สรุป

เกษตรกรส่วนใหญ่เลี้ยงโคเนื้อพันธุ์ลูกผสมบราห์มัน โดยมีต้นทุนการผลิตรวมทั้งหมด และราคาจำหน่ายของโคขุน มีค่าเท่ากับ $36,082.86 \pm 20,514.87$ และ $50,725.00 \pm 35,871.35$ บาทต่อตัว สูงกว่าโคเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูก ซึ่งมีค่าเท่ากับ $18,898.45 \pm 10,152.28$ และ $28,440.23 \pm 11,241.10$ บาทต่อตัว ดังนั้นจึงทำให้โคขุนมีกำไรสุทธิ เท่ากับ $14,642.14 \pm 5,814.98$ บาทต่อตัว ซึ่งสูงกว่าโคเลี้ยงแม่เพื่อผลิตลูกที่มีค่าเท่ากับ $9,541.78 \pm 2,548.59$ บาทต่อตัว เช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) เรื่อง ต้นทุนและผลตอบแทนในการผลิตโคเนื้อของเกษตรกรรายย่อย ในจังหวัดพิษณุโลก ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 และขอขอบคุณเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อในอำเภอบัวโบสถ์และอำเภอฟาร์มโพธิ์รวมทั้งที่มีส่วนรวมในข้อมูลที่ใช้ในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2557. ข้อมูลจำนวนเกษตรกรและปศุสัตว์ในประเทศไทย ประจำปี 2556. กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ ศูนย์สารสนเทศ กรมปศุสัตว์.
- ชวลิต แก่นแก้ว ศกร คุณวุฒิฤทธิ์ธน มัทนา ไชยหงส์ และ ธนาทิพย์ สุวรรณโณ. 2555. ต้นทุนการผลิตโคเนื้อของเกษตรกรที่เป็นสมาชิกสหกรณ์การเลี้ยงปศุสัตว์ กรป. กลาง โพนยางคำ จำกัด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43(1): 79-88.
- ณรภมล เล่าห์รอดพันธุ์ โชค มิเกล็ด และ ณัฐพล จงกลกิจ. 2550. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโคเนื้อที่มีคุณภาพในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. วารสารเกษตร 23(ฉบับพิเศษ): 235-239.
- เทียนทิพย์ ไกรพรหม และ อับดุลเลาะ สาแม. 2558. การสำรวจสถานภาพการเลี้ยงแกะและศึกษาคุณค่าทางโภชนาของพืชที่ใช้เลี้ยงแกะในจังหวัดปัตตานี. วารสารเกษตร 31(3): 339-347.
- บุญจันทร์ มณีแสง และ รุจ ศิริสัญลักษณ์. 2554. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการยอมรับการเลี้ยงโคเนื้อลูกผสมระหว่างแม่พันธุ์เมืองกับพ่อพันธุ์บราห์มันแดงของเกษตรกรในนครหลวงเวียงจันทน์ สปป.ลาว. วารสารเกษตร 27(2): 137-143.
- บัวทอง แก้วหล้า และวรทัศน์ อินทร์คัมพร. 2556. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการยอมรับการส่งเสริมการเลี้ยงโคเนื้อของเกษตรกรในอำเภอหนองแฮด จังหวัดเชียงใหม่ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว. วารสารเกษตร 29(3): 267-275.

มนิสา นวลเต็ม. 2556. โอกาสโคเนื้อไทยในอาเซียน (AEC). สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า สันค้ำเกษตรกร สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า. กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2549. ต้นทุนและผลตอบแทนในการเลี้ยงโคเนื้อ. ส่วนวิจัยเศรษฐกิจปศุสัตว์และประมง สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. กรุงเทพฯ. 69 หน้า.

Limsombunchai, V. and S. Kao-ian. 2010. Selection of corn seed and returns for farmers at Takfa, Nakonsawan province, Corn and sorghum research project. Kasetsart University, Bangkok. 358 p.

Suphawadee, Y. 2016. Efficiency development of beef cattle production of small scale farmers in Chattrakan District, Phitsanulok Province. Rajabhat Journal of Sciences, Humanities and Social Sciences 17(1): 32-38.

การสำรวจรูปแบบการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ใน หมู่บ้านปงหลวง อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย

Survey of the Perspective of Commercial Fish Culture in Pongluang Village, Wiangchai District, Chiang Rai Province

คณนา อจสูงเนิน^{1/*}
Kanana Ardsoongnearn^{1/*}

^{1/}สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย จังหวัดเชียงราย 57100

^{1/}Program Animal Health Science, Faculty of Science and Technology, Chiangrai Rajabhat University, Chiangrai, 57100
Thailand

*Corresponding author: Email: kanananub@gmail.com

(Received: 5 October 2015; Accepted: 13 May 2016)

Abstract: The purpose of this study was to characterize the model of commercial aquaculture, the problems and trends in the development of freshwater fish aquaculture in Pongluang Village, Wiangchai Subdistrict, Wiangchai District, Chiang Rai Province. The sample group was ten farmers who marketed many types of fingerling fish in Pongluang Village. The research tools used in this study were questionnaires, interview and seminar to brainstorm for further development of fisheries business in Pongluang Village. The data were analyzed by using percent, means and content analysis.

The results showed that (1) the perspective was nursery fish. Almost the farmers raised one centimeter (fries) to grower sized about 2-5 centimeters (called fingerling). Then sold to the farmers who raised that fish for consumption. The Pongluang farmers bred the Nile tilapia, small scale mud carp, and common silver barb. The other fingerlings were bought from the other farms, then were raised to 2-5 centimeters in length which called nursery. The fingerlings were catfish, walking catfish, common carp, striped snakehead fish, Thai silver barb, Chinese carp, rohu, small scale mud carp, Mekong giant catfish, Gourami, Jullien's mud carp, fancy carp, greater black shark, Java tilapia, snaked skin Gourami, spotted feather carp, Asian redbtail catfish, goby and moonlight Gourami. (2) Most of the problems were high price of fish feed and climatic changes (3) The suitable development trend in Pongluang fish culture were to increase the variety of fingerlings, regular quality sized fingerling and good marketing.

Keywords: Commercial fish culture, nursing fish

บทคัดย่อ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ของเกษตรกรบ้านปงหลวง ปัญหาอุปสรรคในการเพาะเลี้ยงปลา และแนวทางการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลา หมู่บ้านปงหลวง ตำบลเวียงชัย อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย จำนวน 10 ราย เครื่องมือและการรวบรวมข้อมูล ได้แก่ แบบสอบถาม แบบสัมภาษณ์ และการจัดการอบรมกลุ่มเกษตรกร เพื่อให้ความรู้และระดมความคิดเห็นในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาของบ้านปงหลวงต่อไปในอนาคต ค่าสถิติที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้คือ ค่าเฉลี่ย ร้อยละ และความถี่

ผลการวิจัยพบว่ารูปแบบการเพาะเลี้ยงปลาของเกษตรกรเป็นแบบการชำปลา คือนำลูกปลานขนาดเล็ก ความยาวเฉลี่ยไม่เกิน 1 เซนติเมตรมาเพาะเลี้ยงในบ่อดินหรือกระชัง ให้ลูกปลามีขนาดยาวขึ้นประมาณ 2-5 เซนติเมตร เพื่อรอจำหน่ายแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาเพื่อบริโภค ในบริเวณใกล้เคียงของจังหวัดเชียงราย ลูกปลาที่เกษตรกรเพาะพันธุ์เองได้แก่ ลูกปลานิล ปลานวลจันทร์ และปลาตะเพียน นอกจากนั้นเป็นการนำเอาลูกปลาจากแหล่งอื่นมาอนุบาลเพื่อจำหน่าย ได้แก่ ลูกปลาดุกบิ๊กอุย ปลาไน ปลาสวาย ปลาจีน ปลาเยี่ยงเทศ ปลาน้ำจืด ปลาแรด ปลาสร้อย ปลาแพนซีคาร์ฟ ปลาเพี้ย ปลาหมอเทศ ปลาสลิด ปลากุร่าย ปลากดคัง ปลาบู่ และปลากะตัง ปัญหาอุปสรรคที่เกษตรกรให้ความสำคัญมากที่สุดคือ ราคาอาหารปลาและสภาพภูมิอากาศที่ไม่เหมาะสม ปัญหาที่ให้ความสำคัญน้อยที่สุดคือ การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์และการผสมพันธุ์ สิ่งที่เกษตรกรต้องการพัฒนาด้านการผลิตมากที่สุดคือความหลากหลายของชนิดลูกปลา คุณภาพของลูกปลาที่มีความแข็งแรงและขนาดตัวสม่ำเสมอ ความต้องการอื่นนอกจากด้านการผลิต คือเรื่องการตลาด

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ การชำปลา

คำนำ

ในอดีตการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นการทำกิจกรรมเพื่อยังชีพ ผลิตเพื่อตอบสนองความต้องการในครอบครัวเป็นส่วนใหญ่ หากมีผลผลิตเกินความต้องการบริโภคภายในครัวเรือนจึงทำการจำหน่าย การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอาชีพที่อยู่คู่กับสังคมเกษตรกรรมของไทยมาช้านาน ดังคำโบราณที่ว่า “ในน้ำมีปลาในนามีข้าว” ลักษณะการเลี้ยงของเกษตรกรเป็นวิถีเลียนแบบธรรมชาติ ต่อมาเมื่อมีการพัฒนาองค์ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จึงมีการพัฒนาการเลี้ยงให้เป็นอาชีพที่สามารถทำรายได้เป็นตัวเงิน มีการเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่นมากขึ้น ทำในรูปแบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์เพื่อเป็นการค้า ปัจจุบันสัตว์น้ำเป็นสินค้าบริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ จากข้อมูลสถิติผลผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดประจำปี พ.ศ. 2556 จำแนกตามวิธีทำการประมงของกรมประมงพบว่าประเทศไทยมีมูลค่าที่ได้จากสัตว์น้ำจืดที่จับตามธรรมชาติ 11,555.0 ล้านบาท และมาจากการเพาะเลี้ยง 25,469.5 ล้านบาทรวมเป็นเงินทั้งสิ้น 37,024.5 ล้านบาท เมื่อ

พิจารณาจากข้อมูลปริมาณสัตว์น้ำจืดจากการเพาะเลี้ยงจำแนกตามชนิดสัตว์น้ำ พบว่าสัตว์น้ำจืดที่มีมูลค่าผลผลิตมากที่สุด 5 ชนิด เรียงตามลำดับจากมากไปน้อยได้แก่ ปลานิล ปลาดุก ปลาตะเพียน ปลาสลิด และปลาสวาย ในภาคเหนือจังหวัดเชียงรายเป็นจังหวัดที่มีการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดมากเป็นอันดับสองรองจากจังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดเชียงรายมีฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ 17,627 ฟาร์ม ส่วนใหญ่เลี้ยงในบ่อดินจำนวน 17,619 ฟาร์มหรือร้อยละ 99.96 มีการเพาะเลี้ยงในนาและในกระชังค่อนข้างน้อยมากคือ จำนวน 6 ฟาร์มและ 2 ฟาร์มตามลำดับ (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศการสื่อสารกรมประมง, 2558) ข้อมูลสถิติจำนวนผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดจังหวัดเชียงรายประจำปี 2558 รายงานจำนวนฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมี 22,918 ฟาร์ม เป็นฟาร์มเพาะเลี้ยงปลานิล 17,717 ฟาร์ม ฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาดุก 3,841 ฟาร์ม และฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดอื่น ๆ เช่น ปลาตะเพียน ปลาไน ปลาเยี่ยงเทศ ปลานวลจันทร์ ฯลฯ 1,296 ฟาร์ม คิดเป็นร้อยละ 77.31, 16.76 และ 5.65 ตามลำดับ อำเภอที่เกษตรกรส่วนใหญ่มีการเลี้ยงปลานิลมากที่สุดได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอเชียงของ อำเภอเทิง และอำเภอบ้าน

(สำนักงานประมงจังหวัดเชียงราย, 2559) โดยเฉพาะที่อำเภอพานได้มีการจัดตั้งสหกรณ์ประมงอำเภอพาน กลุ่มผู้เลี้ยงอำเภอพาน เป็นต้น (เรียงชัย และคณะ, 2556) ซึ่งจากงานวิจัยพบว่าปลานิลเป็นสัตว์น้ำจืดที่เพาะพันธุ์และเลี้ยงง่ายที่สุด สายพันธุ์ปลานิลที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ 3 สายพันธุ์ คือ จิตรลดา 1 จิตรลดา 3 และปลานิลแดงในการศึกษาพบว่าปลานิลแดงเป็นสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมที่สุด คือ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงและ น้ำหนักเพิ่มต่อวันมากที่สุด ในขณะที่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าต่ำที่สุด ส่วนอัตราการรอดไม่มีความแตกต่างในสามสายพันธุ์นี้ (เกตุณภัส และคณะ, 2556) หมู่บ้านปงหลวงตั้งอยู่ในตำบลเวียงชัย อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย สภาพพื้นที่โดยทั่วไปของหมู่บ้านเป็นที่ราบลุ่มเหมาะสำหรับทำการเกษตร มีแม่น้ำลาวเป็นแม่น้ำสายหลักไหลผ่านหมู่บ้านอยู่ใกล้กับหนองน้ำขนาดใหญ่เรียกว่าหนองหลวง มีลักษณะรูปทรงคล้ายวงรี เป็นอ่างเก็บน้ำขนาดใหญ่ที่สุดของจังหวัดเชียงราย มีพื้นที่ 9,916 ไร่ หรือ 14.7136 ตารางกิโลเมตร มีอาณาเขตครอบคลุมอำเภอเวียงชัยและอำเภอเมือง ถือเป็นแหล่งน้ำสำหรับกักเก็บน้ำไว้ใช้ในการเกษตรและเลี้ยงปลาน้ำจืด มีศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดที่เอื้อต่อการพัฒนาคุณภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตั้งอยู่ในพื้นที่ เศรษฐกิจที่สำคัญของชุมชน ได้แก่ การปลูกข้าว ทำสวน เพาะเห็ด เพาะพันธุ์และเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีการดำเนินธุรกิจที่เกี่ยวข้องกับสัตว์น้ำอย่างเป็นรูปธรรมที่เห็นได้อย่างชัดเจน

งานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ ปัญหาและอุปสรรค ตลอดจนแนวทางในการพัฒนาคุณภาพการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ที่เหมาะสมของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ หมู่บ้านปงหลวง ตำบลเวียงชัย อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย

อุปกรณ์และวิธีการ

(1) ประชากรคือกลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาหมู่บ้านปงหลวง ตำบลเวียงชัย อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย กลุ่มตัวอย่างคือกลุ่มของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยง

ปลาที่ขึ้นทะเบียนฟาร์ม และ/หรือที่มีการดำเนินกิจการในช่วงสำรวจ จำนวน 10 ราย (ขึ้นทะเบียนฟาร์ม 9 ราย)

(2) เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยประกอบด้วยแบบสอบถาม 1 ชุดประกอบด้วย 5 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 สภาพพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจและด้านอื่น ๆ ของเกษตรกร

ตอนที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับรูปแบบการเพาะเลี้ยงปลา

ตอนที่ 3 ด้านเทคนิคและกระบวนการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์

ตอนที่ 4 ปัญหาและอุปสรรค

ตอนที่ 5 แนวทางการพัฒนา

(3) การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.1 ศึกษาภาคสนาม โดยการลงพื้นที่จริง คือหมู่บ้านปงหลวง ตำบลเวียงชัยเพื่อเก็บข้อมูล

3.2 นำแบบสอบถามที่สร้างขึ้นเก็บข้อมูลจากประชากรทั้งหมดและนำข้อมูลมาประมวลผลด้วยคอมพิวเตอร์

3.3 การสัมภาษณ์และการสังเกตแบบมีส่วนร่วมระหว่างผู้วิจัยกับประชากรกลุ่มตัวอย่าง

3.4 การจัดประชุมอบรมการเพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจ ให้แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลา ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด อำเภอเวียงชัย เพื่อระดมความคิดเห็นในการหาแนวทางการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืด

(4) การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ดำเนินการประมวลผลโดยใช้โปรแกรม Excel การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการวิจัย ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และสถิติเชิงพรรณนา

ผลการศึกษา

เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาบ้านปงหลวงส่วนใหญ่อายุระหว่าง 41-50 ปี คิดเป็นร้อยละ 40 อายุเฉลี่ย 42.5 ปี ระดับการศึกษาพบว่าส่วนใหญ่จบการศึกษาระดับชั้นประถมศึกษาคิดเป็นร้อยละ 60 ระดับอาชีวศึกษาร้อยละ 20 ระดับมัธยมศึกษาร้อยละ 10 และระดับปริญญาตรีร้อยละ 10 ครอบครัวที่มีจำนวนสมาชิก 2-4 คน และ

ครอบครัวที่มีสมาชิก 5-8 คน มีจำนวนเท่ากันคือร้อยละ 50 สาเหตุที่เกษตรกรประกอบฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาส่วนใหญ่สืบเนื่องมาจากสืบทอดกิจการของครอบครัวถึงร้อยละ 50 เกษตรกรตัดสินใจดำเนินอาชีพร้อยละ 30 และเจ้าหน้าที่กรมประมงแนะนำร้อยละ 20 ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการทำฟาร์มส่วนใหญ่ เกษตรกรทำมา มากกว่า 15 ปี ร้อยละ 80 ในขณะที่เป็นเกษตรกรรายใหม่ที่มีประสิทธิภาพ 1-5 ปี เพียงร้อยละ 20 ขนาดพื้นที่ที่เกษตรกรทำฟาร์มเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่มีขนาดน้อยกว่า 1 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 40 เกษตรกรที่มีพื้นที่ 1-5 ไร่คิดเป็นร้อยละ 40 และเกษตรกรที่มีพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมากกว่า 10 ไร่ ร้อยละ 20 ตามลำดับ รายได้สุทธิต่อปีของการเพาะเลี้ยงปลาของเกษตรกร พบว่าได้มากกว่า 100,000 บาทต่อปีคิดเป็นร้อยละ 70 กำลังการจำหน่ายมากกว่า 100,000 ตัวต่อปี คิดเป็นร้อยละ 70 จำนวนเกษตรกรรายที่มีเครือข่ายและไม่มีเครือข่ายมีอัตราส่วนเท่ากันคือร้อยละ 50

รูปแบบการเพาะพันธุ์ปลาของเกษตรกรบ้านปางหลวงเป็นลักษณะการรับซื้อลูกปลาขนาดเล็กหรือแรกเกิดมาชำเพื่อจำหน่าย (distribution) ร้อยละ 40 เพาะพันธุ์ลูกปลาบางชนิดเองและซื้อลูกปลาแรกเกิดมาชำเพื่อจำหน่าย (propagation and distribution) ร้อยละ 20 เกษตรกรบางรายทำการเพาะพันธุ์ลูกปลาบางชนิด รับซื้อลูกปลาแรกเกิดมาชำเพื่อจำหน่าย ขายอาหารสัตว์น้ำและเวชภัณฑ์ (propagation, distribution, sell feed &

drugs) ร้อยละ 20 และเกษตรกรที่ทำการเพาะพันธุ์ลูกปลาบางชนิด ซื้อลูกปลามาชำเพื่อจำหน่าย ขายอาหารและเวชภัณฑ์และธุรกิจอื่นด้วย เช่น เพาะเห็ด ขายเมล็ดพันธุ์ข้าว คิดเป็นร้อยละ 20 (propagation, distribution, sell feed & drugs and other business) ดังภาพที่ 1

ลูกปลาที่เกษตรกรนำมาขายมีจำนวน 16 ชนิด ลูกปลาที่ทุกฟาร์มจัดจำหน่ายคือลูกปลานิล ปลาตะเพียน คิดเป็นร้อยละ 100 รองลงมาคือลูกปลาดุกบิ๊กอุย ปลาไน ปลานวลจันทร์ คิดเป็นร้อยละ 90 ของที่มีจำหน่ายในแต่ละฟาร์ม ลูกปลาที่แต่ละฟาร์มจัดจำหน่ายน้อยได้แก่ ลูกปลาทับทิม ปลาหมอ ปลากลายและปลาแฟนซีคาร์พคิดเป็นร้อยละ 10 เกษตรกรสามารถเพาะพันธุ์ลูกปลาได้เอง 3 ชนิด คือ ลูกปลานิล ปลาตะเพียน และปลานวลจันทร์ ฟาร์มส่วนใหญ่มีการเพาะพันธุ์ลูกปลานิลเองมากที่สุดถึงร้อยละ 40 ของฟาร์มทั้งหมด ในขณะที่มีเพาะพันธุ์ลูกปลานวลจันทร์และปลาตะเพียนเอง ร้อยละ 30 ของฟาร์มทั้งหมด ชนิดปลาที่เหลือจะเป็นการไปรับซื้อลูกปลาพันธุ์ต่าง ๆ ตามความต้องการของตลาด (เกษตรกรรายย่อยที่ต้องการนำไปเลี้ยงเพื่อบริโภค) จากพื้นที่อื่น โดยเกษตรกรทำการเหมาหรือเพื่อไปซื้อลูกปลาพันธุ์ต่าง ๆ จากฟาร์มในจังหวัดอื่น ส่วนใหญ่เป็นฟาร์มเพาะพันธุ์ปลาในจังหวัดพิจิตร นครสวรรค์ นครนายก และสิงห์บุรี ได้แก่ ลูกปลาดุกบิ๊กอุย ปลาจีน ปลาสวาย ปลาแรด ปลากดคัง ปลาไน ปลาบึก สาเหตุหลักที่เกษตรกรนำลูกปลาพันธุ์ต่าง ๆ จากแหล่งอื่น เนื่องจากเกษตรกรไม่สามารถ

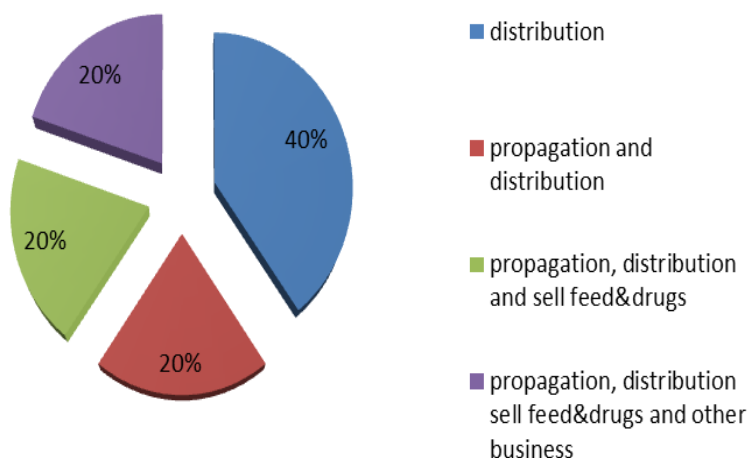


Figure 1 Aquaculture fish farming business in Ban Pongluang

เพาะพันธุ์ลูกปลาได้เองถึงร้อยละ 70 สาเหตุรองลงมาคือ ปลาบางชนิดเพาะพันธุ์ยากร้อยละ 40 และในการเพาะพันธุ์ปลามีค่าใช้จ่ายสูงร้อยละ 30 สาเหตุอื่น ๆ ได้แก่ สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ไม่มีเวลาในการเพาะพันธุ์ปลา และขาดพ่อแม่พันธุ์ที่มีคุณภาพ เป็นต้น

ขั้นตอนการชำลูกปลาของเกษตรกรบ้านปงหลวง

จากการศึกษาพบว่าเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาบ้านปงหลวง มีขั้นตอนการเพาะเลี้ยงลูกปลา ดังแสดงในภาพที่ 2

(1) การเพาะพันธุ์ปลา หรือ การซื้อลูกปลา มาชำ บางฟาร์มนั้นมีการเพาะพันธุ์ปลาบางชนิดเอง ปลาที่เกษตรกรบ้านปงหลวงทำการเพาะพันธุ์ได้แก่ ปลานิล ปลาตะเพียนและปลานวลจันทร์ โดยนำพ่อแม่พันธุ์เลี้ยงในบ่อดิน เมื่อจะทำการผสมพันธุ์ก็ฉีดฮอร์โมนเหนี่ยวนำให้อวัยวะสืบพันธุ์ทั้งสองเพศเจริญเต็มที่ นำมาเลี้ยงด้วยกันในบ่อผสม มีการผสมพันธุ์และวางไข่ นำลูกปลาที่เกิดมาอนุบาลในบ่ออนุบาล แต่ปลาพันธุ์อื่น ๆ เกษตรกรจะไม่เพาะพันธุ์เอง แต่ซื้อจากฟาร์มในแถบภาคกลาง เป็นลูกปลานขนาดเล็กมีความยาวไม่เกิน

1 เซนติเมตร แล้วนำมาเลี้ยงอนุบาลในบ่อดิน เหตุผลที่เลี้ยงในบ่อดิน เพราะมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่า ลูกปลาแข็งแรงกว่า มีอาหารธรรมชาติมากกว่าการเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ เมื่อเลี้ยงลูกปลาจนมีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร จึงย้ายไปบ่อซีเมนต์เพื่อเตรียมจัดจำหน่าย

(2) การเตรียมบ่อดิน นำลูกปลาวัยอ่อนหรือลูกปลานขนาดเล็กที่รับซื้อจากฟาร์มเพาะพันธุ์มาเลี้ยงในบ่อดินระยะเวลา 1 เดือน ดังภาพที่ 3 เพื่อให้ลูกปลาเจริญเติบโตมีความยาวประมาณ 2-5 เซนติเมตร และมีความแข็งแรง มีขนาดตัวสม่ำเสมอ การเตรียมบ่อโดยการตากบ่อ 1-2 วัน โรยปูนขาวเพื่อฆ่าเชื้อโรค บ่อที่ใช้ชำลูกปลาช่วงแรกเป็นบ่อดิน ช่วงอนุบาลมีการให้อาหารลูกปลาเล็ก ได้แก่ ปลาป่น รำละเอียดหรือรำอ่อนให้กิน พอลูกปลาโตขึ้นจะเปลี่ยนเป็นให้อาหารสำเร็จรูปหรือหัวอาหารที่มีโปรตีนสูง 40 เปอร์เซ็นต์

(3) การเตรียมบ่อซีเมนต์เพื่อพักรอจำหน่าย แสดงในภาพที่ 4 โดยถ่ายน้ำเก่าในบ่อออกให้หมด ตากแดดเพื่อฆ่าเชื้อโรค หลังจากนั้นแช่ด้วยน้ำด่างทับทิมล้างออกด้วยน้ำ บรรจุน้ำสะอาดลงในบ่อซีเมนต์ นำลูกปลาที่เลี้ยงได้ตามขนาดที่ต้องการมาชั่งไว้เพื่อรอการจำหน่าย โดยแยกเป็นพันธุ์ต่าง ๆ

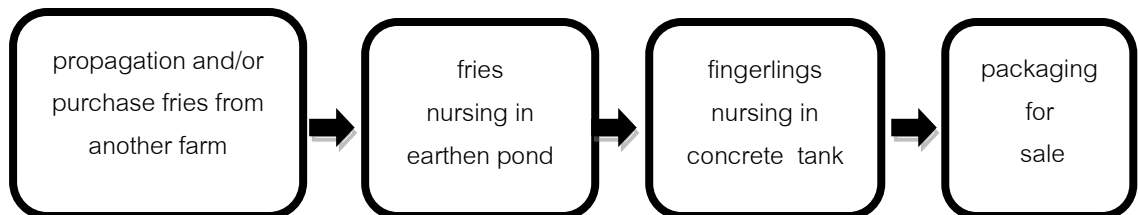


Figure 2 Flowchart of nursery system in aquaculture fish farming business in Ban Pongluang



Figure 3 The characteristic of nursery fingerlings both in cage culture and mud pond culture

(4) การบรรจุเพื่อจำหน่าย นำลูกปลาที่จะจำหน่ายใส่ถุงพลาสติก ความหนาแน่นของลูกปลาดูงละ 100 ตัว อัดก๊าซออกซิเจนจนถุงพอง วางไว้หน้าร้าน ดังภาพที่ 5 และภาพที่ 6

การจัดจำหน่ายลูกปลาขึ้นอยู่กับแต่ละฟาร์ม ไม่มีการกำหนดราคากลางหรือราคามาตรฐาน จากการสำรวจพบว่าบางฟาร์มตั้งราคาขายส่งร้อยละ 30 บาท หากขายปลีกร้อยละ 40 บาท บางฟาร์มตั้งราคาการขายส่งขนาดตัว 2-3 เซนติเมตร ร้อยละ 15 บาท ขนาด 3-5 เซนติเมตร ร้อยละ 30 บาท การขายปลีก ขนาดตัว 2-3 เซนติเมตร ร้อยละ 20 บาท 3-5 เซนติเมตร ร้อยละ 50 บาท และลูกปลาบางพันธุ์อาจมีราคาสูงกว่านี้

ปัญหาและอุปสรรคของธุรกิจฟาร์มเพาะพันธุ์ปลา

เกษตรกรให้ความสำคัญต่อปัญหาด้านอาหาร และการให้อาหารมากที่สุด รองลงมาคือด้านสิ่งแวดล้อม ซึ่งเกี่ยวข้องกับสภาพภูมิอากาศ และด้านการอนุบาลลูกปลา ด้านการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เป็นด้านที่เกษตรกรคิดว่า เป็นปัญหาอุปสรรคน้อยที่สุด แสดงในตารางที่ 1

สิ่งที่เกษตรกรต้องการพัฒนาทางด้านการผลิต อันดับแรกคือด้านความหลากหลายของชนิดพันธุ์ลูกปลา มากที่สุด อันดับสองรองลงมาคือมีอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกปลามีคุณภาพดี อันดับสามคือต้องการลูกปลาที่เพาะเลี้ยงมีขนาดตัวสม่ำเสมอ แนวทางในการพัฒนา ด้านอื่นที่นอกเหนือจากด้านการผลิตคือมีตลาดรองรับการ ผลิตและการประกันราคาต้องการมาก ด้านแหล่งเงินทุน หรือการสร้างเครือข่ายต้องการในระดับปานกลาง



Figure 4 The man-made and ready-made concrete tank for nursery and selling



Figure 5 Packaging process, harvested fingerlings in plastic bag with oxygen



Figure 6 Local fingerlings distributor in Pongluang Village

Table 1 The level of problems in aquaculture fish farming business, Ban Pongluang

Type of problem	Frequency	Level
Water quality	1.9	Moderate
Feed and feeding	2.3	High
Breeding selection	1.6	Moderate
Nursery management	2.1	High
Diseases prevention and treatment	1.7	Moderate
Farm management	1.7	Moderate
Environment (climate)	2.2	High
Total	1.9	Moderate

วิจารณ์

เกษตรกรผู้เพาะพันธุ์ปลาน้ำจืดบ้านปงหลวงส่วนใหญ่ อายุเฉลี่ย 42.5 ปี ระดับการศึกษาพบว่าส่วนใหญ่จบ การศึกษาระดับชั้นประถมศึกษา สาเหตุที่เกษตรกร ประกอบฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดส่วนใหญ่สืบเนื่องมาจาก สืบทอดกิจการภายในครอบครัว ประสบการณ์ในการทำ ฟาร์มส่วนใหญ่ของเกษตรกรทำมามากกว่า 15 ปี ขนาด พื้นที่ที่เกษตรกรทำฟาร์มเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก ไม่เกิน 5 ไร่ แต่จะอยู่ติดกับถนนหลักซึ่งเป็นเส้นทางใกล้ กับศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดและอ่างเก็บน้ำหนอง หลวง ซึ่งเป็นทำเลที่เหมาะสมต่อการทำธุรกิจสัตว์น้ำ รายได้สุทธิต่อปีของการเพาะเลี้ยงปลาของเกษตรกรพบว่า ส่วนใหญ่ได้มากกว่า 100,000 บาทต่อปี และกำลังการ จำหน่ายลูกปลามากกว่า 100,000 ตัวต่อปี เกษตรกรมี เครือข่ายโดยส่วนใหญ่เป็นญาติพี่น้องกัน และทำเป็น อาชีพเสริม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของดวงตะวันและ คณะ (2557) เรื่องปัจจัยที่มีต่อปฏิบัติการเลี้ยงปลาของ เกษตรกรอำเภอชัยธานี นครหลวงเวียงจันทน์ สาธารณ ประเทศเวียดนามโดยประชาชนลาว พบว่าระดับการศึกษาของ เกษตรกร แหล่งเงินทุน แรงงานที่ใช้ในการเลี้ยงปลา ตลอดจนการเป็นสมาชิกกลุ่มองค์กรชุมชนล้วนเป็นปัจจัย ที่มีผลต่อปฏิบัติการเลี้ยงปลาอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับกับการศึกษาของกิตติพงศ์และคณะ (2553) ที่พบว่าปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความสำเร็จในการเลี้ยง ปลานิลของเกษตรกรในอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความสำเร็จในการเลี้ยง

ปลานิลของเกษตรกรคือ ประสบการณ์ในการเลี้ยงปลา ขนาดพื้นที่บ่อเลี้ยงปลา จำนวนบ่อที่ใช้เลี้ยงปลา นั้นสื่ การติดต่อกับเจ้าหน้าที่ชมรมผู้เลี้ยงปลา ส่วนปัจจัยเชิง ลบกับความสำเร็จในการเลี้ยงปลานิลของเกษตรกรคือ รายได้ทั้งหมดของครัวเรือน

ลักษณะรูปแบบการเพาะเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ บ้านปงหลวง เป็นการรับซื้อลูกปลาแรกเกิดขนาดเล็กไม่ เกิน 1 เซนติเมตรพันธุ์ต่าง ๆ จากแหล่งพื้นที่ต่าง ๆ ที่มี ฟาร์มเพาะพันธุ์ปลามาเลี้ยงเพื่ออนุบาลให้มีขนาดโตขึ้น จะมีขนาดยาวประมาณ 2-5 เซนติเมตร เพื่อรอจัด จำหน่ายให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาเพื่อบริโภค เรียก วิธีการนี้ว่าการชำ (nursery) เพื่อจำหน่าย โดยลูกปลาที่ นำมาเลี้ยงเป็นปลาน้ำจืดที่เลี้ยงไว้บริโภคเป็นส่วนใหญ่ อาทิเช่น ปลานิล ปลาดุก ปลาเทโพ ปลาขาวจันทน์ ปลาดุก- บิ๊กกุก ปลาไน ปลาสวาย ปลาจีน ปลาเยือกเทศ ปลาแรด ปลาสร้อย ปลาหมอเทศ ปลาสลิด ปลาทราย ปลาตดคัง ปลาบู่ และปลากะตัก บางฟาร์มอาจมีปลาพันธุ์ชนิดอื่น เช่น ปลานิล ปลาเพี้ย หรือปลาสร้อยงาม เช่น ปลาแพนซี- คาร์ฟ เพื่อให้มีสินค้าหลากหลาย มีลูกปลาบางพันธุ์ เท่านี้ที่เกษตรกรบางฟาร์มเพาะพันธุ์เองได้ ได้แก่ ปลา นิล ปลาดุก ปลาเทโพ และปลานิลจันทน์ โดยใช้การผสม เทียมพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดินที่เตรียมไว้ ซึ่งต่างจาก การศึกษาของฐานันท์ และคณะ (2552) ซึ่งศึกษา เปรียบเทียบระบบการเพาะพันธุ์ปลานิล โดยดำเนินการ เลี้ยงในบ่อดิน บ่อซีเมนต์ และกระชังแขวนลอยในบ่อดิน เพื่อการผลิตลูกปลานิลเชิงพาณิชย์พบว่าเกษตรกรผู้ เพาะพันธุ์ปลานิลในกระชังแขวนลอยในบ่อดินดีที่สุด ส่วนลูกปลา

พันธุ์อื่นนอกเหนือจากนี้เกษตรกรจะไปรับจากแหล่งผลิตลูกปลาจากที่ต่าง ๆ ส่วนใหญ่เป็นฟาร์มเพาะพันธุ์ปลาแถบภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดพิจิตร สิงห์บุรี นครนายก และนครสวรรค์ ซึ่งเป็นที่ราบลุ่มน้ำดี อุดมสมบูรณ์และมีปลามากมายหลากหลายชนิด อีกทั้งสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศเอื้อต่อการเพาะพันธุ์ปลามากกว่าภาคเหนือ ซึ่งภูมิอากาศแปรปรวนกว่า เป็นฟาร์มเพาะพันธุ์ปลาที่มีประสิทธิภาพและเทคโนโลยีสูงว่า นอกจากนี้พบว่ามีการไปรับซื้อลูกปลาจังหวัดใกล้เคียง เช่น พะเยา หรือทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของเพ็ญพรรณและคณะ (2551) ที่รวบรวมความรู้และประสบการณ์ด้านระบบการตลาดข้อตกลงสินค้าสัตว์น้ำของไทย พบว่าระบบการตลาดข้อตกลงในสัตว์น้ำจืดส่วนมากเป็นระบบการผลิตปลานิลที่ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ 1) โรงเพาะฟักปลานิลแปลงเพศ 2) ฟาร์มชำปลานิลรุ่น 3) การเลี้ยงปลาเนื้อที่มีทั้งในบ่อและในกระชัง ซึ่งอาจเป็นเพราะรูปแบบของการเพาะเลี้ยงของบ้านปงหลวงเป็นระดับชุมชนหรือท้องถิ่น มิใช่การผลิตในระดับอุตสาหกรรม สาเหตุที่เกษตรกรบ้านปงหลวงไม่เพาะพันธุ์ลูกปลาเองเนื่องจากสาเหตุหลายประการ อาทิเช่นเกษตรกรมีพื้นที่ดินเป็นของตนเองน้อย พันธุ์ปลาบางชนิดที่ไม่สามารถเพาะพันธุ์ได้ ไม่มีอาหารลูกปลาราย่อยอ่อนบางชนิด เช่น ไรแดง ทำให้เกษตรกรแก้ปัญหาโดยการเหมากรไปรับซื้อลูกปลาขนาดเล็กประมาณไม่เกิน 1 เซนติเมตรพันธุ์ต่าง ๆ มาเลี้ยงอนุบาลในบ่อดินที่เกษตรกรมีและเลี้ยงให้มีขนาดใหญ่ขึ้น ใช้ระยะเวลาประมาณ 1 เดือน จึงเริ่มนำออกจำหน่าย หรือเมื่อลูกปลามีขนาดประมาณ 2 เซนติเมตรขึ้นไป โดยย้ายลูกปลาที่เตรียมจำหน่ายมาเลี้ยงหรือขังในบ่อซีเมนต์ เพื่อรอลูกค้าซึ่งคือเกษตรกรที่เลี้ยงปลาเพื่อบริโภคนำไปเลี้ยงอีกต่อหนึ่ง

นอกจากการชำลูกปลาแล้ว เกษตรกรบ้านปงหลวงบางรายมีการจำหน่ายอาหารปลาสำเร็จรูป เวชภัณฑ์ และ/หรือธุรกิจที่เกี่ยวข้องกับการเกษตรอื่น ๆ เช่น การขายเมล็ดพันธุ์ข้าว การเพาะเห็ด เป็นต้น จากการสอบถามพบว่า การชำปลาลักษณะนี้ใช้ระยะเวลาสั้น ต้นทุนและค่าใช้จ่ายในการผลิตไม่สูงนัก ถึงแม้ว่าจะมีอัตราการสูญเสียจากการตายของลูกปลาและค่าเหมากร

เพื่อเดินทางไปยังแหล่งเพาะพันธุ์ แต่โดยรวมเกษตรกรก็ยอมรับได้ โดยพยายามลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำ เพิ่มช่องทางสินค้าจำหน่ายอาหารสำเร็จรูปสัตว์น้ำ และขายเมล็ดพันธุ์ข้าวก็สามารถยังชีพและมีกำไรบ้าง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของสัญญาและคณะ (2559) ที่ศึกษารูปแบบธุรกิจชุมชนกรณีกลุ่มเลี้ยงปลากะชังและกลุ่มสหกรณ์เพาะเลี้ยงพันธุ์ปลาอำเภอโกสุมพิสัย จังหวัดมหาสารคาม ที่สรุปว่าการบริหารจัดการการเพาะเลี้ยงปลาเป็นอาชีพเสริมที่สามารถสร้างรายได้ และสร้างความเจริญก้าวหน้าให้กับตนเองและท้องถิ่น โดยการให้ความรู้และแนะนำคนในท้องถิ่นเพาะเลี้ยงปลานิล และพัฒนาอาชีพการเพาะเลี้ยงปลานิลร่วมกับกรมประมง โดยใช้หลักเศรษฐกิจพอเพียง ด้วยความมุ่งมั่นที่จะพัฒนาประโยชน์ต่อสังคม ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิล ให้เป็นอาชีพที่ยั่งยืนในชุมชนตลอดไป อาชีพหลักของชุมชน/กลุ่มคือทำนา ส่วนอาชีพรองของชุมชน/กลุ่มคือเลี้ยงปลาเป็นการผลิตสินค้าและบริการเพื่อตอบสนองความต้องการของชุมชนเป็นหลัก การบริหารเพื่อให้เกิดการเชื่อมโยงกิจกรรมการผลิตหรือบริการมีความสัมพันธ์กันเกื้อกูลกัน และส่งเสริมซึ่งกันและกัน ขณะที่เราช่วยและคณะ (2556) ศึกษาสภาพะของการผลิตและการตลาดของธุรกิจปลานิลเชิงการค้าจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดเชียงราย พบว่าเกษตรกรยังขาดการจัดการใช้คุณค่าปลานิล มีปัญหาด้านเงินทุน ปัจจัยการผลิต ปัญหาโรคปลา ปัญหาปลานิลอดซึ่งส่งผลต่อต้นทุนและผลตอบแทนของการเลี้ยงปลานิล

ปัญหาและอุปสรรคของการเพาะเลี้ยงปลาที่พบในงานวิจัยนี้คือ เกษตรกรให้ความสำคัญมากต่อปัญหาด้านราคาอาหารและการให้อาหาร ด้านสิ่งแวดล้อม และด้านการอนุบาลลูกปลา ซึ่งต่างจากการศึกษาของดวงตาวันและคณะ (2557) ที่สรุปว่าปัญหาอุปสรรคของเกษตรกรอำเภอชัยวานัน นครหลวงเวียงจันทน์ สาธารณประชาธิปไตยประชาชนลาว มี 4 ด้าน คือ ด้านการเตรียมบ่อ ด้านการทำน้ำเขียว ด้านอาหารและการให้อาหาร อยู่ในระดับปานกลาง ในขณะที่ด้านโรคและป้องกันโรคอยู่ในระดับน้อย ซึ่งแตกต่างจากปรีชาและคณะ (2554) รายงานปัจจัยที่มีผลต่อการปฏิบัติในการเลี้ยงปลากินพืชในบ่อดินของเกษตรกรในจังหวัดสกล พบว่าโรคและศัตรูปลาเป็น

ปัญหาที่ร้ายแรงที่สุด ปัญหาน้ำท่วมและปัญหารับซื้อผลผลิตเป็นปัญหาที่เกษตรกรให้ความสนใจมากที่สุด โดยเฉพาะช่วงปลาเจริญเติบโตใกล้จะจับขาย สอดคล้องกับการศึกษาของบันเทิง (2555) ที่ศึกษาปัญหาการเพาะเลี้ยงปลากัดและหาแนวทางการเพาะเลี้ยงปลากัดเชิงพาณิชย์ของเกษตรกร ตำบลบางม่วง อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ พบว่าเกษตรกรมีปัญหาด้านการป้องกันรักษาโรค อาหารและการให้อาหาร และคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอยู่ในระดับมาก ระดับปานกลาง คือ การเพาะพันธุ์ปลา การเลี้ยง และการอนุบาลลูกปลา ส่วนอันดับต่ำสุดคือการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ ในขณะที่เพ็ญพรรณและคณะ (2551) พบว่าปัญหาของระบบการผลิตปลานิลคือ 1) การขาดความแน่นอนของการผลิต 2) ขาดมาตรฐานคุณภาพผลผลิต 3) ขาดการควบคุมราคาผลผลิต 4) ขาดเงินทุน 5) ขาดนโยบายรัฐที่ชัดเจนเพื่อใช้วางแผนและปฏิบัติงานในทุกขั้นตอน ส่วนด้านการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เป็นด้านที่เกษตรกรบ้านปงหลวงคิดว่าเป็นปัญหาอุปสรรคน้อยที่สุด ซึ่งเป็นเพราะเกษตรกรมิได้เพาะเลี้ยงปลาแบบครบวงจร ที่จะต้องมีการเพาะพันธุ์ ซึ่งต้องอาศัยความรู้ เทคโนโลยีและประสบการณ์มากขึ้น

เรื่องที่เกษตรกรบ้านปงหลวงให้ความสำคัญมากอีกเรื่องหนึ่งคือสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะภูมิอากาศที่บางฤดูกาลมีปัญหาเรื่องโรคปลามาก สอดคล้องกับการศึกษาของสุรินทร์และภคินิจ (2553) เรื่องการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ น้ำแบบเฉียบพลันก่อให้เกิดความเครียดต่อสัตว์น้ำ ซึ่งส่งผลเสียต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาและสุขภาพปลา ในขณะที่การศึกษาของพิมพ์พร (2555) ที่ศึกษาผลกระทบการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศต่อคุณภาพน้ำทางเคมี กายภาพและการเจริญเติบโตของปลานิลในบ่อเลี้ยงเชิงพาณิชย์ 2 แบบ ในตำบลแม่แก้ว อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ตั้งแต่พ.ศ. 2550 ถึง พ.ศ. 2555 ระหว่างบ่อรองพื้นพลาสติกกับบ่อดินที่ไม่รองพื้น พบว่าบ่อรองพื้นพลาสติกนั้นอุณหภูมิอากาศมีอิทธิพลโดยตรงต่อคุณภาพน้ำทางเคมีและกายภาพอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ แต่ไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักและขนาดของปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับบ่อดินไม่รองพื้นพบว่าอุณหภูมิอากาศไม่มีอิทธิพลต่ออุณหภูมิ

โดยตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักและความยาวของปลานิลด้วย แต่ปริมาณน้ำฝนกลับมีอิทธิพลโดยตรงต่อคุณภาพน้ำทั้งทางเคมีและกายภาพอย่างมีนัยสำคัญ แต่กลับไม่มีอิทธิพลต่อความยาวและน้ำหนักของปลานิลอย่างมีนัยสำคัญ สรุปคืออุณหภูมิอากาศไม่มีอิทธิพลต่ออุณหภูมิ น้ำโดยตรงอย่างมีนัยสำคัญ และไม่มีผลโดยตรงต่อน้ำหนักและความยาวของปลาอย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณน้ำฝนมีอิทธิพลต่อคุณภาพน้ำทางกายภาพและทางเคมีอย่างมีนัยสำคัญ

สิ่งที่เกษตรกรบ้านปงหลวงต้องการพัฒนาในด้านการผลิตมากคือ ต้องการชนิดลูกปลาที่มีความหลากหลาย ลูกปลาที่มีคุณภาพดีแข็งแรง ขนาดตัวสม่ำเสมอ ดังนั้นนักวิจัยหรือหน่วยงานภาครัฐควรสนับสนุนและส่งเสริมการเพาะเลี้ยงโคพีพอดเพื่อการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่จะประสบความสำเร็จในการผลิตลูกพันธุ์สัตว์น้ำเพื่อใช้เลี้ยงให้ได้ขนาดตามความต้องการของตลาด (พงศธร, 2558) ความต้องการพัฒนาด้านที่นอกเหนือจากการผลิตเกษตรกรมีความต้องการปานกลาง เนื่องจากเกษตรกรมีการช่วยตัวเองตลอดจนการปรับตัวได้พอสมควรเนื่องจากส่วนใหญ่ทำการเพาะเลี้ยงแบบมานานแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับกิตติพงศ์และคณะ (2553) ที่สรุปว่าปัจจัยที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความสำเร็จในการเลี้ยงปลานิลคือประสบการณ์ในการเลี้ยงปลา

สรุป

จากการศึกษาทำให้ทราบว่าหมู่บ้านปงหลวงเป็นแหล่งจำหน่ายลูกพันธุ์ปลาน้ำจืดหลังหำ มีความยาวลำตัวของปลาขนาด 2-5 เซนติเมตรให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาเพื่อบริโภคเป็นหลัก ปัญหาและอุปสรรคของการเพาะเลี้ยงปลาที่พบในงานวิจัยนี้คือ ปัญหาอาหารสำเร็จรูปที่ใช้เลี้ยงปลาที่มีราคาแพง และอาหารสำหรับเลี้ยงลูกปลาบางชนิดหายากในท้องถิ่น เกษตรกรไม่สามารถผลิตอาหารลูกปลาได้เองจำเป็นต้องซื้อ และอาหารสำเร็จรูปมีราคาแพง ทำให้มีต้นทุนการผลิตสูง และปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะเรื่องภูมิอากาศที่แปรปรวนซึ่งมีผลกระทบรุนแรงต่อลูกปลาวัยอ่อน

เกษตรกรเองส่วนใหญ่มีการปรับตัวได้เนื่องจากส่วนใหญ่ทำฟาร์มเพาะเลี้ยงมานาน ดังนั้นแนวทางการพัฒนาพื้นที่บ้านปางหลวงให้เป็นที่ทราบว่าเป็นแหล่งสำคัญของการอนุบาลลูกปลา องค์การบริหารส่วนท้องถิ่นควรจัดการส่งเสริมการตลาดหรือการประชาสัมพันธ์ให้พื้นที่นี้เป็นพื้นที่หลักในการเพาะอนุบาลลูกปลาพันธุ์ต่าง ๆ เพื่อให้เกษตรกรหรือประชาชนในจังหวัดเชียงรายและจังหวัดใกล้เคียงได้ทราบ และมารับซื้อเพื่อนำไปเลี้ยงเพื่อการบริโภคต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงรายที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงรายที่ช่วยเหลือในการจัดสัมมนาอบรมเกษตรกร และเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำบ้านปางหลวง ตำบลเวียงชัย อำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงรายที่กรุณาเอื้อเฟื้อข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง. 2556. สถิติประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2556. เอกสารฉบับที่ 7/2558.
- กิตติพงศ์ คำคง. 2553. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับความสำเร็จในการเลี้ยงปลานิลของเกษตรกรอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 157 หน้า.
- เกตุณภัส ศรีโพธิ์โรจน์ รุ่งกานต์ กล้าหาญ พงศ์นิรันดร์ เมฆขุนทด และ ทองอยู่ อุดเลิศ. 2556. การเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสายพันธุ์ปลานิลที่เลี้ยงในจังหวัดพะเยา. วารสารเกษตร 29(2): 137-144.
- ดวงตาวัน ศรีสมบัติ นครศร รั้งควัต พหล ศักดิ์คะทัศน์ และ สายสกุล ฟองมูล. 2557. ปัจจัยที่มีผลต่อการปฏิบัติการเลี้ยงปลาของเกษตรกรในอำเภอชัยธานี นครหลวงเวียงจันทน์ สาธารณรัฐ

ประชาธิปไตยประชาชนลาว. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 8(1): 128-137.

- บรรเทิง โชติพวง. 2555. แนวทางการเพาะเลี้ยงปลากัดเชิงพาณิชย์ของเกษตรกร ตำบลบ้านม่วง อำเภอเมืองนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล : www.fisheries.go.th/fpo-nakhonsawan/700.pdf. (29 มกราคม 2558).
- ปรีชา พาชื่นใจ วชิรินทร์ รัตนชู และ วริทธิ์ธร จันทนะ. 2554. ปัจจัยที่มีผลต่อการปฏิบัติในการเลี้ยงปลากินพืชในบ่อดินของเกษตรกรในจังหวัดสตูล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2556. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 85 หน้า.
- ฐานันท์ สุจริต เรืองวิญญู ยืนพันธ์ ประพันธ์ศักดิ์ ศิริระภูมิ สุบรรณ เสถียรจิตร และ ชัตรชัย ไทยทุ่งจีน. 2552. การศึกษาเปรียบเทียบระบบการเพาะพันธุ์ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ในบ่อดิน บ่อซีเมนต์ และในกระชังแขวนลอยในบ่อดิน เพื่อผลิตลูกปลานิลเชิงพาณิชย์. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาประมง. 434-443.
- พงศธร จันทรัตน์. 2558. การเพาะเลี้ยงโคฟีพอดเพื่อการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนในโรงเพาะฟัก. วารสารเกษตร 31(2): 225-239.
- พิมพ์พร มณฑิยาธราสน์. 2555. ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อคุณภาพน้ำทางเคมีและกายภาพในบ่อเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์ ตำบลแม่เกิด อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว สุภัทรา อุไรวรรณ และ อาภรณ์ โพธิ์พงษ์ศิริวัฒน์. 2551. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่อง การรวบรวมความรู้และประสบการณ์ระบบตลาดข้อตกลง (contract Farming) ในประเทศไทย: กรณีศึกษาปลานิล. ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.). 145 หน้า.
- เริงชัย ต้นสุชาติ อารีย์ เชื้อเมืองพาน ธรณชนก คำแก้ว และ ชนิตา พันธุ์มณี. 2556. ห่วงโซ่คุณค่าของ

- ปลานิลในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย.
รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- สัญญา เคนาภูมิ เสาวลักษณ์ โกศลกิตติอัมพร และ
ภักดี โพธิ์สิง. 2559. รูปแบบการบริหารจัดการ
ธุรกิจชุมชน กรณีกลุ่มเลี้ยงปลากระชังและกลุ่ม
สหกรณ์เพาะเลี้ยงพันธุ์ปลาอำเภอโกสัมพีนธ์
จังหวัดมหาสารคาม. วารสารวิจัยและพัฒนา
วไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขา
มนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์. 11(1): 35-43.
- สุรินทร์ บุญอนันตสร และ ภคินิจ คุปพิทยานันท์.
2553. ผลของการเพิ่มวิตามินซีและวิตามินอีใน
อาหารปลาดุกต่อการเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคในสภาพ
การเลี้ยงที่อุณหภูมิน้ำ. รายงานวิจัยฉบับ
สมบูรณ์มหาวิทยาลัยสุรนารี. 89 หน้า.
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและ
สหกรณ์. 2554. การศึกษาเศรษฐกิจการตลาด
ปลาสวยงาม. เอกสารวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร
เลขที่ กันยายน 2554. กระทรวงเกษตรและ
สหกรณ์. 105 หน้า.
- สำนักงานประมงจังหวัดเชียงราย. 2556. สถิติการประมง.
(ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล :
[http://www.fisheries.go.th/fpo-
chiangrai/statics/001.htm](http://www.fisheries.go.th/fpo-chiangrai/statics/001.htm). (10 กุมภาพันธ์
2558).

ผลของความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิดและวิธีการปั่นผสมต่อสมบัติของ สารสกัดแอสตาแซนทินที่กักเก็บในไลโปโซม

Effects of Phospholipid Concentration and Mixing Methods on Properties of Astaxanthin Extract-loaded Liposomes

อนันทิตา แสงสุริยวงษ์^{1/} มารุจ ลิ้มปะวัฒนะ^{2/} ดาลัด ศิริวัน^{3/} ภัศราภา แก้วเนิน^{4/}
และ วรณวิมล คล้ายประดิษฐ์^{1/*}

Anantita Sangsuriyawong^{1/}, Maruj Limpawattana^{2/}, Dalad Siriwan^{3/}, Passarapa Kaewnern^{4/}
and Wanwimol Klaypradit^{1/*}

^{1/}ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

^{1/}Department of Fishery Products, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900

^{2/}ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม กรุงเทพฯ 10160

^{2/}Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Bangkok 10160

^{3/}สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

^{3/}Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Bangkok 10900

^{4/}กองตรวจสอบรับรองมาตรฐานคุณภาพสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ กรมประมง 50 เขตคลองจั่น กรุงเทพฯ 10900

^{4/}Fish Inspection and Quality Control Division, Department of Fisheries, 50 Kaset-Klang Chatuchak, Bangkok 10900

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

(Received: 9 February 2016; Accepted: 24 June 2016)

Abstract: This study was aimed to improve stability of natural astaxanthin extracted from white shrimp shells (*Litopenaeus vannamei*) by using liposomal encapsulation technique. Three different concentrations of phospholipids at 0.8, 1.6 and 2.0% w/v together with two different mixing methods including homogenization and sonication were employed. Astaxanthin extract-loaded liposomes were investigated for entrapment efficiency (%EE), antioxidant activity determined by DPPH (2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) radical scavenging capacity and ferrous metal ion chelating activity, morphology of liposomes by using transmission electron microscopy (TEM) and properties changing during 8 weeks storage at 4 °C. It was found that %EE of liposomes prepared from 2.0% w/v phospholipids and mixed by sonication revealed the least decrease of %EE as compared to that of day 0. Antioxidant activity to eradicate DPPH free radicals and metal ion chelating activity of free astaxanthin was decreased by 76.7% and 56%, respectively which was much lower than that encapsulated in liposomes of all treatments as compared to that of day 0. TEM image of astaxanthin extract-loaded liposomes prepared by sonication demonstrated a lamellar structure. The results suggest the potential use of liposomal encapsulation to protect astaxanthin properties for further application.

Keywords: Astaxanthin, liposome, antioxidant, white shrimp shell

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเพิ่มความคงตัวให้กับแอสตาแซนทินธรรมชาติที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) โดยใช้เทคโนโลยีการกักเก็บด้วยไลโปโซม ซึ่งเตรียมจากฟอสโฟลิพิดที่มีปริมาณความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 3 ระดับ (0.8, 1.6 และ 2.0%w/v) และทำการบ่มผสมด้วยวิธีที่ต่างกัน 2 วิธี คือวิธีโฮโมจีไนเซชันและวิธีโซนิเคชัน สารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซมที่ได้นำไปวิเคราะห์สมบัติต่าง ๆ ได้แก่ ประสิทธิภาพในการกักเก็บ (%EE) ประสิทธิภาพในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ (ประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH และประสิทธิภาพการจับโลหะ) ลักษณะโครงสร้างของไลโปโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านและการเปลี่ยนแปลงของสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า ค่า %EE ของไลโปโซมที่เตรียมจากฟอสโฟลิพิดความเข้มข้น 2.0%w/v ที่บ่มผสมด้วยวิธีโซนิเคชัน ให้ %EE ลดลงน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับวันเริ่มต้น สำหรับประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH และในด้านประสิทธิภาพการจับโลหะของสารสกัดแอสตาแซนทินที่ไม่ได้กักเก็บในไลโปโซมพบว่าประสิทธิภาพลดลงถึง 76.7% และ 56% ตามลำดับ ซึ่งลดลงมากกว่าสารสกัดแอสตาแซนทินที่กักเก็บในไลโปโซมในทุกตัวอย่างเมื่อเทียบกับวันเริ่มต้น นอกจากนี้โครงสร้างภายใต้กล้อง TEM ของไลโปโซมที่บ่มผสมด้วยวิธีโซนิเคชันมีลักษณะเป็นโครงสร้างที่เรียงตัวซ้อนกัน ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การกักเก็บด้วยเทคนิคไลโปโซมนั้นสามารถช่วยป้องกันและรักษาสสมบัติของแอสตาแซนทินได้เพื่อนำไปใช้ต่อไป

คำสำคัญ: แอสตาแซนทิน ไลโปโซม สารแอนติออกซิแดนท์ เปลือกกุ้งขาว

คำนำ

แอสตาแซนทิน (astaxanthin) เป็นแคโรทีนอยด์ (carotenoid) กลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) ที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าเบตาแคโรทีน (β -carotene) ลูทีน (lutein) ซีแซนทิน (zeaxanthin) และแคนธาแซนทิน (canthaxanthin) ประมาณ 10 เท่า และมีประสิทธิภาพสูงกว่าวิตามินอีประมาณ 100 เท่า (Naguib, 2000) ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของแอสตาแซนทินมีทั้งส่วนที่มีขั้ว และไม่มีขั้วในโมเลกุลจึงทำให้สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและน้ำมัน แต่ให้ประสิทธิภาพในการละลายในน้ำมันที่สูงกว่า ในทางการค้าพบว่า แอสตาแซนทินผลิตได้จากสองแหล่งหลักที่สำคัญคือจากการสังเคราะห์ และจากธรรมชาติ (พิเชต, 2558) โดยที่แอสตาแซนทินจากธรรมชาติที่มีจำหน่ายในท้องตลาดปัจจุบัน ส่วนใหญ่ผลิตได้จากสาหร่ายที่สำคัญคือสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ดังนั้นการศึกษาเพื่อหาแหล่งวัตถุดิบในการผลิตแอสตาแซนทินจากธรรมชาติจากแหล่งอื่นจึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจ ซึ่งเศษเหลือจากอุตสาหกรรมกุ้งแช่แข็งเป็นแหล่งที่มีศักยภาพในการนำมาทำเป็นวัตถุดิบในการผลิตแอสตาแซนทิน เนื่องจากมีความเหมาะสมในด้านของปริมาณที่มีจำนวนมาก ราคา

วัตถุดิบที่ถูก และเป็นการเพิ่มมูลค่าในการใช้ประโยชน์จากเศษเหลืออุตสาหกรรมการผลิตกุ้งแช่แข็งให้มากขึ้น อีกทั้งแอสตาแซนทินที่ผลิตได้จากเศษเหลือของกุ้ง ยังไม่มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อจำหน่ายในทางการค้า

แอสตาแซนทินมีสมบัติด้านการเกิดออกซิเดชันได้ จึงนิยมนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารต่าง ๆ อย่างไรก็ตาม ปัญหาสำคัญที่พบเมื่อมีการประยุกต์ใช้แอสตาแซนทินในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ คือความไม่คงตัวเนื่องจากลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของแอสตาแซนทินที่มีความไม่อิ่มตัวสูง จึงทำให้แอสตาแซนทินเกิดการเสียสภาพได้ง่ายจากสภาวะแวดล้อม เมื่อได้รับแสง ความร้อน และออกซิเจน เป็นต้น ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษา

จากปัญหาดังที่กล่าวข้างต้น คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำไลโปโซมซึ่งเป็นเทคนิคหนึ่งของเทคโนโลยีเอนแคปซูลเลชันมาช่วยในการกักเก็บและเพิ่มความคงตัวให้กับแอสตาแซนทิน ทั้งนี้ไลโปโซมเป็นโครงสร้างขนาดเล็กของสารไขมันประเภทฟอสโฟลิพิดที่มีสมบัติเป็น amphipathic คือโครงสร้างมีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว เมื่อปริมาณความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิดที่มากพอผสมกับน้ำ โมเลกุลส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะรวมเป็นกลุ่ม

เข้าหากัน ในขณะที่ส่วนที่ชอบน้ำจะยึดเกาะกับน้ำ ซึ่งเกิดการเรียงเป็นแถวของโมเลกุลไขมันซ้อนกันเป็นผนังสองชั้น (lipid bilayer) ได้มากกว่าหนึ่งชุด (Kraft *et al.*, 2014) ซึ่งมีผลทำให้สามารถกักเก็บสารทั้งประเภทที่ละลายได้ในน้ำ และละลายได้ในไขมัน เนื่องจากฟอสโฟลิพิดมีความปลอดภัย ไม่เป็นพิษ และมีโครงสร้างคล้ายกับองค์ประกอบของเซลล์เมมเบรนในร่างกายมนุษย์ จึงมีผลดีในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่ง และดูดซึมสารสำคัญต่าง ๆ ในร่างกายได้ (Kraft *et al.*, 2014) สำหรับการเตรียมไลโปโซมในปัจจุบันส่วนใหญ่จะใช้เครื่อง sonicator ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิดและวิธีการเตรียมไลโปโซมโดยเปรียบเทียบการใช้เครื่อง sonicator และเครื่อง homogenizer ต่อประสิทธิภาพการกักเก็บแอลตาแซนทินและสมบัติการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ของสารสกัดแอลตาแซนทินในไลโปโซม

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบ

เปลือกกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) จากบริษัท ไทยยูเนี่ยน โฟรเซ่น โปรดักส์ จำกัด (มหาชน) จังหวัดสมุทรสาคร

ฟอสโฟลิพิดที่มีปริมาณฟอสฟาติดิลโคลีน 23% (PC=23%) (Ultralec F, ADM, USA)

วิธีการ

1) การสกัดแอลตาแซนทินจากเปลือกกุ้งขาว

การสกัดแอลตาแซนทินจากเปลือกกุ้งขาว (ดัดแปลงจากวิธีของ Sachindra *et al.*, 2006) ทำโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยนำเปลือกกุ้งมาปั่นกับเอทานอลในอัตราส่วนของเปลือกกุ้งต่อเอทานอล 1:2 (w/v) หลังจากนั้นนำไปกรองเอาเปลือกกุ้งออกด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ แล้วนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ นำสารสกัดที่ได้ใส่ในขวดสีชาและทำการไล่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจน และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2) การวิเคราะห์สมบัติของสารสกัด

2.1) การคำนวณปริมาณของสารสกัด

คำนวณน้ำหนักของสารสกัดที่ได้ โดยคำนวณในอัตราส่วนน้ำหนักของสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักเปลือกกุ้งขาวที่ใช้ในการสกัด แสดงดังสมการที่ (1)

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณของสารสกัด} &= \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง}}{\text{น้ำหนักเปลือกกุ้งเริ่มต้น}} \times 100 \\ (\% \text{ Yield}) & \end{aligned} \quad \text{----สมการที่ (1)}$$

2.2) การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสกัดแอลตาแซนทิน

วิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสกัดแอลตาแซนทินด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) ดัดแปลงจากวิธีของ Higuera-Ciapara *et al.* (2004) ทำโดยนำสารสกัดแอลตาแซนทินปริมาณ 1 กรัม ไปละลายในสารละลายผสมของไดคลอโรมีเทนและเมทานอลในอัตราส่วน 25:75 (HPLC grade) แล้วนำไปกรองด้วย membrane filter ขนาด 0.45 μm หลังจากนั้นนำสารตัวอย่างฉีดเข้าเครื่อง HPLC ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร และใช้คอลัมน์ชนิด C18 ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ (mobile phase) คือสารละลายที่มีเมทานอล 85% ไดคลอโรมีเทน 5% อะซิโตนไตรีน 5% และน้ำ 5% ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการวัดปริมาณแอลตาแซนทินโดยใช้ detector (Agilent LC 1200 Series) ที่ detection wavelength 480 นาโนเมตร เป็นเวลา 25 นาที และปริมาณของแอลตาแซนทินที่ออกมาจะทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแอลตาแซนทิน (Ehrenstorfer GmbH, Germany)

2.3) การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นแอนติออกซิแดนท์ของสารสกัดแอลตาแซนทิน

2.3.1) ประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) (DPPH) radical scavenging)

การวิเคราะห์สมบัติแอนติออกซิแดนท์โดยวิธี DPPH ดัดแปลงจากวิธีของ Wu *et al.* (2003) ทำโดยนำสารสกัดแอลตาแซนทินมาละลายในเมทานอล จากนั้นจึงนำมาเติมสารละลาย DPPH ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง

ด้วยเครื่อง 96 well microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับเบตาแคโรทีนซึ่งเป็น positive control แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH แสดงดังสมการที่ (2)

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{\text{control}} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank sample}})) / A_{\text{control}}] \times 100$$

-----สมการที่ (2)

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ในเมทานอล

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และสารละลายของสารสกัด แอสตาแซนทิน

$A_{\text{blank sample}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ สารละลายของสารสกัดแอสตาแซนทิน

2.3.2) ประสิทธิภาพในการจับโลหะ (ferrous ion chelating (FIC) assay)

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการจับโลหะโดยวิธี Ferrous ion chelating ดัดแปลงจากวิธีของ Dinis *et al.* (1994) โดยละลายสารสกัดแอสตาแซนทินในเมทานอล จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย ferrozine และสารละลาย FeCl_2 ในปริมาตรที่เท่ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับ EDTA ซึ่งเป็น positive control แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาร้อยละในการจับโลหะ (% chelating ability) แสดงดังสมการที่ (3)

$$\% \text{ Chelating ability} = [(A_{\text{control}} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank sample}})) / A_{\text{control}}] \times 100$$

-----สมการที่ (3)

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย FeCl_2 และสารละลาย ferrozine

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายของสารสกัดแอสตาแซนทินที่ใส่สารละลาย FeCl_2 และสารละลาย ferrozine

$A_{\text{blank sample}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายของสารสกัดแอสตาแซนทิน

3) การเตรียมไลโปโซมเพื่อกักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทิน

การเตรียมไลโปโซมใช้วิธี thin film hydration ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Pintea *et al.* (2005) โดยใช้ฟอสโฟลิพิดที่ระดับความเข้มข้น 0.8, 1.6 และ 2.0% w/v โดยนำฟอสโฟลิพิดมาละลายในเอทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เมื่อละลายเข้ากัน จึงเติมสารสกัดแอสตาแซนทินปริมาณ 0.8 กรัม ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศจนได้ฟิล์มบางของฟอสโฟลิพิด จากนั้นเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตรลงบนฟิล์มบางของ ฟอสโฟลิพิด แล้วเขย่าที่อุณหภูมิ 40°C เป็นระยะเวลา 30 นาที หลังจากนั้นปั่นผสมด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 2 วิธี ได้แก่ (1) วิธีโฮโมจีไนเซชัน (homogenization) โดยใช้เครื่อง homogenizer (IKA-T25, Ultra-Turrax) ที่ความเร็วรอบ 16,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ในขณะที่ปั่นด้วยเครื่อง homogenizer จะร่อนน้ำแข็งตลอดการปั่นเพื่อช่วยควบคุมอุณหภูมิ และ (2) วิธีโซนิเคชัน (sonication) โดยนำสารตัวอย่างไปตั้งไว้ในอ่าง sonicator (Crest) ที่ 38.5 kHz เป็นเวลา 30 นาที (ทำที่อุณหภูมิห้อง 25°C)

4) การวิเคราะห์สมบัติของสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซม

4.1) ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซม

นำไลโปโซมที่เตรียมได้จากข้อ (3) มาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บแอสตาแซนทิน โดยนำไลโปโซมไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที (ดัดแปลงจากวิธีของ Marsanasco *et al.*, 2011) หลังจากนั้นนำไลโปโซมมาทำให้แตกโดยใช้สารละลาย triton X-100 (10% v/v) เพื่อให้ไลโปโซมปลดปล่อยสารสกัดแอสตาแซนทินที่ถูกกักเก็บไว้ออกมา และนำมาวิเคราะห์ปริมาณแอสตาแซนทิน โดยใช้เทคนิค HPLC รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในข้อ (2.2) แล้วคำนวณหาปริมาณแอสตาแซนทินที่ถูกกักเก็บในไลโปโซม และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทินดังสมการที่ (4)

$$\text{ประสิทธิภาพการกักเก็บ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณแอสตาแซนทีนในไลโปโซม}}{\text{ปริมาณแอสตาแซนทีนเริ่มต้นที่เติมลงไปทั้งหมด}} \times 100$$

-----สมการที่ (4)

4.2) ประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นแอนติออกซิแดนท์ของสารสกัดแอสตาแซนทีนที่กักเก็บในไลโปโซม

4.2.1) ประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูล DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging)

การวิเคราะห์สมบัติแอนติออกซิแดนท์โดยวิธี DPPH ของสารสกัดแอสตาแซนทีนที่กักเก็บในไลโปโซม รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังข้อ (2.3.1)

4.2.2) ประสิทธิภาพในการจับโลหะ (Ferrous ion chelating (FIC) assay)

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารสกัดแอสตาแซนทีนที่กักเก็บในไลโปโซม รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังข้อ (2.3.2)

5) การศึกษาลักษณะโครงสร้างของไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทีนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscopy, TEM)

การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทีน ทำโดยหยดสารละลายไลโปโซมที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 10 เทาลงบนกริด (Formvar-carbon coated copper grid) แล้วย้อมตัวอย่างแบบ negative staining ด้วย uranyl acetate ความเข้มข้น 1% หลังจากนั้นนำกริดที่เตรียมไว้เข้าเครื่อง TEM (Hitachi HT7700) โดยถ่ายภาพขยายแบบไบรตฟิลด์ (bright field image) ที่ความต่างศักย์ 80 kV

6) การวิเคราะห์ความคงตัวของไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทีน

นำไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทีนใส่ในขวดสีชาและเติมก๊าซไนโตรเจน เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในระหว่างการเก็บรักษา ได้ทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการกักเก็บ

แอสตาแซนทีนในไลโปโซม และประสิทธิภาพในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ รายละเอียดดังแสดงในข้อ (4) โดยทำการวิเคราะห์ทุก ๆ 1 สัปดาห์ จนครบระยะเวลา 8 สัปดาห์

7) การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการศึกษาค้นคว้านี้วางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) และวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ในการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองและวิจารณ์

1) ปริมาณของสารสกัดและความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนในสารสกัดจากเปลือกกุ้ง

สารสกัดที่ได้จากเศษเหลือเปลือกกุ้งขาว พบว่ามีปริมาณเท่ากับ 20.39 ± 1.02 มิลลิกรัมต่อเปลือกกุ้ง 1 กรัม ซึ่งค่าที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Taksima *et al.* (2015) ที่สกัดสารแอสตาแซนทีนจากเปลือกกุ้งชนิดเดียวกันด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าปริมาณสารที่สกัดได้เท่ากับ 24.66 ± 2.91 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักเปลือกกุ้ง 1 กรัม และเมื่อนำสารสกัดที่ได้จากเปลือกกุ้งไปวิเคราะห์ด้วย HPLC พบพีคของสารสกัดแอสตาแซนทีนที่นาที่ที่ 3.92 (ภาพที่ 1a) ซึ่งใกล้เคียงกับพีคของสารมาตรฐานแอสตาแซนทีน (นาที่ที่ 3.91 ภาพที่ 1b) ซึ่งเป็นการพิสูจน์ให้ทราบว่าสารสกัดที่ได้จากเปลือกกุ้งขาวมีองค์ประกอบของแอสตาแซนทีน และเมื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนในสารสกัด พบว่ามีค่าเท่ากับ 9.0 ± 0.27 มิลลิกรัมต่อสารสกัด 1 กรัม ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Yang *et al.* (2015) ที่วิเคราะห์ความเข้มข้นของสารแอสตาแซนทีนจากเปลือกกุ้งขาวที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบว่ามีความเข้มข้นเท่ากับ 8.72 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

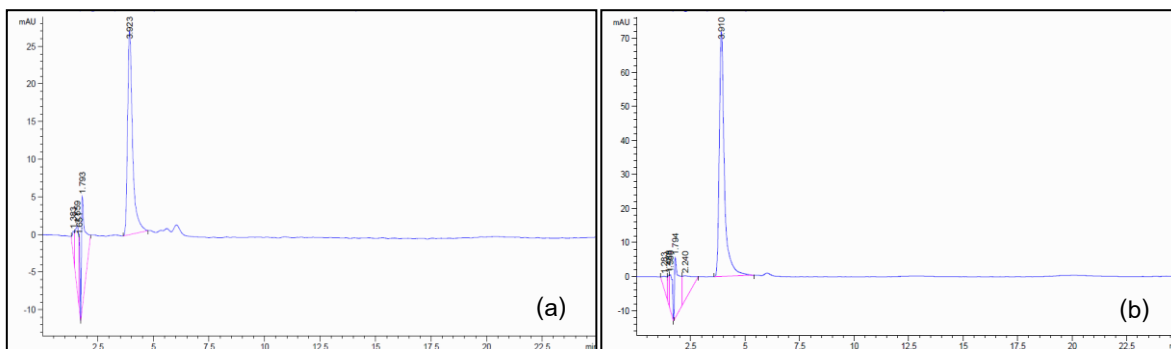


Figure 1 Chromatogram of (a) astaxanthin extract from white shrimp shell and (b) astaxanthin standard

2) ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซม

ผลการทดลองด้านประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซมที่ระดับความเข้มข้นและวิธีการบั่นผสมต่าง ๆ ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ได้แสดงเป็นค่า % entrapment efficiency (%EE) แสดงดังตารางที่ 1 พบว่าประสิทธิภาพการกักเก็บแอสตาแซนทินเริ่มต้น (วันที่ 0) มีค่าสูงกว่า 85% ในทุกตัวอย่างไลโปโซม โดยเมื่อเปรียบเทียบค่า %EE ของไลโปโซมที่ใช้วิธีการบั่นผสมแบบเดียวกัน พบว่าเมื่อใช้ปริมาณความเข้มข้นของฟอสโฟลิพิดเพิ่มมากขึ้น ค่า %EE ให้ค่าที่สูงขึ้นเช่นกัน ซึ่งไลโปโซมที่กักเก็บแอสตาแซนทินมีค่า %EE สูงที่สุดเมื่อใช้ฟอสโฟลิพิดที่ความเข้มข้น 2.0%w/v และเมื่อเก็บรักษาไลโปโซมเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าไลโปโซมที่เตรียมจากฟอสโฟลิพิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และบั่นผสมด้วยวิธีโฮโมจิไนเซชัน มีประสิทธิภาพในการกักเก็บแอสตาแซนทิน ลดลงคิดเป็นร้อยละ 26.3-53.8 ส่วนไลโปโซมที่บั่นผสมด้วยวิธีโซนิเคชัน มีประสิทธิภาพในการกักเก็บลดลงเพียงร้อยละ 23.4-34.0 เมื่อเทียบกับวันเริ่มต้น ดังนั้นจะเห็นว่าการบั่นผสมด้วยวิธีโซนิเคชัน ส่งผลให้ค่า %EE ลดลงน้อยกว่าการบั่นผสมด้วยวิธีโฮโมจิไนเซชัน โดยเฉพาะไลโปโซมที่เตรียมจากฟอสโฟลิพิดความเข้มข้น 2.0%w/v ให้ %EE ลดลงน้อยที่สุดภายหลังการเก็บรักษา 8 สัปดาห์ เมื่อเทียบกับวันเริ่มต้น ทั้งนี้การบั่นผสมด้วยวิธีโซนิเคชัน เป็นเทคนิคที่ใช้คลื่นเสียงในการลดขนาดอนุภาคของไลโปโซมโดยผ่านตัวกลางคือน้ำ และไม่ได้สัมผัสกับตัวอย่างโดยตรง ทำให้เกิดการจัดเรียงเป็น

ไลโปโซมได้ค่อนข้างสมบูรณ์ ดังจะเห็นได้จากภาพแสดงลักษณะโครงสร้างของไลโปโซมภายใต้กล้อง TEM (ภาพที่ 2b) ซึ่งคลื่นเสียงช่วยให้โมเลกุลของฟอสโฟลิพิดเกิดการจัดเรียงตัวในน้ำได้เสถียร โดยเสริมให้โมเลกุลของฟอสโฟลิพิดหันส่วนที่มีขั้วเข้าหาโมเลกุลของน้ำ และหันส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหากัน ส่วนการบั่นผสมด้วยวิธีโฮโมจิไนเซชัน เป็นการลดขนาดของอนุภาคในเฟสกระจายโดยใช้แรงเฉือนสูง และช่วยเพิ่มจำนวนของอนุภาค และสามารถทำให้เกิดการจัดเรียงตัวของไลโปโซมได้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการใช้แรงที่สูงอาจจะมีส่วนทำให้อนุภาคบางส่วนเกิดเป็นไลโปโซมที่ไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 2a) และมีผลต่อการลดลงของ %EE สำหรับงานวิจัยที่ศึกษาทางด้านการกักเก็บแอสตาแซนทินในไลโปโซมมีค่อนข้างน้อย โดย Peng *et al.* (2010) ได้ศึกษาการนำส่งแอสตาแซนทินสังเคราะห์เข้าสู่เซลล์ตับ Hep3B และ HepG2 โดยใช้เทคนิคการนำส่งไลโปโซม ซึ่งพบว่ามีปริมาณของแอสตาแซนทินอยู่ในไลโปโซมเท่ากับ 89.0 ± 8.6 มิลลิกรัมต่อกรัม และแอสตาแซนทินที่ถูกกักเก็บในไลโปโซมสามารถเข้าสู่เซลล์ได้ดีมากกว่าแอสตาแซนทินที่ไม่ผ่านการกักเก็บในไลโปโซม นอกจากนี้ มีผลงานวิจัยที่ศึกษากระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนทินโดยวิธีเอนแคปซูลเลชันวิธีอื่น เช่น งานวิจัยของ Shen and Quek (2014) ศึกษากระบวนการห่อหุ้มสารแอสตาแซนทินธรรมชาติทางการค้า (Bioastin) โดยใช้เทคนิค spray dry จากการศึกษพบว่ากระบวนการห่อหุ้มสารสามารถเพิ่มความคงตัวให้สารแอสตาแซนทินได้ โดยมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารสูงถึงร้อยละ 92.69-95.19 และเมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแอสตาแซนทินในสภาวะเร่ง

Table 1 Entrapment efficiency (%) of astaxanthin extract in liposomes prepared from different concentration of phospholipid and stored at 4 °C for 8 weeks

Method of mixing	Concentration of phospholipid (%w/v)	Entrapment efficiency (%EE)								
		Day 0	week 1	week 2	week 3	week 4	week 5	week 6	week 7	week 8
homogenization	0.8	89.53 ^{Ca} ±0.38	86.34 ^{Cb} ±0.35	82.99 ^{Dc} ±0.54	81.21 ^{Bd} ±0.40	69.71 ^{Fe} ±0.33	51.08 ^{Df} ±0.43	49.02 ^{Dg} ±0.34	46.06 ^{Dh} ±0.68	44.90 ^{Di} ±0.57
	1.6	90.75 ^{Ba} ±0.47	88.72 ^{Bb} ±0.26	84.73 ^{Bc} ±0.48	81.16 ^{Bd} ±0.32	71.01 ^{Be} ±0.48	48.37 ^{Ef} ±0.38	46.20 ^{Es} ±0.63	43.07 ^{En} ±0.49	41.86 ^{Ei} ±0.49
	2.0	91.65 ^{Aa} ±0.30	89.29 ^{Ab} ±0.34	85.83 ^{Ac} ±0.55	83.38 ^{Ad} ±0.73	83.05 ^{Ad} ±0.51	71.13 ^{Af} ±0.29	69.91 ^{Ag} ±0.60	68.16 ^{Ah} ±0.67	67.48 ^{Al} ±0.81
sonication	0.8	86.14 ^{Ea} ±0.55	84.55 ^{Eb} ±0.10	82.00 ^{Ec} ±1.01	80.76 ^{Cd} ±0.40	72.80 ^{De} ±1.31	61.63 ^{Cf} ±1.27	60.02 ^{Cg} ±0.98	57.69 ^{Ch} ±0.73	56.79 ^{Di} ±1.19
	1.6	88.05 ^{Da} ±0.63	85.05 ^{Dh} ±0.60	83.01 ^{Cc} ±1.33	80.66 ^{Cd} ±0.56	75.08 ^{Ce} ±1.12	64.85 ^{Bi} ±1.24	63.37 ^{Bg} ±0.44	61.24 ^{Bh} ±0.70	60.42 ^{Bi} ±1.30
	2.0	88.24 ^{Da} ±0.72	86.35 ^{Ch} ±0.81	84.80 ^{Bc} ±1.21	83.36 ^{Ad} ±1.61	79.56 ^{Be} ±1.41	71.17 ^{Af} ±0.59	69.95 ^{Ag} ±0.78	68.21 ^{Ah} ±1.31	67.53 ^{Al} ±0.89

^{AB} Value with different letters within a column were significantly (p<0.05) different according to concentration of phospholipid and method of mixing

^{ab} Value with different letters within a row were significantly (p<0.05) different according to storage time

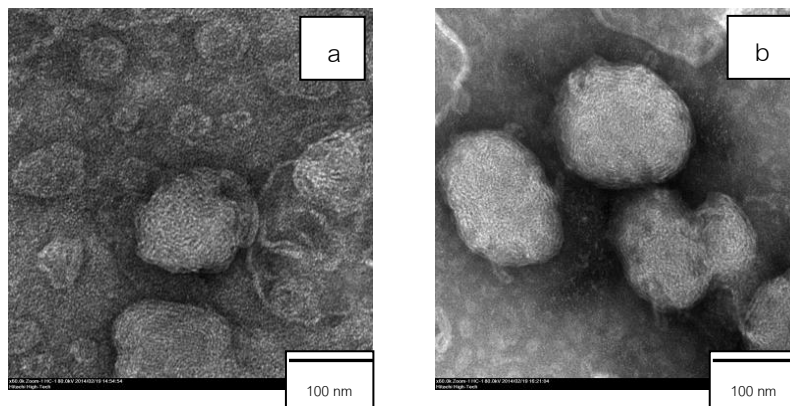


Figure 2 Transmission electron microscope images of liposomes (magnification: 60000x)

(a) liposome made from phospholipid 2.0 %w/v and mixed with homogenizer

(b) liposome made from phospholipid 2.0 %w/v and mixed with sonicator

พบว่าปริมาณของแอสตาแซนทินลดลงเล็กน้อยตลอด 10 วันที่ทำการทดลอง

3) ประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นแอนติออกซิแดนท์ของสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซม

3.1) ประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH จัดเป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระของสารแอนติออกซิแดนท์ โดยสารแอนติออกซิแดนท์จะทำหน้าที่ให้อนุมูลไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูล DPPH โดยตรง ส่งผลให้โครงสร้างของอนุมูล DPPH เปลี่ยนไปเป็นโครงสร้างที่ไม่ใช้อนุมูลอิสระ (Sanchez-Moreno *et al.*, 1999) โดยผลการทดลองเพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH แสดงผลการทดลองในค่าของ %Inhibition

ประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดแอสตาแซนทินและแอสตาแซนทินในไลโปโซมที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงดังตารางที่ 2 พบว่าประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดแอสตาแซนทินวันเริ่มต้นมีประสิทธิภาพสูงถึง 81.76% ซึ่งมีประสิทธิภาพที่สูงกว่าสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซมในทุกตัวอย่าง และเมื่อเก็บรักษาสารสกัดแอสตาแซนทินและแอสตาแซนทินในไลโปโซมเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดแอสตาแซนทินที่

ไม่ได้กักเก็บในไลโปโซมมีประสิทธิภาพลดลงคิดเป็นร้อยละ 76.7 และเบตาแคโรทีน (positive control) มีประสิทธิภาพลดลงคิดเป็นร้อยละ 79.8 ส่วนสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซมที่เตรียมจากฟอสโฟลิพิดทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นและปั่นผสมด้วยวิธีโฮโมจีไนเซชันมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ลดลงในช่วงร้อยละ 48.6-52.5 ส่วนแอสตาแซนทินในไลโปโซมที่เตรียมได้จากฟอสโฟลิพิดทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นที่ปั่นผสมด้วยวิธีโซโนเคชันมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 43.6-47.9 โดยเฉพาะไลโปโซมที่เตรียมจากฟอสโฟลิพิดที่ความเข้มข้น 2.0%w/v มีประสิทธิภาพลดลงน้อยที่สุดโดยลดลงเพียงร้อยละ 43.6 และจากผลการวิเคราะห์สมบัติการเป็นแอนติออกซิแดนท์ของสารสกัดแอสตาแซนทินธรรมชาติที่ได้จากเศษเหลือเปลือกกุ้งทั้งที่อยู่ในรูปแบบของสารสกัดและที่ถูกกักเก็บในไลโปโซมโดยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดแอสตาแซนทินมีสมบัติในการเป็น primary antioxidant คือเป็นสารที่สามารถหยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระได้ เนื่องจากแอสตาแซนทินมีลักษณะโครงสร้างที่ประกอบไปด้วยแกนไฮโดรคาร์บอนแบบโพลีอิน (polyene) และปลายทั้งสองข้างเป็นวงแหวนแบบปิดตรงปลายวงแหวนทั้งสองข้างมีออกซิเจนและหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ซึ่งสามารถให้อนุมูลไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระ (Liu and Osawa, 2007) ทำให้อนุมูลอิสระเหล่านั้นเปลี่ยนเป็นสารที่มีความเสถียร อีกทั้งลักษณะโครงสร้างแบบโพลีอินสามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้

เช่นกัน (Conn *et al.*, 1991) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sowmya and Sachindra (2012) ที่ศึกษาความสามารถในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ของแอสตาแซนทินที่สกัดจากเปลือกกุ้ง (*Penaeus indicus*) พบว่าแอสตาแซนทินมีประสิทธิภาพในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์สูงกว่าวิตามินอี (α -tocopherol)

3.2) ประสิทธิภาพในการจับโลหะ (ferrous ion chelating)

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการจับโลหะด้วยวิธี ferrous ion chelating (FIC) จัดเป็นการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันในบทบาทการเป็น secondary antioxidant โดยสารต้านออกซิเดชันจะทำให้เหล็กที่จับโลหะ (Fe^{2+}) ที่มีบทบาทในการเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระจำนวนมากขึ้นได้ (Gordon, 1990) โดยประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารสกัดแอสตาแซนทินและแอสตาแซนทินในไลโปโซมที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงดังตารางที่ 3 จากผลการทดลอง พบว่าประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารสกัดแอสตาแซนทินภายหลังการเตรียมมีประสิทธิภาพเท่ากับ 56.27% ซึ่งให้ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซม สำหรับ EDTA ซึ่งเป็น positive control มีประสิทธิภาพในการจับโลหะเริ่มต้นเท่ากับ 72.76 และเมื่อเก็บรักษาสารสกัดแอสตาแซนทินและสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซมนาน 8 สัปดาห์ พบว่าสารสกัดแอสตาแซนทินที่ไม่ผ่านการกักเก็บในไลโปโซมมีประสิทธิภาพการจับโลหะลดลงคิดเป็นร้อยละ 55.9 แตกต่างกับแอสตาแซนทินที่ถูกกักเก็บในไลโปโซม โดยไลโปโซมที่เตรียมจากฟอสโฟลิพิดทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นที่ปั่นผสมด้วยวิธีโฮโมจีไนเซชันมีประสิทธิภาพในการจับโลหะลดลงในช่วงร้อยละ 28.7-43.3 ส่วนไลโปโซมที่เตรียมได้จากฟอสโฟลิพิดทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นที่ปั่นผสมด้วยวิธีโซนิเคชันมีประสิทธิภาพในการจับโลหะลดลงในช่วงร้อยละ 32.1-41.6 สำหรับ EDTA มีประสิทธิภาพในการจับโลหะลดลงร้อยละ 45.5 อย่างไรก็ตาม โดยรวมพบว่าสารสกัดแอสตาแซนทินมีประสิทธิภาพในการเป็น secondary antioxidant ได้ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ

แอสตาแซนทินไม่จำเพาะกับการจับโลหะ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Senphan *et al.* (2014) ที่ศึกษาความสามารถในการจับอนุมูล DPPH และความสามารถในการจับโลหะของสารที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง พบว่าสารที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งมีความสามารถในการจับอนุมูล DPPH มากกว่าความสามารถในการจับโลหะ นอกจากนี้ยังพบว่าสมบัติของสารขึ้นอยู่กับสภาวะในการเก็บรักษา ซึ่งจากการทดลองได้ศึกษาสมบัติของสารสกัดแอสตาแซนทินเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ค่อนข้างต่ำ พบว่าสามารถรักษาสสมบัติของแอสตาแซนทินไว้ได้ ซึ่งมีรายงานสนับสนุนว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของแอสตาแซนทิน โดย Meléndez *et al.* (2006) ได้รายงานว่ปฏิกิริยาการสลายตัวของสารให้สีในกลุ่มแคโรทีนอยด์แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ การสลายตัวจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและการสลายตัวจากปฏิกิริยาไฮโดรเมไธเซน โดยปฏิกิริยาการสลายตัวทั้ง 2 แบบมีอุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งทำให้เกิดการสลายตัวได้เร็วขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pu *et al.* (2011) ที่ทดลองสกัดแอสตาแซนทินจากเศษเปลือกของกุ้ง (*Litopenaeus setiferus*) แล้วนำไปกักเก็บในโซเดียมเคซีเนตและแล็กโทส จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5, 25 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณแอสตาแซนทินในไมโครแคปซูลมีแนวโน้มลดลงตามอุณหภูมิการเก็บรักษาที่สูงขึ้น โดยมีปริมาณแอสตาแซนทินเหลืออยู่ในไมโครแคปซูลเท่ากับ 12.24, 10.88 และ 9.0 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

4) ลักษณะโครงสร้างของไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทิน

จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างของไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทินซึ่งเตรียมจากวิธีการปั่นผสมที่ต่างกันด้วยวิธีโฮโมจีไนเซชัน (ภาพที่ 2a) และวิธีโซนิเคชัน (ภาพที่ 2b) พบว่าสามารถทำให้เกิดการจัดเรียงตัวเป็นอนุภาคของไลโปโซมได้ทั้งสองวิธี อย่างไรก็ตามการเตรียมไลโปโซมด้วยวิธีโฮโมจีไนเซชัน มีผลทำให้ลักษณะอนุภาคบางส่วนเกิดการจัดเรียงเป็นไลโปโซมที่ไม่สมบูรณ์ ส่วนไลโปโซมที่ปั่นผสมด้วยวิธีโซนิเคชันให้ลักษณะการจัดเรียงตัวที่สมบูรณ์มากกว่าโดยมีลักษณะ

Table 2 Entrapment efficiency (%) of astaxanthin extract in liposomes prepared from different concentration of phospholipid and stored at 4 °C for 8 weeks

Method of mixing	Concentration of phospholipid (%w/v)	Entrapment efficiency (%EE)								
		Day 0	week 1	week 2	week 3	week 4	week 5	week 6	week 7	week 8
homogenization	0.8	89.53 ^{Ca} ±0.38	86.34 ^{Ch} ±0.35	82.99 ^{Dc} ±0.54	81.21 ^{Bd} ±0.40	69.71 ^{Fe} ±0.33	51.08 ^{Ff} ±0.43	49.02 ^{Dg} ±0.34	46.06 ^{Dh} ±0.68	44.90 ^{Di} ±0.57
	1.6	90.75 ^{Ba} ±0.47	88.72 ^{Bb} ±0.26	84.73 ^{Bc} ±0.48	81.16 ^{Bd} ±0.32	71.01 ^{Ec} ±0.48	48.37 ^{Ef} ±0.38	46.20 ^{Es} ±0.63	43.07 ^{En} ±0.49	41.86 ^{Ei} ±0.49
	2.0	91.65 ^{Aa} ±0.30	89.29 ^{Ab} ±0.34	85.83 ^{Ac} ±0.55	83.38 ^{Ad} ±0.73	83.05 ^{Ad} ±0.51	71.13 ^{Al} ±0.29	69.91 ^{Ag} ±0.60	68.16 ^{Al} ±0.67	67.48 ^{Al} ±0.81
sonication	0.8	86.14 ^{Ea} ±0.55	84.55 ^{Eb} ±0.10	82.00 ^{Ec} ±1.01	80.76 ^{Cd} ±0.40	72.80 ^{De} ±1.31	61.63 ^{Cf} ±1.27	60.02 ^{Cg} ±0.98	57.69 ^{Ch} ±0.73	56.79 ^{Ch} ±1.19
	1.6	88.05 ^{Da} ±0.63	85.05 ^{Db} ±0.60	83.01 ^{Cc} ±1.33	80.66 ^{Cd} ±0.56	75.08 ^{De} ±1.12	64.85 ^{Bf} ±1.24	63.37 ^{Bg} ±0.44	61.24 ^{Bh} ±0.70	60.42 ^{Bi} ±1.30
	2.0	88.24 ^{Da} ±0.72	86.35 ^{Ch} ±0.81	84.80 ^{Bc} ±1.21	83.36 ^{Ad} ±1.61	79.56 ^{Ba} ±1.41	71.17 ^{Al} ±0.59	69.95 ^{Ag} ±0.78	68.21 ^{Al} ±1.31	67.53 ^{Al} ±0.89

^{AB} Value with different letters within a column were significantly (p<0.05) different according to concentration of phospholipid and method of mixing

^{ab} Value with different letters within a row were significantly (p<0.05) different according to storage time

Table 3 Chelating effect on FIC of astaxanthin extract in liposomes prepared from different concentration of phospholipid and stored at 4 °C for 8 weeks

Method of mixing	Concentration of phospholipid (%w/v)	Chelating effect on FIC (%Chelating)								
		Day 0	week 1	week 2	week 3	week 4	week 5	week 6	week 7	week 8
astaxanthin extract	-	56.27 ^{Da} ±0.37	47.39 ^{Db} ±0.29	44.61 ^{Dc} ±0.26	39.27 ^{Ed} ±0.52	38.24 ^{De} ±0.44	37.63 ^{Df} ±0.42	33.52 ^{Fg} ±0.36	27.16 ^{Gh} ±0.19	24.82 ^{Gi} ±0.47
homogenization	0.8	51.19 ^{Ea} ±0.23	43.17 ^{Eb} ±0.17	42.17 ^{Ec} ±0.69	41.72 ^{Ed} ±0.29	40.64 ^{De} ±0.27	38.17 ^{Di} ±0.52	37.02 ^{Dg} ±0.63	35.26 ^{Dh} ±0.54	30.28 ^{Di} ±0.25
	1.6	50.53 ^{Fa} ±0.42	42.74 ^{Fb} ±0.31	40.64 ^{Fc} ±0.31	39.15 ^{Ed} ±0.57	38.32 ^{De} ±0.61	36.42 ^{Ef} ±0.17	35.18 ^{Eg} ±0.38	32.65 ^{Eh} ±0.25	28.64 ^{Ei} ±0.64
	2.0	63.47 ^{Ba} ±0.90	60.03 ^{Bb} ±0.54	59.51 ^{Ac} ±0.45	57.62 ^{Ad} ±0.14	56.41 ^{Ac} ±0.39	53.08 ^{Af} ±0.24	50.43 ^{Bg} ±0.21	47.61 ^{Bh} ±0.35	45.23 ^{Bi} ±0.52
sonication	0.8	44.08 ^{Ga} ±0.31	38.14 ^{Gb} ±0.36	36.47 ^{Gc} ±0.47	35.31 ^{Fd} ±0.18	32.45 ^{Es} ±0.62	30.23 ^{Ff} ±0.54	29.25 ^{Gg} ±0.15	28.13 ^{Fh} ±0.53	25.75 ^{Fi} ±0.14
	1.6	68.19 ^{Aa} ±0.68	61.73 ^{Ab} ±0.43	58.24 ^{Bc} ±0.32	57.08 ^{Bd} ±0.28	56.15 ^{Ab} ±0.25	53.46 ^{Af} ±0.36	51.29 ^{Ag} ±0.12	49.38 ^{Ah} ±0.11	46.26 ^{Al} ±0.33
	2.0	61.49 ^{Ca} ±0.21	55.63 ^{Cb} ±0.54	53.22 ^{Cc} ±0.53	51.65 ^{Cd} ±0.53	49.07 ^{Be} ±0.41	47.15 ^{Bf} ±0.38	45.65 ^{Cg} ±0.08	44.12 ^{Ch} ±0.49	40.43 ^{Ci} ±0.41

^{AB} Value with different letters within a column were significantly (p<0.05) different according to concentration of phospholipid and method of mixing

^{ab} Value with different letters within a row were significantly (p<0.05) different according to storage time

เป็นทรงกลมแสดงในภาพที่ (2b) ซึ่งสอดคล้องกับค่าประสิทธิภาพการกักเก็บแอสตาแซนทินในไลโปโซม โดยไลโปโซมที่ปั่นผสมด้วยวิธีโซนิเคชันนั้นให้ประสิทธิภาพการกักเก็บที่สูงกว่าการปั่นผสมด้วยวิธีโฮโมจีไนเซชัน

สรุป

การเตรียมไลโปโซมสำหรับกักเก็บสารสกัดแอสตาแซนทิน โดยใช้ฟอสโฟลิพิดที่ความเข้มข้น 2.0 %w/v และปั่นผสมด้วยวิธีโซนิเคชันทำให้ไลโปโซมมีการจัดเรียงตัวที่สมบูรณ์ มีผลให้ประสิทธิภาพการกักเก็บประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูล DPPH และประสิทธิภาพในการจับโลหะของสารสกัดแอสตาแซนทินลดลงน้อยที่สุด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสระยะเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อเทียบกับวันเริ่มต้น ซึ่งสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซมที่ได้ สามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภค รวมทั้งกระบวนการผลิตสารสกัดแอสตาแซนทินในไลโปโซม สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการกักเก็บสารสกัดที่มีความคงตัวต่ำชนิดอื่น ๆ ต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

- พิเชต พลายเพชร. 2558. การจัดการทางโภชนาการสำหรับการอนุบาลและการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม. วารสารเกษตร 31(1): 89-105.
- Conn, P.F., W. Schalch and T.G. Truscott. 1991. The singlet oxygen and carotenoid interaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology B* 11, 41-47.
- Dinis, T.C.P., V.M.C. Madeira and L.M. Almeida. 1994. Action of phenolic derivatives (Acetaminophen, Salicylate and 5-Aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 315(1): 161-169.
- Gordon, M.H. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. *In: B.J.F. Hudson (Ed.), Food antioxidants.* Elsevier Applied Science, England.
- Higuera-Ciupara, I., L. Felix-Valenzuela, F.M. Goycoolea and W. Arguëlles-Monal. 2004. Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix. *Carbohydrate Polymers* 56: 41-45.
- Kraft, J.C., J.P. Freeling, Z. Wang and R.J.Y. Ho. 2014. Emerging research and clinical development trends of liposome and lipid nanoparticle drug delivery systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 103: 29-52
- Liu, X. and T. Osawa. 2007. *Cis* astaxanthin and especially 9-*cis* astaxanthin exhibits a higher antioxidant activity in vitro compared to the all-*trans* isomer. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 357:187-193.
- Marsanasco, M., A.L. Márquez, J.R. Wagner, S.V. Alonso and N.S. Chiaramoni. 2011. Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment. *Food Research International* 44: 3039-3046.
- Meléndez, A., G. Britton, I. Vicario and F. Heredia. 2006. Relationship between the color and the chemical structure of carotenoid pigments. *Food Chemistry* 101: 1145-1150.
- Naguib, Y.M.A. 2000. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1150-1154.
- Peng, C.H., C.H. Chang, R.Y. Peng and C.C. Chyau. 2010. Improved membrane transport of astaxanthine by liposomal encapsulation.

- European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 75: 154-161.
- Pintea, A., H.A. Diehl, C. Momeu, L. Aberle and C. Socaciu. 2005. Incorporation of carotenoid esters into liposomes. Biophysical Chemistry 118: 7-14.
- Pu, J., J.D. Bankston and S. Sathivel. 2011. Developing microencapsulated flaxseed oil containing shrimp (*Litopenaeus setiferus*) astaxanthin using a pilot scale spray dryer. Biosystems Engineering 108: 121-132.
- Sachindra, N.M., N. Bhaskar and N.S. Mahendrakar. 2006. Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. Waste Manage. 26: 1092-1098.
- Sánchez-Moreno, C., J.A. Larrauri and F. Saura-Calixto. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wine, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International 32: 407-412.
- Senphan, T., S. Benjakul and H. Kishimura. 2014. Characteristics and antioxidative activity of carotenoprotein from shells of Pacific white shrimp extracted using hepatopancreas proteases. Food Bioscience 5: 54-63.
- Shen, Q. and S.Y. Quek. 2014. Microencapsulation of astaxanthin with blends of milk protein and fiber by spray drying. Journal of Food Engineering 123: 165-171.
- Sowmya, R. and N.M. Sachindra. 2012. Evaluation of antioxidant activity of carotenoid extract from shrimp processing byproducts by *in vitro* assays and in membrane model system. Food Chemistry 134: 308-314.
- Taksima, T., M. Limpawattana and W. Klaypradit. 2015. Astaxanthin encapsulated in beads using ultrasonic atomizer and application in yogurt as evaluated by consumer sensory profile. LWT - Food Science and Technology 62: 431-437.
- Wu, H.C., H.M. Chen and C.Y. Shiau. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). Food Research International 36: 949-957.
- Yang, S., Q. Zhou, L. Yang, Y. Xue, J. Xu and C. Xue. 2015. Effect of thermal processing on astaxanthin and astaxanthin esters in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Journal of Oleo Science 64: 243-253.
-

การวิเคราะห์หาสารสำคัญและฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระ ของดอกไม้กินได้บางชนิด

Analyses of Bioactive Ingredients and Antioxidant Activities of Some Edible Flowers

พสุธร อุ๋นอมรมาศ^{1/} และ สรณะ สมโน^{1/*}

Pasutorn Ounamornmas^{1/} and Sarana Sommano^{1/*}

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/}Department of Plant Science and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

*Corresponding author: Email: sarana@cmu.ac.th

(Received: 29 January 2016; Accepted: 9 June 2016)

Abstract: The research aim was to investigate bioactive compounds and analyse antioxidant capacities and total phenolic content of five common Thai edible flowers, including Marigold (*Tagetes erecta* L.), Paper flower (*Bougainvillea* hybrid), Ixora (*Ixora chinensis* Lamk), Cape Jasmine (*Gardenia jasminoides* Ellis) and Damask Rose (*Rosa damascene*). Dried samples were serially extracted with hexane, dichloromethane and methanol and the bioactive compounds were separated and quantitatively identified using Thin Layer Chromatography (TLC). The extracts were then analysed for antioxidant activity by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay and Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC). Total phenolics content was also assessed. The results illustrated that among the extracting solvent used, yields of methanolic extracts was the highest (8-12%) in all flowers. Staining with the specific solutions, flavonoids and phenolic compounds in methanol extracts were also detected by TLC from all flower types. These same extracts were analysed for antioxidant potential and total phenolic content. Paper flower, Ixora and Damask Rose gave the highest values of DPPH radical scavenging activity (90%) ($p \leq 0.05$). All samples had more than 90% inhibition of free radical activity and equivalent to trolox approximately 17 mg/g sample tested by TEAC assay. Moreover, the greatest amount of total phenolic content was from Damask Rose (31.91 mg GAE/g sample) ($p \leq 0.05$).

Keywords: Antioxidants, antioxidant activity determination, total phenolic

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์หากกลุ่มสารสำคัญ กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดของดอกไม้ไทยที่บริโภคได้จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) ดอกเฟื่องฟ้า (*Bougainvillea* hybrid) ดอกเข็ม (*Lxora chinensis* Lamk) ดอกพุดซ้อน (*Gardenia jasminoides* Ellis) และดอกกุหลาบมอญ (*Rosa damascene*) ด้วยการสกัดด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล จากนั้นนำมาจำแนกกลุ่มสารสำคัญด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (TLC) และทำการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay, Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด จากผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วยเมทานอลให้ปริมาณผลผลิตของสารที่สกัดได้สูงที่สุดร้อยละ 8-12 และการจำแนกสารสำคัญด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (TLC) พบสารสำคัญในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดของดอกไม้ทุกชนิดที่สกัดด้วยเมทานอล สารสกัดเมทานอลจากดอกกุหลาบมอญ ดอกเข็ม และดอกดาวเรืองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงถึงร้อยละ 90 และสารสกัดเมทานอลจากดอกไม้ทั้ง 5 ชนิดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC สูงถึงร้อยละ 90 มากกว่าสารสกัดเฮกเซน และ ไดคลอโรมีเทนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสาร trolox ประมาณ 17 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม ส่วนสารสกัดเมทานอลจากดอกกุหลาบมอญมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (31.91 mg gallic acid equivalents/ g sample) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับดอกไม้ที่นำมาทดสอบชนิดอื่น ๆ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

คำนำ

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาผู้บริโภคมีแนวโน้มที่จะให้ความสนใจเรื่องสุขภาพมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการรับประทานผักและผลไม้เพื่อสุขภาพที่ประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเชื่อกันว่าสามารถช่วยชะลอหรือป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ได้แก่สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และแอนโทไซยานิน เป็นต้น ซึ่งพบมากในผักและผลไม้ ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (ลดา-ชาติ และคณะ, 2544)

นอกจากการบริโภคผักและผลไม้แล้วยังพบว่าการบริโภคดอกไม้ที่สามารถรับประทานได้ยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ผู้บริโภคปัจจุบันให้ความสนใจ ในดอกไม้มีรงควัตถุชนิดต่าง ๆ ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งดอกไม้แต่ละชนิดมีคุณค่าทางอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันไป (สุพัตรา, 2548) นอกจากนี้ในดอกไม้ยังมีทั้งธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (Shi *et al.*, 2008; Kaisoon *et al.*, 2011)

ดอกไม้ได้ถูกนำมาบริโภคเป็นอาหารมาตั้งแต่สมัยโบราณ ซึ่งสามารถพบเห็นได้ทั้งในทวีปยุโรป เอเชีย และตะวันออกกลาง ในประเทศไทยดอกไม้หลายชนิดถูกนำมาบริโภคเช่นเดียวกับผัก เช่นนำมาเป็นส่วนผสมในสลัด ตกแต่งในจานอาหารหรือเป็นส่วนประกอบในแกง เช่น ดอกสะเดา (*Azadirachia indica*) ดอกโสน (*Sesbania grandiflora*) ดอกขี้เหล็ก (*Cassia siamea*) ดอกกุหลาบ (*Rosa damascena*) ดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta*) ดอกเข็ม (*Lxora chinensis*) เป็นต้น (Chaichit, 2004; Chuakul *et al.* 1997; Krasaekoopt and Kongkarnchanatip, 2005; Plailek, 2005; Saralamp *et al.*, 1996) ดอกไม้เหล่านี้ ตามหลักฐานทางพฤกษศาสตร์ท้องถิ่นเชื่อว่าสามารถรักษาโรคและอาการเจ็บป่วยได้ เช่น ท้องเสีย ปวดท้อง คลื่นไส้ เป็นต้น ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากศักยภาพในการต้านจุลชีพของดอกไม้เหล่านั้น (Boonyaprapatsara, 2000; Vachirasup, 1995) มีรายงานดอกไม้ที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ ดอกเข็ม กุหลาบ ขบา ขจร แด และ ปลั่ง โดยมีค่า 0.28, 0.22, 0.21, 0.11, 0.10 และ 0.09 mM Trolox equivalent / g of fresh weight ตามลำดับ (อรสุรินทร์

และคณะ, 2553) ส่วนดอกเฟื่องฟ้า ดอกดาวเรืองและดอก
พุดซ้อนยังไม่พบรายงาน

งานวิจัยเกี่ยวกับสารสำคัญในดอกไม้
รับประทานได้ของไทยยังมีอยู่ไม่มากนัก ดังนั้นใน
งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารสำคัญ
และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในดอกไม้ไทย
กินได้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยเกี่ยวกับ
อาหารสุขภาพ (functional food) ในอนาคต และเป็น
ข้อมูลสำหรับผู้บริโภคที่จะรับประทานดอกไม้กินได้ หรือ
การนำมาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ผักสลัดบรรจุถุง
(ready to eat salad mix) เพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่อาหาร
ประเภทสลัด เป็นต้น

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมและการสกัดตัวอย่างพืช

ทำการเก็บตัวอย่างดอกไม้กินได้ที่ใช้ประกอบ
อาหารมา 5 ชนิด ได้แก่ ดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) ดอกเฟื่องฟ้า (*Paper flower: Bougainvillea hybrid*) ดอกเข็ม (*Ixora: Lxora chinensis* Lamk) ดอกพุดซ้อน (*Cape Jasmine: Gardenia jasminoides* Ellis) และดอกกุหลาบมอญ (*Damask Rose: Rosa damascene*) เก็บตัวอย่างใน
บริเวณพื้นที่มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในระยะดอกบานเต็มที่
(fully open stage) โดยใช้เฉพาะส่วนกลีบดอกของดอกไม้
ทุกชนิด นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็น
เวลา 24 ชั่วโมงจนมีความชื้นไม่เกิน 5% ตัวอย่างแห้งที่
ได้นำมาบดให้ละเอียด จากนั้นนำมาสกัดสารออกฤทธิ์
ด้วยสารเคมีเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล
ตามลำดับ (serial extraction) ดังแสดงในภาพที่ 1 ด้วย
อัตราส่วนดอกไม้ : สารเคมี (1 : 20) แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 24
ชั่วโมง กรองเอากากออก ทำการสกัดด้วยสารเคมีชนิดละ
3 ครั้ง สารละลายที่สกัดได้ทั้ง 3 ชนิดถูกนำไประเหยแห้ง
ด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ที่
อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจากวิธีของ แว
จันทร และคณะ, 2549) ได้สารสกัดหยาบ (crude
extract) และคำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัด (%
yield) (Lagu and Frederick, 2012) และเก็บสารสกัด

หยาบที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสระยะเวลาไม่
เกิน 1 เดือน เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

2. การจำแนกชนิดของสารสกัดด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

สารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ
เมทานอล (0.5 กรัม) จะถูกละลายในตัวทำละลายชนิด
เดียวกันในปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปจำแนกหา
สารสำคัญด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (TLC) โดยนำ
สารละลายที่ได้จากการละลายด้วยตัวทำละลายปริมาตร
10 ไมโครลิตร ไปหยดลงบนแผ่น TLC (TLC silica gel 60
F254, Merck) และนำไปจำแนกสารออกฤทธิ์สำคัญ
โดยสารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซน และไดคลอโรมีเทน ใช้ตัว
ทำละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) คลอโรฟอร์ม : เอทิล
แอลกอฮอล์ : กรดฟอร์มิก อัตราส่วน 5 : 4 : 1 (Malbasa
et al., 2004) สารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล ใช้ตัวทำ
ละลายเคลื่อนที่ คลอโรฟอร์ม : เอทิล แอลกอฮอล์ : เมทานอล
: กรดฟอร์มิก อัตราส่วน 5 : 4 : 2 : 1 (ดัดแปลงจากวิธีของ
Malbasa *et al.*, 2004)

จากนั้นนำมาตรวจวิเคราะห์หากกลุ่มสารสำคัญ
ดังต่อไปนี้

2.1 การวิเคราะห์สารฟลาโวนอยด์ โดยใช้
การสเปรย์ด้วยสารละลาย Aluminium Chloride ($AlCl_3$)
แล้วนำไปส่องภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 360 นาโน
เมตร (Touchstone, 2015) หากมีสารในกลุ่ม ฟลาโ
นอยด์จะปรากฏแถบสีเหลืองหรือสีส้ม

2.2 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก
ตรวจสอบโดยทำการสเปรย์ด้วยสารละลาย Ferric
Chloride 1% ในสารละลายเมทานอล : น้ำ, 1 : 1 หากมี
สารประกอบประเภทฟีนอลิกจะเกิดสีน้ำเงิน-ม่วงขึ้น (Stahl,
1969)

การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
โดยการฉีดพ่นน้ำยาดีพีพีเอช (DPPH reagent) โดย
การฉีดพ่นน้ำยาดีพีพีเอช (รัตน, 2550) ดังนั้นจุดสารสกัด
ส่วนดอกลงบนแผ่น TLC จากนั้นจุ่มแผ่น TLC ในระบบตัว
ทำละลายเคลื่อนที่ทำการฉีดพ่นน้ำยา DPPH ความเข้มข้น
0.8 มิลลิโมลาร์ ให้ทั่วแผ่น TLC ถ้าในสารสกัดมีสารต้าน
อนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบ จะเกิดจุดสีม่วงฟอกจาง

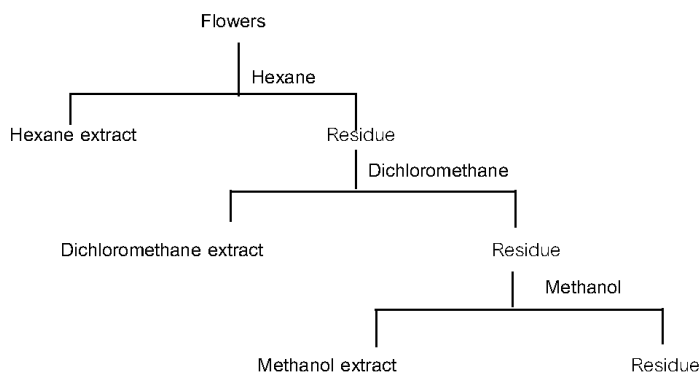


Figure 1 Serial extraction of edible flowers with hexane, dichloromethane and methanol

3. การวิเคราะห์หาความสามารถต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิก

3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (Molan *et al.*, 2009; Duan *et al.* 2011) นำตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 25 ไมโครลิตร เติม DPPH (0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH ใน 95% เอทานอล) 250 ไมโครลิตร บ่มในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

จากสูตร DPPH radical scavenging activity % = $[1 - (A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}})] \times 100$

เมื่อ A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของตัวอย่าง A

A_{blank} = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของ DPPH

3.2 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

เตรียมสารละลายอนุมูลอิสระ ABTS ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) เข้มข้น (stock solution) โดยผสม ABTS 7 มิลลิโมลาร์ กับ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) 2.45 มิลลิโมลาร์ บ่มในที่มืดเป็นเวลา 1 คืนเพื่อให้สารเคมีทำปฏิกิริยากันอย่างสมบูรณ์

วิธีวิเคราะห์หาสารละลาย $\text{ABTS}^{\bullet+}$ เข้มข้นมาเจือจางโดยใช้ sodium phosphate buffer (PBS, pH 7.4)

ให้มีค่าการดูดกลืนแสง 0.40 ที่ความยาวคลื่น 734 nm นำสารสกัดปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลาย $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ที่เจือจางแล้วปริมาตร 200 ไมโครลิตร บ่มทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาทีแล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีภายในเวลา 1 นาที ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (Sommano *et al.*, 2013)

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics content) โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu Reagent นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยสารสกัดชนิดนั้น ๆ อัตราส่วน 1 : 10 นำตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับ 10% Folin Ciocalteu reagent 200 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 1 นาที เติมโซเดียมโบคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 700 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน (ช่วงความเข้มข้น 20-500 มิลลิกรัมต่อลิตร) และรายงานผลเป็นน้ำหนักเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่าง 1 กรัม (mg GAE/ g sample) (Sommano *et al.*, 2013)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) แบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลอง

การศึกษาสารสกัดด้วยวิธีที่เหมาะสม

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสกัดสุดท้ายของสารสกัดจากดอกไม้ 5 ชนิด พบว่าการสกัดดอกดาวเรืองด้วยเมทานอลให้ปริมาณสารสกัดสุดท้ายสูงที่สุดร้อยละ 12 รองลงมาคือ ดอกกุหลาบมอญ ดอกเฟื่องฟ้า ดอกเข็ม และดอกพุทธรักษา ตามลำดับ การสกัดด้วยเฮกเซน ดอกดาวเรืองให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุดร้อยละ 10 รองลงมาได้แก่ ดอกกุหลาบมอญ ดอกเฟื่องฟ้า ดอกพุทธรักษา และดอกเข็ม ตามลำดับ

ส่วนการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีปริมาณสารสกัดน้อยที่สุด ดอกดาวเรือง มีปริมาณสารสกัดร้อยละ 7 รองลงมาคือ ดอกเฟื่องฟ้า ดอกกุหลาบมอญ ดอกพุทธรักษา และดอกเข็ม ดังแสดงในตารางที่ 1

การจำแนกชนิดของสารสกัดด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

จากการตรวจสอบสารสำคัญในสารสกัดเฮกเซนด้วยวิธี TLC ไม่พบสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลในดอกไม้ทุกชนิด (ภาพที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับการหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (ตารางที่ 5) เนื่องจากในสารสกัดเฮกเซนมีสารฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับสารที่สกัดด้วย เมทานอลและไดคลอโรมีเทน และไม่พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในสารสกัดด้วยเฮกเซนของดอกดาวเรือง เมื่อทำการสเปกด้วยสารทดสอบจึงไม่ปรากฏแถบสารดังกล่าว (ภาพที่ 3)

ส่วนการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกไม้ทั้ง 5 ชนิดโดยใช้สารละลายที่ใช้ในการสกัด 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล พบว่าสารสกัดจากดอกไม้ในสารละลายที่ใช้สกัดทุกชนิดเกิดการฟอกจางสีม่วงจากสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่พบว่าสารสกัดของดอกไม้ในเมทานอล แสดงในตารางที่ 3 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดถึงร้อยละ 90 จึงเกิดการฟอกสีจางเป็นวงกว้างและตลอดแนวการเคลื่อนที่บนแผ่น TLC รองลงมาคือในสารสกัดไดคลอโรมีเทนและเฮกเซนตามลำดับ (ภาพที่ 4)

การวิเคราะห์หาฤทธิ์ของสารสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ตารางที่ 3) พบว่าการสกัดดอกไม้ด้วยสารละลายเมทานอล ให้สารสกัดที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดรองลงมาคือการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และการสกัดด้วยเฮกเซนให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด สารสกัดจากดอกกุหลาบมอญ ดอกเข็ม และดอกดาวเรืองที่สกัดด้วยเมทานอล มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงถึงร้อยละ 90 รองลงมาคือดอกเฟื่องฟ้าร้อยละ 62 และดอกพุทธรุชัชร้อยละ 37

ในสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน มีค่าการต้านอนุมูลอิสระรองลงมาระหว่างร้อยละ 23-30 ยกเว้นดอกกุหลาบมอญร้อยละ 67 ส่วนในสารสกัดเฮกเซน มีค่าการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดระหว่างร้อยละ 12-17 ยกเว้นในดอกพุทธรุชัชร้อยละ 41

Table 1 Yield (%) of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	Yield (%)		
	Hexane	Dichloromethane	Methanol
Marigold	10.02 ±0.48	7.01 ^a ±0.77	12.21 ±0.96
Paper flower	7.79 ±0.11	5.98 ±0.46	10.05 ^b ±0.41
Ixora	5.42 ±0.16	3.56 ^c ±0.27	9.43 ^b ±0.57
Cape Jasmine	5.69 ±0.19	3.78 ^c ±0.33	8.18 ^c ±0.64
Damask Rose	8.06 ±0.22	4.98 ^b ±0.21	11.54 ^a ±0.89

Values are means of three replications ± standard error.

Values within a column followed by the same upper case letter are not significantly different ($P \geq 0.05$)

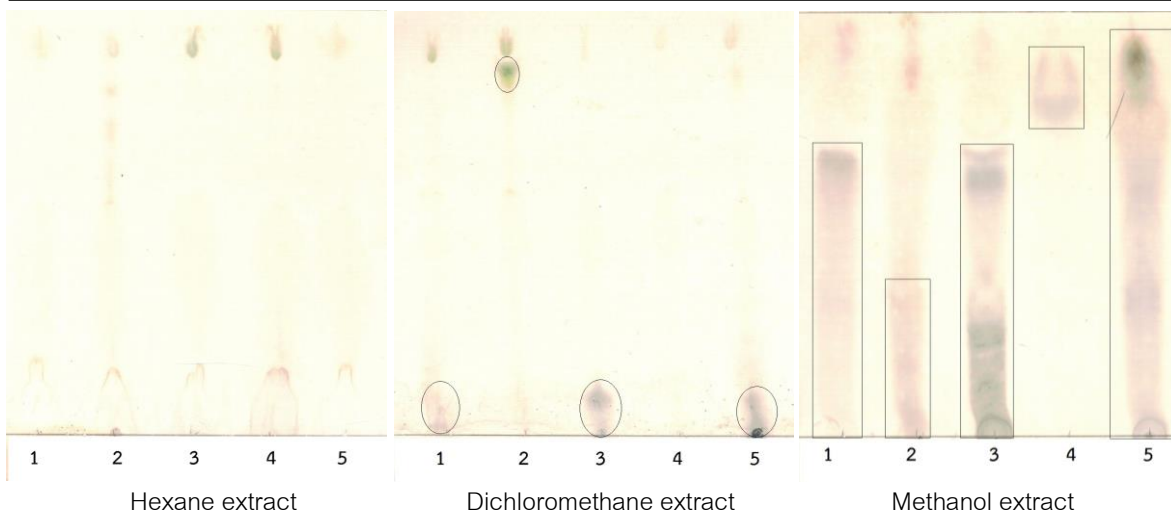


Figure 2 Detection of phenolic compounds on TLC after sprayed with 1% (v/v) ferric chloride reagent of (1) Marigold (2) Paper flower (3) Ixora (4) Cape Jasmine and (5) Damask Rose extracted with hexane, dichloromethane and methanol respectively

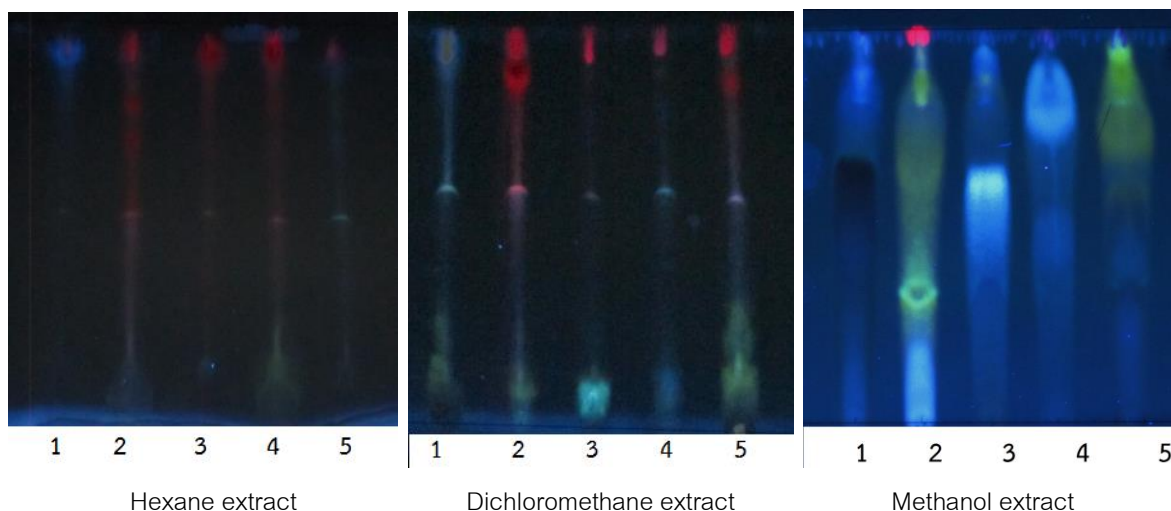


Figure 3 Detection of flavonoids on TLC after sprayed with aluminium chloride and viewed under UV light (360 nm) of (1) Marigold (2) Paper flower (3) Ixora (4) Cape Jasmine and (5) Damask Rose extracted with hexane, dichloromethane and methanol respectively

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) (ตารางที่ 4) พบว่าสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนของดอกพุทธรักษาและดอกเข็ม มีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) ร้อยละ 91 และ 55 และมีความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสาร Trolox 16 และ 10 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัมตามลำดับ ส่วนในดอกไม้ชนิดอื่นมี

ความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสาร trolox ประมาณ 5 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม และความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 27-30 ส่วนในสารสกัดด้วยเมทานอลของดอกไม้ทั้ง 5 ชนิด มีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) มากกว่าร้อยละ 90 และมีความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับสาร trolox ประมาณ 17 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัม

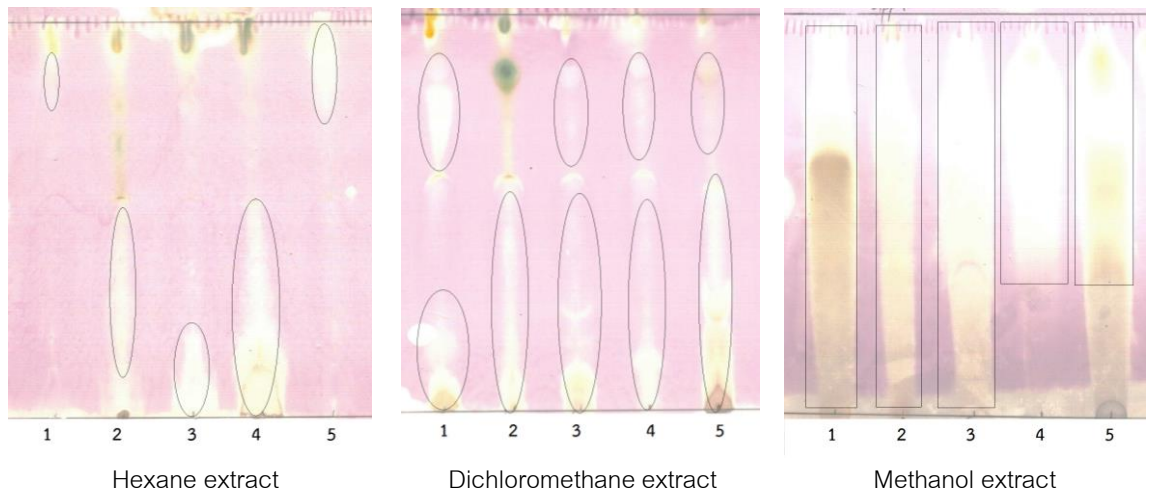


Figure 4 Detection of antioxidant potentials on TLC after sprayed with DPPH reagent of (1) Marigold (2) Paper flower (3) Ixora (4) Cape Jasmine and (5) Damask Rose extracted with hexane, dichloromethane and methanol respectively

Table 2 Detection of bioactive compounds on TLC of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	Test	Hexane extract	Dichloromethane extract	Methanol extract
Marigold	Flavonoids	-	+	+
	Phenols	-	+	+
	DPPH	+	+	+
Paper flower	Flavonoids	+	+	+
	Phenols	-	+	+
	DPPH	+	+	+
Ixora	Flavonoids	+	+	+
	Phenols	-	+	+
	DPPH	+	+	+
Cape jasmine	Flavonoids	+	+	+
	Phenols	-	-	+
	DPPH	+	+	+
Damask Rose	Flavonoids	+	+	+
	Phenols	-	+	+
	DPPH	+	+	+

+ detected - not detected

Table 3 DPPH Radical Scavenging Capacity of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	% Radical Scavenging		
	Hexane	Dichloromethane	Methanol
Marigold	15.54 ^c ±2.93	24.44 ^c ±0.49	90.24 ±0.37
Paper flower	11.79 ^d ±2.63	23.70 ^c ±0.31	62.44 ^b ±0.85
Ixora	17.31 ^b ±2.14	30.09 ^b ±1.89	90.07 ^a ±0.61
Cape Jasmine	41.28 ^a ±2.93	29.92 ^b ±0.55	37.61 ^c ±2.26
Damask Rose	15.76 ^c ±2.75	67.75 ^a ±1.77	90.76 ^a ±0.12

Values are means of three replications ± standard error

Values within a column followed by the same upper case letter are not significantly different ($P \geq 0.05$)

Table 4 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	Hexane		Dichloromethane		Methanol	
	% Inhibition	Trolox	% Inhibition	Trolox	% Inhibition	Trolox
		(mg/g sample)		(mg/g sample)		(mg/g sample)
Marigold	0	0	28.25 ^c ±4.45	5.34 ^c ±0.81	94.72 ±0.21	17.45 ±0.04
Paper flower	0	0	30.33 ^c ±1.92	5.72 ^c ±0.35	93.65 ±1.03	17.25 ±0.19
Ixora	0	0	55.23 ^b ±1.78	10.26 ^b ±0.32	95.11 ±0.07	17.52 ±0.01
Cape Jasmine	0	0	91.62 ^a ±0.89	16.88 ^a ±0.16	92.93 ±0.55	17.12 ±0.10
Damask Rose	46.90 ±1.37	8.74 ±0.25	26.99 ^c ±2.26	5.11 ^c ±0.41	94.48 ±0.55	17.40 ±0.10

Values are means of three replications ± standard error

Values within a column followed by the same upper case letter are not significantly different ($P \geq 0.05$)

ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิก

จากการวิเคราะห์สารกลุ่มฟีนอลิกทั้งหมด (ตารางที่ 5) พบว่าการสกัดด้วยเมทานอลให้สารกลุ่มฟีนอลิกสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดอื่น มีสารกลุ่มฟีนอลิกระหว่าง 25-31 mgGAE/g sample พบสารฟีนอลิกในดอกกุหลาบมอญสูงที่สุด 31.91 ±0.09 mgGAE/g sample การสกัดดอกไม้ด้วยไดคลอโรมีเทนให้สารกลุ่มฟีนอลิกระหว่าง 3-23 mgGAE/g sample โดยพบในดอกเข็มมากที่สุด 23.41 ±0.47 mgGAE/g sample และพบในดอกกุหลาบมอญน้อยที่สุด 3.06 ±0.11 mgGAE/g sample ส่วนการสกัดด้วยเฮกเซนให้สารกลุ่มฟีนอลิกน้อยที่สุดระหว่าง 1-5 mgGAE/g sample เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน

สรุปและวิจารณ์

ดอกไม้เป็นแหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติ เช่น phenolic acids ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ (Kaur *et al.*, 2006; Youwei *et al.*, 2008) การสกัดสารสำคัญที่อยู่ในพืชโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ที่นิยมใช้ในปัจจุบันได้แก่ แอซีโตน เอทานอล เมทานอล เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทิลแอลกอฮอล์ และ สารสกัดแอลกอฮอล์ผสมกับน้ำ (Hydroalcoholic mixtures) (Peschel *et al.*, 2006; Bushra *et al.*, 2009) รายงานการวิจัยของวาทีน และคณะ 2556; พัชรและคณะ 2556 ได้ทำการทดสอบสาร

Table 5 Total phenolics content of 5 Thai edible flowers extracted with hexane, dichloromethane and methanol

Samples	Total Phenolic contents (mgGAE / g sample)		
	Hexane	Dichloromethane	Methanol
Marigold	2.04 ^b ±0.48	13.18 ^b ±1.07	29.23 ^b ±0.28
Paper flower	5.75 ^a ±0.11	8.32 ^c ±1.12	26.79 ^c ±0.24
Ixora	2.18 ^b ±0.66	23.41 ^a ±0.47	28.96 ^b ±0.16
Cape Jasmine	1.42 ^d ±0.09	6.58 ^d ±0.53	24.34 ^d ±0.40
Damask Rose	1.83 ^c ±0.22	3.06 ^e ±0.11	31.91 ^a ±0.09

Values are means of three replications ± standard error

Values within a column followed by the same upper case letter are not significantly different ($P \geq 0.05$)

ต้านอนุมูลอิสระในดอกไม้กินได้ด้วยเอทานอลพบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง

ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิดเป็นสารที่ใช้สกัดที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกันโดยเรียงลำดับจากที่มีขั้วน้อยไปมีขั้วมาก ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล จากการทดลองพบว่าการสกัดด้วยเมทานอลให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด รองลงมาคือเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน ซึ่งผลผลิตของสารสกัดมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดสารที่ใช้สกัดและความมีขั้วในการสกัดสารสำคัญจากส่วนต่าง ๆ ของพืช (Sultana *et al.*, 2009) สารสำคัญที่พบในดอกไม้ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ มีความเป็นขั้วสูง (polar compounds) เมื่อสกัดด้วยเมทานอลซึ่งมีขั้วสูง จึงสามารถสกัดสารเหล่านี้ออกมาจากตัวอย่างพืชได้ มากกว่าเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน จึงทำให้มีปริมาณร้อยละของสารสกัดสูงกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ TEAC พบว่าสารสกัดเมทานอลของดอกไม้ทั้ง 5 ชนิดมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 25-31 mgGAE / g sample) สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเมล็ดลำไยประมาณ 50-100 เท่า (สุรินทร์ และ สุริยา, 2558) และมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 90 เฉพาะในดอกดาวเรือง ดอกเข็มและดอกกุหลาบมอญและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC ของดอกไม้ทั้ง 5 ชนิดมากกว่าร้อยละ 90

จากตัวอย่างดอกไม้ทุกชนิดที่นำมาวิเคราะห์หีสารสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน โดย

เปรียบเทียบในสารสกัดเมทานอล พบว่า ดอกกุหลาบมอญ ดอกเข็ม ดอกดาวเรือง มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระสูงใกล้เคียงกัน รองลงมาคือดอกเฟื่องฟ้า และดอกพุทธรักษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณรงควัตถุในดอกไม้ที่ส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Youwei *et al.* (2008) ที่ได้ทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในดอกไม้ของประเทศจีนพบว่าดอกไม้ในกลุ่มสีแดง มีสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลสูงกว่ากลุ่มสีอื่น ๆ และงานวิจัยของ Kaisoon *et al.* (2012) รายงานว่าในดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta*) มีสารประกอบฟีนอลสูงกว่า ดอกเฟื่องฟ้า ดอกดาวกระจายและดอกพวงชมพูประมาณ 2 เท่า

จากผลการวิเคราะห์สารสำคัญจากดอกไม้กินได้ทั้ง 5 ชนิดพบว่าดอกไม้กินได้ที่มีศักยภาพเป็นอาหารเชิงสุขภาพ (functional food) มีปริมาณสารฟีนอลิกและมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ ดอกกุหลาบมอญ ดอกเข็มและดอกดาวเรือง ดอกไม้กินได้เหล่านี้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้แก่ผู้บริโภคนำไปเป็นส่วนประกอบเพิ่มเติมในอาหาร และสามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทผักได้

เอกสารอ้างอิง

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2550 (พิมพ์ครั้งที่ 2). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. แอดทีฟ ฟรินท์, กรุงเทพฯ. 215 หน้า.

- พัชรีย์ สิริตรระกูลศักดิ์ ประสิทธิ์ ชูติชูเดช เบญจวรรณ ชูติชูเดช มาระตรี เปลี่ยนศิริชัย และ เกียรติศักดิ์ บุญเที่ยง. 2556. กิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้ 15 ชนิด ในจังหวัดมหาสารคาม. วารสารแก่นเกษตร พิเศษ(1): 607-611
- ลดชาติ แต่พงษ์โสรัถ อธิกา จารุโชติกมล วนิดา ไทรชมภู และ ปิยะวรรณ กำลังมาก. 2544. รายงานการวิจัยฤทธิ์ต้าน ออกซิแดนซ์ของผักพื้นบ้านในเขตจังหวัดมหาสารคาม. รายงานการวิจัย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม. 36 หน้า.
- วาทีน พูลสวัสดิ์ และ จีรวัฒน์ สวัสดิ์พัฒน์. 2556. ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ของดอกไม้กินได้. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/newspdf/specialproject/2556-25.pdf> (20 พฤษภาคม 2559).
- แววจันทร์ พงศ์จันดา พัชรพร ไชยชนะ และ พัทธยา สรวมศิริ. 2549. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากตะไคร้หอมในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าในมะม่วงและโรคโคนเน่าในผัก. วารสารเกษตร 22(1): 75-80
- สุพัตรา แซ่ลิ้ม. 2548. อาหารจานดอกไม้. สำนักพิมพ์คุณพอ, กรุงเทพฯ. 176 หน้า.
- สุรินทร์ นิลสำราญจิต และ สรียา ตาเที่ยง. 2558. สันฐานวิทยาเมล็ดและสารประกอบโพลีฟีนอลของลำไย. วารสารเกษตร 31(2): 167-175
- อรสุรินทร์ สวบบางยาง มณฑนา บัวหนอง เฉลิมชัย วงษ์อารี ชัยรัตน์ เตชวุฒิพร และ วาริช ศรีละออง. 2553. การศึกษาคุณค่าทางอาหารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในดอกไม้ที่รับประทานได้ วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์ 41(3/1)(พิเศษ): 381-384
- Boonyaprapatsara, N. 2000. Thai traditional herbal medicine plant Vols. 1 and 4. Prachachon Publishers, Bangkok.
- Bushra, S., A. Farooq and A. Muhammad. 2009. Effect of extraction solvent technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*. 14: 2167-2180.
- Chaichit, C. 2004. Thai herbs and herbal products. The National Identity Office. Bangkok. 240 p.
- Chuakul, W., P. Saralamp, W. Paonil, R. Temsiririkkul and T. Clayton. 1997. Medicinal plants in Thailand Volume II. Amarin Printing and Publishing Public. Bangkok. 248 p.
- Duan, X., T. Liu, D. Zhang, X. Su, H. Lin and Y. Jiang. 2011. Effect of pure oxygen atmosphere on antioxidant enzyme and antioxidant activity of harvested litchi fruit during storage. *Food Research International* 44: 1905-1911.
- Kaisoon, O., S. Siriamompun, N. Weerapreeyakul and N., Meeso. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *Food Research International* 3: 88-99.
- Kaisoon, O., I. Konczak and S. Siriamompun. 2012. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. *Food Research International* 46(2): 563-5.
- Kaur, G., M.S. Alamb, Z. Jabbar, K. Javed and M. Athar. 2006. Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers. *Journal Ethnopharmacology* 108: 340-348.
- Krasaekoopt, W. and A. Kongkarnchanatip. 2005. Anti-microbial properties of Thai traditional flower vegetable extracts. *Assumption University Journal of Technology* 9(2): 71-74.
- Lagu, C. and K.I.B. Frederick. 2012. In vitro antimicrobial activity of crude extracts of *Erythrina abyssinica* and *Capsicum annum* in poultry diseases control in the South

- Western agro-ecological zone of Uganda. pp. 597-614. In: Perez-Marin, C.C. (Ed.). A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine. InTech. Rijeka.
- Malbasa, R., E. Loncar and L. Kolarov. 2004. TLC analysis of some phenolic compounds in Kombucha beverage, *Acta Periodica Technologica* 35: 199-205.
- Molan, A.L., J. Flanagan, W. Wei and P.J. Moughan. 2009. Selenium-containing green tea has higher antioxidant and prebiotic activities than regular green tea. *Food Chemistry* 114: 829-835.
- Peschel, W., F. Sanchez-Rabaneda, W. Dn, A. Plescher, I. Gartzia, D. Jimenez ,R. Lamuela-Raventos, S. Buxaderas and C. Condina. 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry* 97: 137-150.
- Plailek, W. 2005. Edible flowers. Home and Garden Press (In Thai). Bangkok.
- Saralamp, P., W. Chuakul, R. Temsiririrkkul and T. Claylon. 1996. Medicinal plants in Thailand. Volume I. Amarin Printing and Publishing Public. Bangkok. 219 p.
- Shi, J., J. Gong, J. Liu, X. Wu and Y. Zhang. 2008. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunmume* in China and its active components. *Food Science Technology* 42: 477-482.
- Sommano, S., N. Caffin and G. Kerven. 2013. Screening for Antioxidant Activity, Phenolic Content, and Flavonoids from Australian Native Food Plants. *International Journal of Food Properties* 16(6): 1394-1406.
- Stahl, E. 1969. Thin Layer Chromatography. 2nd ed. Springer-Verlag. New York. 1041 p.
- Sultana, B., F. Anwar and M. Ashraf. 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules* 14: 2167-2180.
- Touchstone, J.C. 2015. Practice of Thin Layer Chromatography. 3rd ed. Wiley-Interscience. New York. 400 p.
- Youwei, Z., Z. Jinlian and P. Yonghong. 2008. A comparative study on the free radical scavenging activities of some fresh flowers in southern China. *LWT-Food Science and Technology* 41: 1586-1591.
- Vachirasup, T. 1995. Senna plant in Thailand, 1st ed. Mahidol University, Faculty of Pharmacy, Bangkok
-

การผลิตกรดฟอร์มิกจากตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ

Production of Formic Acid from Representative Food Waste Under Autoclave Conditions

รัตนา ม่วงรัตน์^{1/*}

Rattana Muangrat^{1/*}

^{1/}สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50100

^{1/}Department of Food Engineering, Faculty of Agro-Industry, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100, Thailand

*Corresponding author: Email: rattanamuangrat@yahoo.com

(Received: 4 January 2016; Accepted: 5 July 2016)

Abstract: Representative food waste containing cooked rice, pork sirloin and vegetable oil which weight percentage of composition was approximately 33.33% (w/w) each. The representative food waste heated under autoclave conditions (121 °C, 101.3 kPa) could produce formic acid while acetic acid was not detected. Using either H₂O₂ or NaOH alone could accelerate the breakdown of reprehensive food waste into formic acid. Increasing concentration of H₂O₂ increased amount of formic acid. When the concentration of H₂O₂ was higher than 0.09 % (w/w), the yield of formic acid decreased. The higher amount of H₂O₂ decomposed compounds such as formic acid into CO₂ or CO leading to the reduction of formic acid content. The degradation of reprehensive food waste using NaOH was higher than that using H₂O₂. Higher amount of NaOH increased the amount of formic acid. The concentration of NaOH was larger than 0.5 M resulting in a decrease in formic acid quantity. The NaOH could react with amino acids and lipids to form amino acid salts and soap products via neutralization reaction and saponification reaction, respectively, leading to a reduction in NaOH content. A longer time for the degradation of representative food waste under autoclave conditions increased the yield of formic acid. The degradation of reprehensive food waste using NaOH alone was higher than that using H₂O₂ alone or using both H₂O₂ and NaOH, respectively. The main mechanism of chemical reactions for formic acid production using both NaOH and H₂O₂ under autoclave conditions (121 °C, 101.3 kPa) will be researched further.

Keywords: Food waste, autoclave, formic acid, acetic acid, sodium hydroxide, hydrogen peroxide

บทคัดย่อ: ตัวแทนเศษอาหารที่ประกอบด้วยข้าวสุก เนื้อหมูสันนอกสไลด์ และน้ำมันพืชในปริมาณอย่างละร้อยละ 33.33 โดยน้ำหนัก เมื่อได้รับความร้อนภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ (121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล) สามารถผลิตกรดฟอร์มิก (formic acid) ขณะที่กรดอะซิติก (acetic acid) ไม่สามารถตรวจพบได้ ทั้ง H_2O_2 และ NaOH สามารถช่วยย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารไปเป็นกรดฟอร์มิกได้ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ H_2O_2 ปริมาณกรดฟอร์มิกที่่อยสลายได้มีค่าเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงกว่าร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนัก พบว่าปริมาณกรดฟอร์มิก ลดลง เนื่องจากปริมาณ H_2O_2 ที่มากขึ้นสามารถย่อยสลายสารประกอบเช่น กรดฟอร์มิกไปเป็นก๊าซ CO_2 หรือ CO มากขึ้นส่งผลให้ปริมาณกรดฟอร์มิกลดลงได้ NaOH สามารถเร่งการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารได้มากกว่า H_2O_2 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NaOH ปริมาณกรดฟอร์มิกที่่อยสลายได้มีค่าเพิ่มมากขึ้นแต่เมื่อความเข้มข้นของ NaOH สูงกว่า 0.5 M พบว่าปริมาณกรดฟอร์มิกลดลง เนื่องจาก NaOH สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนและไขมันได้เป็นเกลือของกรดอะมิโนและสบู่ผ่านปฏิกิริยา neutralization และปฏิกิริยาสaponification ตามลำดับ ซึ่งส่งผลให้เกิดการสูญเสียปริมาณ NaOH เพื่อนำไปย่อยสลายตัวแทนเศษอาหาร ปริมาณกรดฟอร์มิกที่ได้จึงลดลง เมื่อเวลาในการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอนานขึ้น ปริมาณกรดฟอร์มิกที่ได้มากขึ้น โดยการใช้ NaOH สามารถผลิตกรดฟอร์มิกได้มากกว่าการใช้ H_2O_2 หรือการใช้ร่วมกันระหว่าง NaOH และ H_2O_2 ตามลำดับ กลไกสำคัญของปฏิกิริยาเคมีสำหรับการผลิตกรดฟอร์มิก เมื่อใช้ NaOH ร่วมกับ H_2O_2 ภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ (121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล) ต้องมีการศึกษาต่อไป

คำสำคัญ: เศษอาหาร หม้อนึ่งอัดไอ กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก โซเดียมไฮดรอกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

คำนำ

การผลิตก๊าซพลังงานอย่างเช่น ไฮโดรเจน (H_2) และมีเทน (CH_4) ด้วยวิธีไฮโดรเทอร์มอลแก๊สซิฟิเคชัน (hydrothermal gasification) ที่สภาวะอุณหภูมิและความดันที่สูงหรือต่ำกว่าจุดวิกฤติของน้ำได้รับความนิยมนจากกลุ่มนักวิจัยมากมาย (Elliott, 2008; Onwudili and Williams, 2010; Muangrat *et al.*, 2012) เนื่องจากใช้น้ำเป็นสารทำละลายที่ราคาถูก และไม่ปนพิษกับสิ่งแวดล้อม วิธีดังกล่าวนำมาเปลี่ยนชีวมวล (biomass) ที่มีความชื้นสูง (มากกว่า ร้อยละ 85) (Elliott, 2008; Chang and Hsu, 2008) ให้เป็นก๊าซพลังงานโดยไม่ต้องมีขั้นตอนการทำแห้งชีวมวลซึ่งลดพลังงานในการทำแห้งไปได้มาก (Elliott, 2008; Onwudili and Williams, 2010; Muangrat *et al.*, 2012) สารประกอบที่เกิดจากแก๊สซิฟิเคชัน (gasifiable intermediate compounds) ที่สำคัญที่สามารถนำไปใช้ในการผลิตก๊าซพลังงาน เช่น กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดอะซิติก (acetic acid) กรดออกซาลิก (oxalic acid) กรดแลคติก (lactic acid) (Onwudili and Williams, 2010; Jin *et al.*, 2008; Yun *et al.*, 2010) หรือ

ในรูปของโซเดียมฟอร์มเมท (sodium formate) และโซเดียมอะซิเตท (sodium acetate) (Onwudili and Williams, 2010) เมื่อมีการเติมตัวเร่งปฏิกิริยาโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) วิธีการไฮโดรเทอร์มอลแก๊สซิฟิเคชันที่มีเติมตัวเร่งปฏิกิริยารวมถึงการเลือกใช้อัลคาไล (alkali) เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เพื่อช่วยในการเพิ่มปริมาณของสารประกอบที่เกิดจากแก๊สซิฟิเคชัน และช่วยเร่งปฏิกิริยาการผลิตก๊าซพลังงานให้ปริมาณมากขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่ก็พบว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถช่วยเร่งปฏิกิริยาวอเตอร์แก๊สชิฟ (water-gas shift reaction; $CO + H_2O \rightarrow CO_2 + H_2$) ส่งผลให้ได้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่มากขึ้นได้

เศษอาหาร (food wastes) ที่ได้จากครัวเรือน ภัตตาคารหรือร้านอาหารต่าง ๆ และจากกระบวนการต่าง ๆ ในอุตสาหกรรมอาหารที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในปัจจุบันมีปริมาณสารประกอบอินทรีย์ (organic compounds) ที่ค่อนข้างสูงเช่นน้ำตาลที่ละลายได้ (soluble sugars) แป้ง (starch) ลิพิด (lipid) หรือไขมัน (fat) โปรตีน (protein) เซลลูโลส (cellulose) และ

องค์ประกอบอื่น ๆ (ดวงกมล และสุทธิพงศ์, 2559; Elbeshbishy *et al.*, 2011) ดังนั้นเศษอาหารจึงสามารถนำมาเป็นแหล่งของคาร์บอน (carbon source) เพื่อผลิตก๊าซพลังงานเช่นก๊าซไฮโดรเจนหรือมีเทนได้ นอกจากนี้เศษอาหารเมื่อเกิดการย่อยสลายแล้วสามารถผลิตกรดฟอสฟอริกและกรดอะซิติกได้ ซึ่งกรดฟอสฟอริกและกรดอะซิติกสามารถเป็นแหล่งผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนโดยวิธีไฮโดรเทอร์มอลแก๊สซิฟิเคชันที่เติมอัลคาไล เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Muangrat *et al.*, 2010) เป็นต้น อย่างไรก็ตามกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลแก๊สซิฟิเคชันที่เติมและไม่เติมอัลคาไลต้องใช้อุณหภูมิค่อนข้างสูง (มากกว่า 200 องศาเซลเซียส) (Kruse, 2008) ในการย่อยสลายเศษอาหารเป็นสารประกอบสำคัญที่ใช้ในการผลิตก๊าซพลังงาน

จากข้อมูลข้างต้นถ้าสามารถลดขั้นตอนหรือหาวิธีการย่อยสลายเศษอาหารไปเป็นสารประกอบได้ที่อุณหภูมิต่ำช่วยให้สามารถประหยัดพลังงานที่ต้องใช้ในกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลแก๊สซิฟิเคชัน โดยเมื่อได้สารประกอบจากขั้นตอนการย่อยสลายที่อุณหภูมิต่ำแล้วก็ทำการส่งต่อไปยังขั้นตอนของไฮโดรเทอร์มอลแก๊สซิฟิเคชันต่อไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตและหาปริมาณกรดฟอสฟอริกและกรดอะซิติกจากตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ (121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล) ก่อนเข้าสู่ระบบไฮโดรเทอร์มอลแก๊สซิฟิเคชัน ซึ่งข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้เพื่อการออกแบบกระบวนการไฮโดรเทอร์มอลแก๊สซิฟิเคชันแบบต่อเนื่องต่อไป รวมถึงการศึกษาอิทธิพลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และเวลา ที่มีผลต่อการผลิตกรดฟอสฟอริกและกรดอะซิติก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วิธีการดำเนินการวิจัย

1.1 ตัวแทนเศษอาหาร (representative food waste) ได้แก่ ข้าวสุก (ตลาดต้นพะยอม อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่) เนื้อหมูสันนอกสไลด์ (Tesco Lotus, อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่) น้ำมันพืช (Tesco Lotus,

อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่) และเศษอาหาร (โรงอาหารคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่) นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเป็นตัวแทนเศษอาหารแห้ง (dried representative food waste) และเศษอาหารแห้ง (dried food waste) ตามลำดับ

1.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของตัวแทนเศษอาหารแห้ง และเศษอาหารแห้ง ด้วยการวิเคราะห์โดยประมาณ (proximate analysis) ดัดแปลงตามวิธีของ ASTM (2012) และ USEPA (2001) การวิเคราะห์โดยประมาณคือการวิเคราะห์หาโครงสร้างองค์ประกอบของตัวอย่างได้แก่ ความชื้น (moisture) ส่วนที่เป็นสารระเหย (volatile matter) คาร์บอนคงที่ (fixed carbon) และเถ้า (ash)

1.3 การวิเคราะห์ขั้นสุดท้าย (ultimate analysis) ของตัวแทนเศษอาหารแห้ง และเศษอาหารแห้ง ดัดแปลงตามวิธีของ ASTM (2008) และ ASTM (2009) โดยแสดงผลการวิเคราะห์เป็นปริมาณร้อยละของธาตุต่าง ๆ ได้แก่ C, H, N, S และ O

1.4 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นแบบเปียกของตัวแทนเศษอาหารแห้งและเศษอาหารแห้ง (ASTM, 2007)

1.5 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดกรดฟอสฟอริกและกรดอะซิติกที่ได้จากตัวอย่างตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหาร (ข้อ 1.1) ภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) (ยี่ห้อ LabTech รุ่น LAC-5040S) ได้แก่ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และเวลาในการให้ความร้อนภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ เตรียมตัวอย่างตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหารที่มีการเติมและไม่เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แล้วนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ใส่ลงในขวดปิดฝาสนิท แล้วบรรจุลงในหม้อนึ่งอัดไอ ให้ความร้อนภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอเป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที ตามลำดับ และตามสภาวะที่กำหนดไว้ จากนั้นนำตัวอย่างออกจากหม้อนึ่งอัดไอและปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอสฟอริก กรดอะซิติก และก๊าซ เช่น H_2 , CO และ CO_2 เป็นต้น

1.5.1 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณก๊าซที่ผลิตได้

นำตัวอย่างตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหารมาทำการบรรจุลงในขวดสีชาขนาดประมาณ 15 มิลลิลิตร ที่ทึบร้อน ปิดผนึกฝาด้วยยางทึบร้อน เมื่อให้ความร้อนในเวลาที่กำหนดไว้แล้ว นำออกจากหม้อนึ่งอัดไอ และปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องก่อนการวิเคราะห์ เมื่อทำการวิเคราะห์ก๊าซจึงนำเข็มฉีดยามาเจาะที่ฝาเพื่อดูดก๊าซที่ผลิตได้ แล้วฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC รุ่น Agilent 7890A, บริษัท Agilent Technologies ประเทศไทย จำกัด) โดยใช้ดีเทคเตอร์ (detector) แบบที่ซีดี (thermal conductivity detector: TCD) ขณะที่ไฮโดรคาร์บอนก๊าซ (C_1 - C_4) ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีใช้ดีเทคเตอร์ (detector) แบบเอฟไอดี (flame ionization detector: FID) (ASTM, 2010)

1.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอร์มิกและกรดอะซิติก

นำตัวอย่างตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหารหลังการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณก๊าซที่ผลิตได้ มาวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอร์มิกและกรดอะซิติกตามวิธี In house method (ASTM, 2012) ด้วยเครื่อง GC (GC รุ่น Agilent 7890A, บริษัท Agilent Technologies ประเทศไทย จำกัด)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาวิจัยได้ทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี proximate analysis และ ultimate analysis ของตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหาร โดยตัวแทนเศษอาหารที่ใช้ในการศึกษาคือข้าวสุก (ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) เท่ากับ 60.67) เนื้อหมูสันนอกสไลด์ (ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) เท่ากับ 74.25) และน้ำมันพืช (ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก) เท่ากับ 0.00) ก่อนการทดลองย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอน้ำ งานวิจัยจึงทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี proximate analysis และ ultimate analysis ของตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหารแห้ง (หลังจากอบแห้งที่

อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) เพื่อหาปริมาณสารระเหย คาร์บอนคงที่ เถ้า และความชื้น รวมถึงธาตุ C, H, N, S และ O ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญว่ามีปริมาณมากน้อยเพียงใดก่อนจึงนำตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหารมาย่อยสลายเป็นกรดฟอร์มิกและกรดอะซิติกภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ แสดงผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 1 ซึ่งพบว่าข้าวสุก เนื้อหมูสันนอกสไลด์ และเศษอาหาร มีปริมาณคาร์บอนคงที่มากกว่าร้อยละ 80 และปริมาณเถ้าน้อยกว่าร้อยละ 5 ดังนั้นข้าวสุก เนื้อหมูสันนอกสไลด์ และเศษอาหาร เป็นชีวมวลที่มีปริมาณคาร์บอนคงที่สูงที่สามารถเป็นแหล่งของพลังงานและสารประกอบเคมีที่สำคัญได้ เช่นกรดลิวูลินิก (levulinic acid) กรดฟอร์มิกและกรดอะซิติก (Huber *et al.*, 2006; Coma *et al.*, 2007) เป็นต้น สำหรับเศษอาหารคือเศษอาหารที่ได้จากโรงอาหารคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

1. การศึกษาหาปริมาณกรดฟอร์มิกและกรดอะซิติกจากตัวแทนเศษอาหาร

อย่างไรก็ตามเพื่อลดขั้นตอนการอบแห้งตัวอย่าง งานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างสดซึ่งต้องทำการเทียบจากน้ำหนักแห้งเท่ากันของแต่ละตัวอย่างที่ทำการศึกษ ตัวอย่างสดที่นำมาเทียบได้กับน้ำหนักแห้ง 20 กรัม ผสมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร รวมทั้งมีการเติม 1 มิลลิลิตรของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หรือ/และ 1 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ แล้วทำการใส่ตัวอย่างลงในขวดภาชนะปิดฝาให้สนิท แล้วเข้าหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล เป็นเวลา 60 นาที ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของกรดฟอร์มิกและกรดอะซิติกแสดงดังตารางที่ 2

จากตารางที่ 2 พบว่าในทุกสภาวะของการทดลองตัวอย่างทั้งหมดสามารถผลิตกรดฟอร์มิกได้ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล โดยที่สภาวะดังกล่าวนี้ตรวจไม่พบกรดอะซิติก อย่างไรก็ตามมีรายงานวิจัยของ Ami *et al.* (2007) ได้ศึกษาหาสารประกอบในกากชานอ้อยที่ผ่านการตากแห้งและอบที่

Table 1 Proximate analysis and ultimate analysis of representative food waste and dried food waste

Samples	Proximate Analysis ^a (%dry basis)				Ultimate Analysis ^a				
	Moisture content	Volatile compound	Fixed carbon	Ash	C	H	N	S	O
cooked rice	2.78	4.87	90.76	1.59	54.6	7.28	12.0	0.85	13.7
pork sirloin	7.07	4.01	84.6	4.32	42.0	6.27	1.71	0.145	31.9
vegetable oil	-	99.7	0.30	-	77.5 ^b	11.5 ^b	1.16 ^b	- ^b	9.90 ^b
Food waste	3.50	4.46	89.2	2.85	50.2	6.91	3.35	0.31	23.4

^a weight percent on dry basis, ^b The Center for Scientific and Technological Equipment, Suranaree University of Technology could not analyse C, H, N, S and O values of vegetable oil. Therefore the results referred to previous research "Reactions of different food classes during subcritical water gasification for hydrogen gas production" (Muangrat *et al.*, 2012)

Table 2 Quantity of formic acid and acetic acid produced from representative food waste samples

Samples	Formic acid (ppm)	Acetic acid (ppm)
1. cooked rice + water	136.04 ± 0.05 ^c	nd
2. cooked rice + water + H ₂ O ₂	129.36 ± 1.43 ^d	nd
3. cooked rice + water + NaOH	399.02 ± 0.02 ^b	nd
4. cooked rice + water + H ₂ O ₂ + NaOH	551.60 ± 1.99 ^a	nd
5. pork sirloin + water	72.79 ± 0.15 ^k	nd
6. pork sirloin + water + H ₂ O ₂	89.74 ± 1.05 ⁱ	nd
7. pork sirloin + water + NaOH	90.26 ± 0.36 ⁱ	nd
8. pork sirloin + water + H ₂ O ₂ + NaOH	79.50 ± 0.71 ^j	nd
9. vegetable oil + water	93.81 ± 1.14 ^h	nd
10. vegetable oil + water + H ₂ O ₂	112.11 ± 0.16 ^e	nd
11. vegetable oil + water + NaOH	105.39 ± 0.01 ^f	nd
12. vegetable oil + water + H ₂ O ₂ + NaOH	97.21 ± 0.30 ^g	nd

nd is not detected. The different letters within the same column state significant differences of the mean values ($P \leq 0.05$)

อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาบดให้มีขนาด 40 เมช (mesh) ซั่งตัวอย่างที่ได้ 0.5 กรัมมาทำการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ที่ผสมกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid, H₂SO₄) ความเข้มข้นร้อยละ 72 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สารละลายที่ได้นำไปให้ความร้อนต่อภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าสารละลายสกัดที่ได้มีสารประกอบหลักสำคัญคือกลูโคส (glucose) ลิกนิน (lignin) และไซโลส (xylose) ร้อยละ 36, 27 และ 20 ตามลำดับ ขณะที่กรดอะซิติกมีเพียงร้อยละ 5.7 สำหรับ

งานวิจัยที่ศึกษาทดลองในครั้งนี้ไม่ได้ใช้กรดแก่ในการย่อยตัวอย่างก่อน อุณหภูมิที่ใช้ 121 องศาเซลเซียส จึงอาจไม่เพียงพอในการย่อยสลายตัวอย่างเพื่อให้ได้กรดอะซิติกออกมา ดังนั้นอาจจะต้องเพิ่มอุณหภูมิให้สูงมากขึ้นเพื่อสลายเอากรดอะซิติกออกมา (Hao *et al.*, 2003)

ผลการทดลองในตารางที่ 2 พบว่า H₂O₂ และ NaOH สามารถย่อยสลายข้าวสุก เนื้อหมู และน้ำมันพืช เพื่อผลิตกรดฟอร์มิกได้ สำหรับตัวอย่างข้าวสุกที่มีการเติม NaOH ร่วมกับ H₂O₂ ยังสามารถเพิ่มปริมาณของกรดฟอร์มิกและมีปริมาณมากกว่าตัวอย่างเนื้อหมูและน้ำมันพืช ขณะที่การใช้ NaOH ร่วมกับ H₂O₂ เดิมลงในตัวอย่าง

เนื้อหมูและน้ำมันพืชปรากฏว่าไม่ได้ช่วยเพิ่มปริมาณของกรดฟอร์มิก อาจเนื่องจากทั้งเนื้อหมูและน้ำมันพืชมีอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายสูงกว่าข้าวจึงเป็นไปได้ที่ผลิตภัณฑ์กรดฟอร์มิกได้ในปริมาณที่ต่ำกว่า อีกทั้ง NaOH ยังสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนในเนื้อหมูผ่านปฏิกิริยา neutralization (Elliott, 2008) และทำปฏิกิริยากับกรดไขมันในน้ำมันพืชเกิดเป็นสบู่ผ่านปฏิกิริยาสะปอนิฟิเคชัน (saponification) (Elliott, 2008) จึงทำให้สูญเสีย NaOH ที่ช่วยในการย่อยสลายตัวอย่างให้กลายเป็นกรดฟอร์มิกหรือโซเดียมฟอร์มเมท (HCOONa) (Muangrat *et al.*, 2010) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่สามารถนำไปผลิตก๊าซ H_2 (ซึ่งได้อธิบายในหัวข้อต่อไป)

2. การศึกษาหาปริมาณก๊าซที่ได้จากตัวแทนเศษอาหารและเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ

นอกจากนี้ยังศึกษาปริมาณก๊าซที่ผลิตได้จากตัวอย่างข้าวสุกที่ศึกษาจากตารางที่ 2 มาตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณก๊าซที่ผลิตได้ แสดงผลดังตารางที่ 3

ผลการศึกษาในตารางที่ 3 พบว่าการเติม H_2O_2 สามารถผลิต CO_2 ได้มากกว่าสภาวะอื่นๆ ขณะที่การเติม H_2O_2 ร่วมกับ NaOH ทำให้ปริมาณของ CO_2 ลดลง ซึ่งเป็นไปได้ที่ NaOH ทำปฏิกิริยากับ CO_2 ได้เป็น $NaHCO_3$ ($NaOH + CO_2 \rightarrow NaHCO_3$) ซึ่งไม่ค่อยเสถียรและเกิดปฏิกิริยาต่อได้เป็น Na_2CO_3 ($NaHCO_3 + NaOH \rightarrow Na_2CO_3 + H_2O$) แต่ก็มีในปริมาณที่น้อยมากจนไม่สามารถพบ $NaHCO_3$ และ Na_2CO_3 ได้ด้วยการวิเคราะห์โดย XRD ที่แสดงในภาพที่ 1

จากภาพที่ 1 เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffraction; XRD) เป็นการตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างแบบไม่ทำลาย (non-destructive method) โดยใช้หลักการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ตกกระทบผิวหน้าผลึกของสารตัวอย่างที่มุมตกกระทบแตกต่างกัน ผลการวิเคราะห์ที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลมาตรฐานเพื่อระบุวิฤภาคองค์ประกอบของสารตัวอย่าง งานวิจัยนี้ไม่เพียงแต่นำเทคนิคดังกล่าวมาตรวจหา $NaHCO_3$ และ Na_2CO_3 แต่ยังนำมาตรวจวิเคราะห์โซเดียมฟอร์มเมท ($HCOOH + NaOH \rightarrow HCOONa + H_2O$) ซึ่งเป็น intermediate compound ที่สามารถนำมาผลิตก๊าซ H_2 ($6NaCOOH + 6H_2O \rightarrow 6H_2 + 6NaHCO_3$) ผลการวิเคราะห์โซเดียมฟอร์มเมท (HCOONa) ด้วยเครื่อง XRD (ภาพที่ 1) ปรากฏว่าไม่สามารถตรวจพบโซเดียมฟอร์มเมท อาจเป็นไปได้ว่ากรดฟอร์มิกที่ได้เพื่อทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์มีปริมาณที่น้อยมากจนไม่สามารถผลิต HCOONa ในปริมาณที่ตรวจพบได้เครื่องด้วย XRD

อย่างไรก็ตามการเติม NaOH ร่วมกับ H_2O_2 ลงไปสามารถย่อยสลายข้าวสุกเป็นกรดฟอร์มิกรวมทั้งยังผลิต CO ซึ่ง CO ที่ผลิตได้สามารถนำมาผลิต H_2 ได้โดยผ่านปฏิกิริยา water-gas shift reaction ($CO + H_2O \rightarrow CO_2 + H_2$) (Elliott, 2008; Muangrat *et al.*, 2010) แต่ปริมาณก๊าซ H_2 ที่ได้จากข้าวสุกเมื่อให้ความร้อนภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล อาจมีน้อยมาก จึงทำให้ไม่พบก๊าซ H_2 ที่ตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (ตารางที่ 3) หรือกล่าวได้ว่าไม่สามารถผลิตก๊าซ H_2 จากข้าวสุกเมื่อให้ความร้อนภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาลได้

Table 3 Gases produced from cooked rice samples under autoclave condition of 121 °C (101.3 kPa) for 60 min

Samples	CO (%v/v)	CO ₂ (%v/v)	O ₂ (%v/v)	N ₂ (%v/v)
1. cooked rice + water	-	0.06 ± 0.00 ^c	29.04 ± 0.08 ^b	70.90 ± 0.14 ^a
2. cooked rice + water + H ₂ O ₂	-	0.22 ± 0.01 ^a	29.18 ± 0.07 ^a	70.60 ± 0.21 ^{bc}
3. cooked rice + water + NaOH	-	0.06 ± 0.00 ^c	29.19 ± 0.04 ^a	70.25 ± 0.05 ^c
4. cooked rice + water + H ₂ O ₂ + NaOH	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.00 ^b	27.81 ± 0.06 ^b	70.74 ± 0.13 ^{ab}

The different letters within the same column state significant differences of the mean values ($P \leq 0.05$)

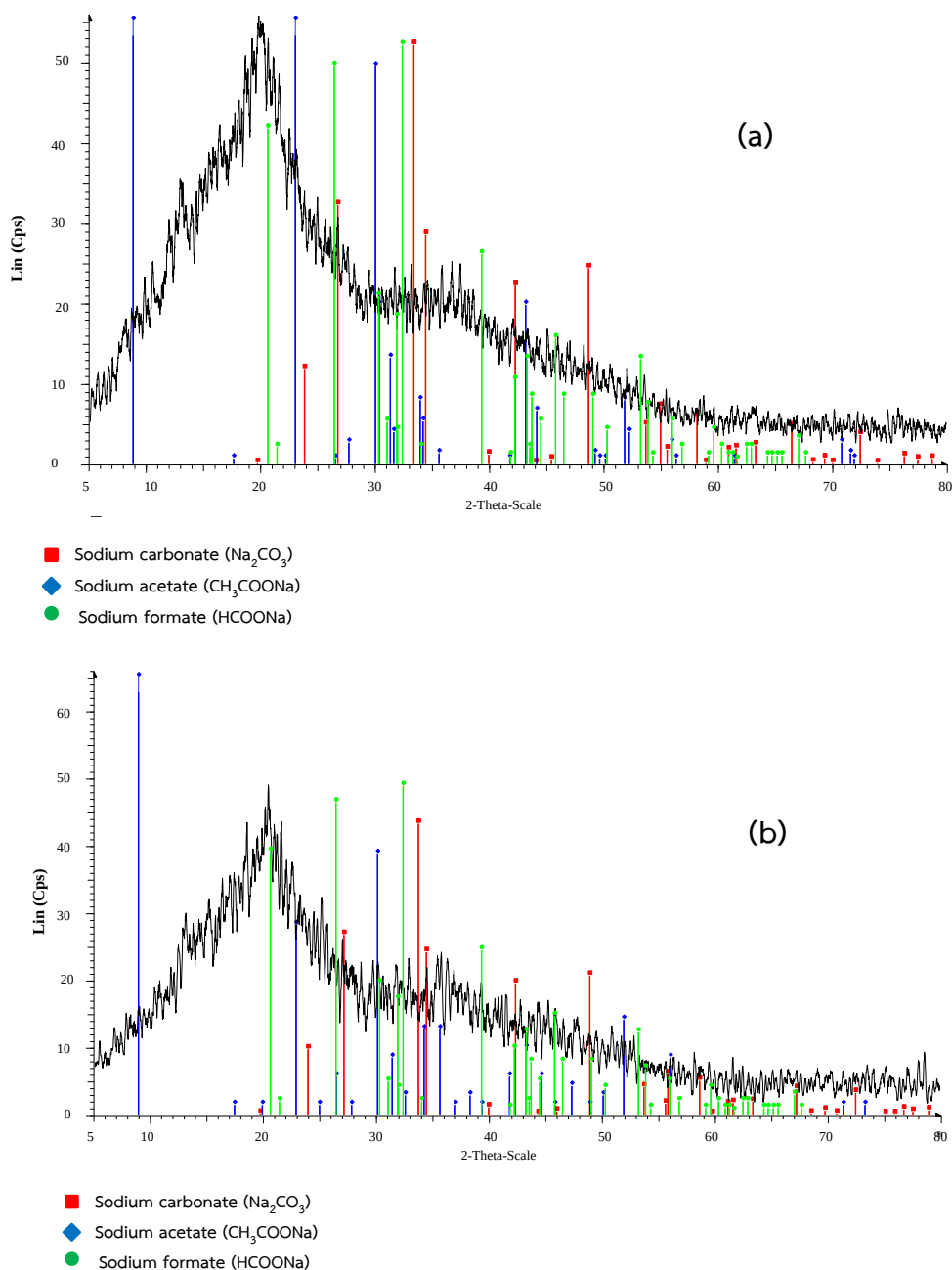


Figure 1 XRD scans from dried cooked rice samples when were cooked with (a) 1ml of H_2O_2 30% (w/w) (b) 1ml of H_2O_2 30% (w/w) added 1ml of 1M NaOH solution under autoclave condition of 121 °C (101.3 kPa) for 60 min.

จากผลในตารางที่ 1 ทั้งโปรตีน (เนื้อหมู) และ น้ำมันพืชย่อยสลายให้กรดฟอร์มิกได้เมื่อให้ความร้อน ภายใต้หม้อนึ่งอัดไอ เศษอาหารจริงซึ่งประกอบไปด้วย คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และองค์ประกอบอื่น ๆ ในสัดส่วนที่แตกต่างกันในแต่ละที่ และแต่ละชนิดของเศษอาหาร จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำเศษอาหารมาย่อยสลายกรดฟอร์มิกภายใต้หม้อนึ่งอัดไอ ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องสกัดโปรตีนและไขมันออกจากเศษอาหารจริง งานวิจัยในส่วนต่อไปจึงศึกษาหาเพียงปริมาณกรดฟอร์มิกเท่านั้น เนื่องจากไม่สามารถตรวจพบกรดอะซิติก

จากตารางที่ 3 พบว่าก๊าซที่ตรวจพบในขวดปิดสนิทเมื่อตัวอย่างของแต่ละสภาวะที่ศึกษาถูกนำไปให้ความร้อนมีปริมาณรวมเท่ากับร้อยละ 100 ตัวอย่างก๊าซที่วิเคราะห์ได้มาจากปฏิกิริยาต่างๆที่เกิดขึ้น (ไม่ได้มาจากอากาศ) เช่น ปริมาณก๊าซออกซิเจนที่ตรวจพบในสภาวะที่มีการเติม H_2O_2 บางส่วนอาจมาจาก H_2O_2 ที่สลายตัวไปเป็นน้ำและก๊าซออกซิเจน ($2H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$) ส่งผลให้ปริมาณออกซิเจนที่ได้มีมากขึ้น หรือจากปฏิกิริยาอื่น ๆ ที่เกิดขึ้น เป็นต้น และในสภาวะที่ไม่มีการเติม H_2O_2 ยังปรากฏว่ามีปริมาณก๊าซออกซิเจนและไนโตรเจนไม่แตกต่างจากกรณีที่ไม่เติม H_2O_2 อาจเนื่องจากปฏิกิริยาอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นจากสารประกอบตัวอื่น ๆ ที่มีการย่อยสลายออกมาเป็นออกซิเจนหรือไนโตรเจนก็ได้ ซึ่งงานวิจัยนี้ยังไม่ได้ทำการศึกษามีปฏิกิริยาใดบ้างที่ผลิตก๊าซออกซิเจนและไนโตรเจนอาจต้องมีการศึกษาต่อไป

3. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณกรดฟอร์มิกภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ

เนื่องจากเศษอาหารมีส่วนประกอบหลักสำคัญคือคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน (Digman and Kim, 2008) แต่อย่างไรก็ตามสัดส่วนที่แท้จริงของแต่ละองค์ประกอบในเศษอาหารไม่แน่นอนขึ้นกับชนิดของเศษอาหาร และแหล่งที่มาของเศษอาหาร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเตรียมตัวอย่างตัวแทนเศษอาหารโดยสมมุติให้องค์ประกอบหลักคือคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน มีสัดส่วนที่เท่ากัน งานวิจัยนี้จึงเตรียมเศษอาหารจากตัวแทนเศษอาหารที่ประกอบด้วยข้าวสุก เนื้อหมู และน้ำมันพืช ที่เป็นตัวแทนของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และ

ไขมัน ตามลำดับ ในสัดส่วนที่เท่ากันคืออย่างละร้อยละ 33.33 โดยน้ำหนัก และทำการศึกษาค่าปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณกรดฟอร์มิกภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอที่ 121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล ได้แก่ เวลาภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) แสดงได้ดังต่อไปนี้

3.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ต่อปริมาณกรดฟอร์มิกที่ย่อยสลายได้จากตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ

จากภาพที่ 2 H_2O_2 มีส่วนช่วยในการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารไปเป็นกรดฟอร์มิกโดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ H_2O_2 ปริมาณกรดฟอร์มิกที่ย่อยสลายได้มีค่าเพิ่มมากขึ้นแต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงกว่าร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนัก พบว่าปริมาณกรดฟอร์มิกมีค่าลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่สูงขึ้น สามารถย่อยสลายสารประกอบรวมถึงกรดฟอร์มิกไปเป็นก๊าซ CO_2 ส่งผลให้ปริมาณกรดฟอร์มิกลดลงได้ (Lu *et al.*, 2011)

3.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ต่อปริมาณกรดฟอร์มิกที่ย่อยสลายได้จากตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ

จากภาพที่ 3 NaOH มีส่วนช่วยในการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารไปเป็นกรดฟอร์มิกได้ดีและ NaOH มีความสามารถในการเร่งการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารได้มากกว่า H_2O_2 (Kojima *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2011) โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NaOH ปริมาณกรดฟอร์มิกที่ย่อยสลายได้มีค่าเพิ่มมากขึ้นแต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงกว่า 0.5 โมลาร์ พบว่าปริมาณกรดฟอร์มิกมีค่าลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของ NaOH ที่สูงขึ้นหรือปริมาณ NaOH ที่มากขึ้นอาจมีบางส่วนถูกนำไปใช้เพื่อทำปฏิกิริยากับ CO_2 เกิดเป็น $NaHCO_3$ และ/หรือ Na_2CO_3 หรือ NaOH บางส่วนอาจไปทำปฏิกิริยากับกรดฟอร์มิกเกิดเป็นโซเดียมฟอร์มเมท ($HCOONa$) แต่ปริมาณโซเดียมฟอร์มเมทอาจมีน้อยมากจนไม่สามารถตรวจพบได้โดยวิธี XRD (ดังภาพที่ 1 ที่อธิบายไว้ในหัวข้อ 3.1) นอกจากนี้ NaOH ยังสามารถทำปฏิกิริยากับกรด

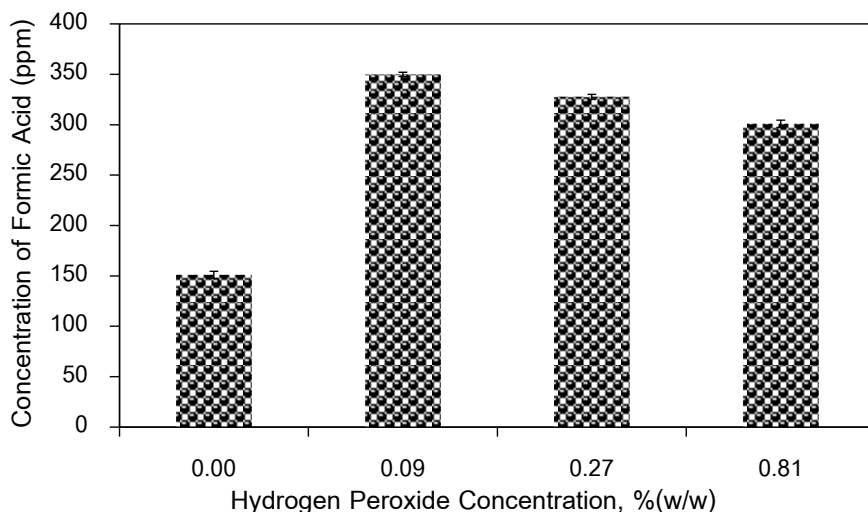


Figure 2 Concentration of formic acid at different concentrations of H_2O_2 when representative food waste heated under autoclave condition of 121 °C (101.3 kPa) for 60 min.

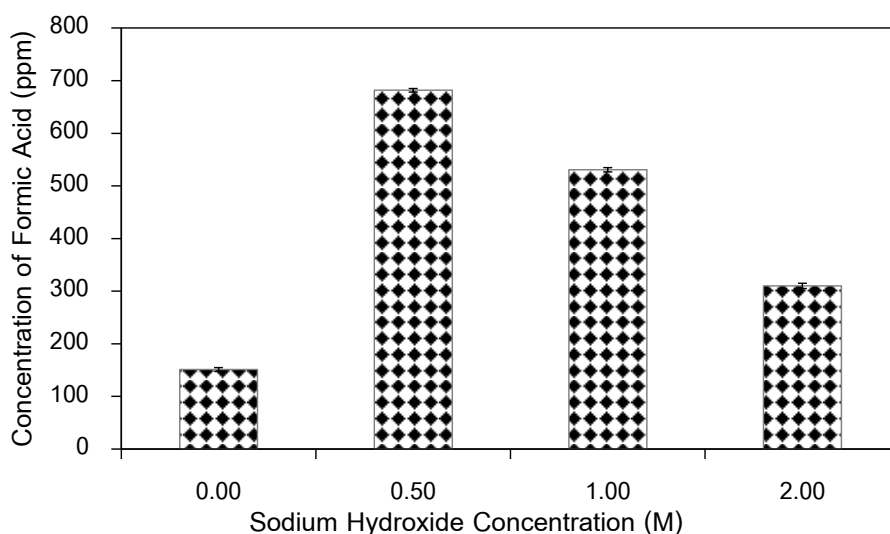


Figure 3 Concentration of formic acid at different concentrations of NaOH when representative food waste heated under autoclave condition of 121 °C (101.3 kPa) for 60 min.

อะมิโนในเนื้อหมูผ่านปฏิกิริยา neutralization (Elliott, 2008) และทำปฏิกิริยากับกรดไขมันในน้ำมันพืชเกิดเป็นสบู่ผ่านปฏิกิริยาสะปอนิฟิเคชัน (Elliott, 2008) (ดังอธิบายไว้ในหัวข้อ 3.1) ดังนั้น NaOH ที่สูญเสียไปนี้ส่งผลให้การย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารไปเป็นกรดฟอร์มิกลดลง

3.3 อิทธิพลของเวลาต่อปริมาณกรดฟอร์มิกที่ย่อยสลายได้จากตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ

เมื่อเวลาในการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอนานขึ้น ปริมาณกรดฟอร์มิกที่ได้จึงเพิ่มขึ้น โดย NaOH ส่งผลต่อการเพิ่มของกรดฟอร์มิก และจากภาพที่ 4 และ 5 ยังพบว่า NaOH ช่วยให้เกิดการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารได้มากกว่า H_2O_2

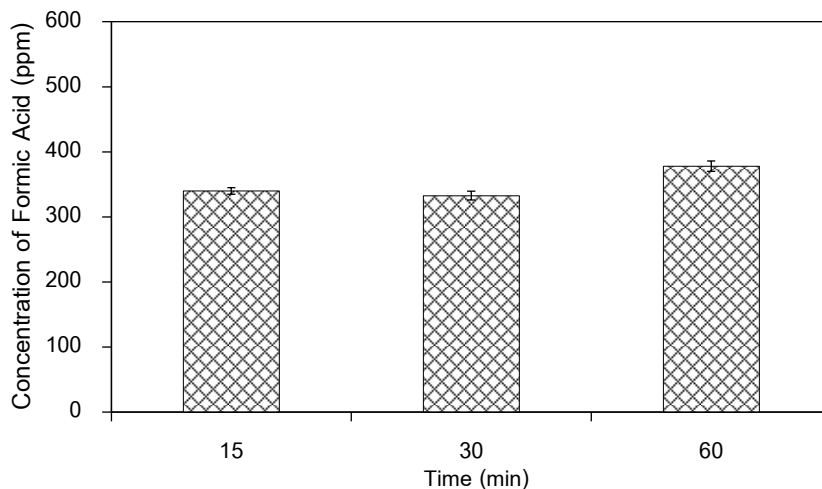


Figure 4 Concentration of formic acid at different times when representative food waste heated under autoclave condition of H_2O_2 0.09% (w/w) and 121°C (101.3 kPa)

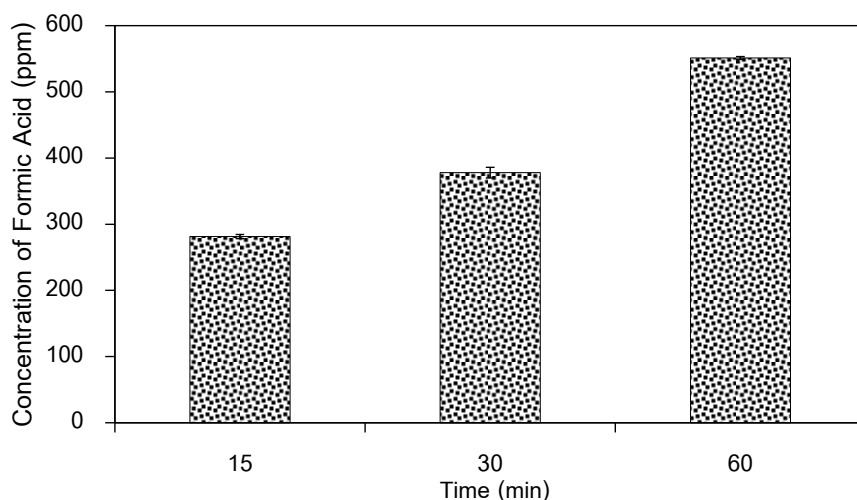


Figure 5 Concentration of formic acid at different times when representative food waste heated under autoclave condition of NaOH 1 M and 121°C (101.3 kPa)

3.4 อิทธิพลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ต่อปริมาณกรดฟอร์มิกที่ย่อยสลายได้จากตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ

จากภาพที่ 6 พบว่าการเติม NaOH ร่วมกับ H_2O_2 สามารถย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอเพื่อผลิตกรดฟอร์มิกได้แต่ปริมาณกรดฟอร์มิกที่ได้ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับการเติม NaOH หรือ H_2O_2 เพียงอย่างเดียว อาจกล่าวได้ว่า NaOH ที่ควรถูก

นำไปใช้ย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารเพื่อผลิตกรดฟอร์มิกบางส่วนจึงสูญเสียไปเพราะอาจไปทำปฏิกิริยากับกรดฟอร์มิก และ CO_2 ที่ผลิตได้จากการใช้ H_2O_2

อย่างไรก็ตามต้องทำการศึกษาต่อถึงอัตราส่วนของ NaOH และ H_2O_2 ที่เหมาะสมเพื่อทราบถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยาที่สำคัญในการผลิตกรดฟอร์มิกจากการย่อยสลายได้จากตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอต่อไป

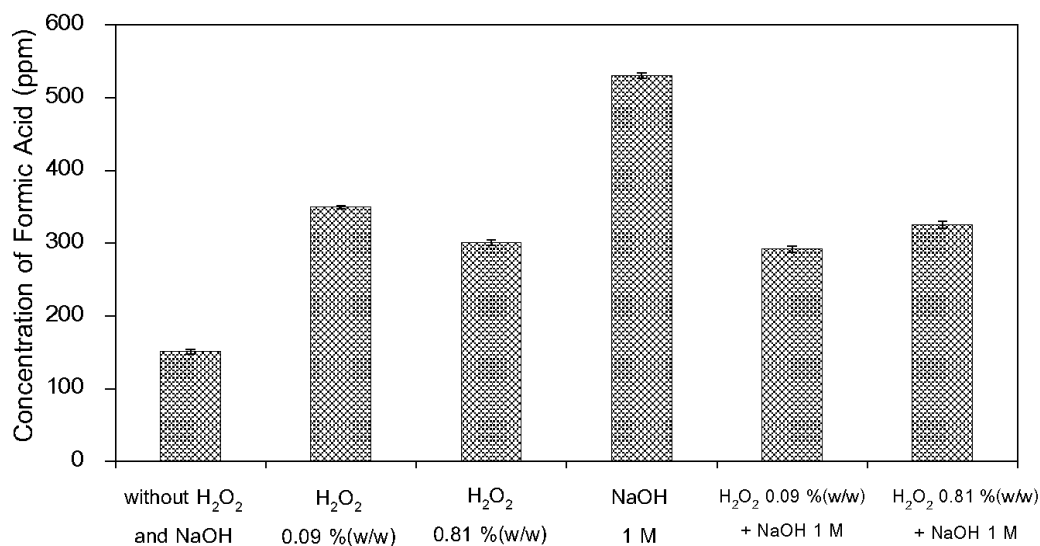


Figure 6 Concentration of formic acid at different conditions when representative food waste heated under autoclave condition of 121 °C (101.3 kPa) and 60 min.

สรุป

ตัวแทนเศษอาหารที่ประกอบด้วยปริมาณข้าวสุก เนื้อหมูสันนอกสไลด์ และน้ำมันพืชอย่างละร้อยละ 33.33 โดยน้ำหนัก เมื่อได้รับความร้อนภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ (121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล) สามารถผลิตกรดฟอร์มิก ขณะที่กรดอะซิติกไม่สามารถตรวจพบได้ H₂O₂ มีส่วนช่วยในการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารไปเป็นกรดฟอร์มิกโดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ H₂O₂ ปริมาณกรดฟอร์มิกที่่อยสลายได้มีค่าเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงกว่าร้อยละ 0.09 โดยน้ำหนัก พบว่าปริมาณกรดฟอร์มิกมีค่าลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของ H₂O₂ ที่สูงขึ้นสามารถย่อยสลายสารประกอบซึ่งรวมถึงกรดฟอร์มิกไปเป็นก๊าซ CO₂ หรือ CO มากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณกรดฟอร์มิกลดลงได้ NaOH มีความสามารถในการเร่งการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารได้มากกว่า H₂O₂ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NaOH ปริมาณกรดฟอร์มิกที่่อยสลายได้มีค่าเพิ่มมากขึ้นแต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงกว่า 0.5 โมลาร์ พบว่าปริมาณกรดฟอร์มิกลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของ NaOH ที่สูงขึ้นหรือปริมาณ NaOH ที่มากขึ้นอาจมีบางส่วนถูกนำไปใช้เพื่อทำปฏิกิริยากับ CO₂ เกิดเป็น NaHCO₃ และ/หรือ

Na₂CO₃ นอกจากนี้ NaOH ยังสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนในเนื้อหมูผ่านปฏิกิริยา neutralization และทำปฏิกิริยากับกรดไขมันในน้ำมันพืชเกิดเป็นสบู่ผ่านปฏิกิริยาสะปอนิฟิเคชันทำให้สูญเสีย NaOH บางส่วนเพื่อใช้ย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารไปเป็นกรดฟอร์มิก เมื่อใช้ NaOH หรือใช้ NaOH ร่วมกับ H₂O₂ ในการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ (121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล) พบว่าไม่สามารถตรวจพบไฮเดียมฟอร์มเมทและไฮเดียมอะซิเตทโดยวิธี XRD เมื่อเวลาในการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอให้นานขึ้น ปริมาณกรดฟอร์มิกที่ได้มีค่ามากขึ้น โดย NaOH สามารถเร่งการย่อยสลายตัวแทนเศษอาหารและผลิตกรดฟอร์มิกได้มากกว่าการใช้ H₂O₂ หรือการใช้ร่วมกันระหว่าง NaOH และ H₂O₂ ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามกลไกการเกิดปฏิกิริยาสำคัญในการผลิตกรดฟอร์มิกจากเศษอาหารเมื่อใช้ NaOH ร่วมกับ H₂O₂ ภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดไอ (121 องศาเซลเซียส และ 101.3 กิโลปาสคาล) การศึกษาสภาวะของหม้อนึ่งอัดไอ เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิหรือความดันไอที่สูงขึ้นต่อการเพิ่มปริมาณกรดฟอร์มิกและกรดอะซิติก และเมื่อเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนในหม้อนึ่งอัดไอเป็นระยะเวลา

มากกว่า 60 นาที เพื่อหาจุดคงตัวในการผลิตกรดฟอร์มิก
งานวิจัยจะต้องมีการศึกษาทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ดวงกมล กุศลันทียะ และ สุทธิพงศ์ อริยะพงศ์สรรค์. 2559. ผลของการใช้กากมะเขือเทศแห้งในอาหารชั้นต่อการย่อยได้ของโภชนะและสมรรถนะการเจริญเติบโตของโคพื้นเมืองไทย. วารสารเกษตร 32(2): 261-271.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2012. Standard test method for ash in the analysis sample of coal and coke from coal; ASTM D3174-12; ASTM International: West Conshohocken, PA, USA.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2008. Standard test methods for instrumental determination of carbon, hydrogen, and nitrogen in laboratory samples of coal; ASTM D5373-08; ASTM International: West Conshohocken, PA, USA.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2009. Standard test method for determination of major and minor elements in coal, coke, and solid residues from combustion of coal and coke by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry; ASTM D6349-09; ASTM International: West Conshohocken, PA, USA.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2010. Standard test method for analysis of natural gas by gas chromatography; ASTM D1945-03; ASTM International, 100 Bar Harbor Drive, West Conshohocken, PA 19428 USA.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2012. Standard method for the examination of water and wastewater. The American Public Health Association (APHA), the American Water Works Association (AWWA), and the Water Environment Federation (WEF). 22nd ed.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). 2007. Standard test methods for moisture, ash, and organic matter of peat and other organic soils; ASTM D2974-07a; ASTM International: West Conshohocken, PA, USA.
- Arni, S.A., M. Zilli and A. Converti. 2007. Solubilization of lignin components of food concern from sugarcane bagasse by alkaline hydrolysis. Cienciy Tecnologia Alimentaria 5(4): 271-277.
- Chang, J.I. and T.E. Hsu. 2008. Effects of compositions on food waste composting. Bioresource Technology 99(17): 8068-8074.
- Corma, A., S. Iborra and A. Velty. 2007. Chemical routes for the transformation of biomass into chemicals. Chemical Reviews 107: 2411-2502.
- Digman, B. and D.S. Kim. 2008. Review: Alternative energy from food processing wastes. Environmental Progress 27(4): 524-537.
- Elbeshbishy, E., H. Hafez and G. Nakhla. 2011. Ultrasonication for biohydrogen production from food waste. International Journal of Hydrogen Energy 36: 2896-2903.
- Elliott, D.C. 2008. Review: Catalytic hydrothermal gasification of biomass. Biofuels, Bioproducts and Biorefining 2: 254-265.
- Hao, X.H., L.J. Guo, X. Mao, X.M. Zhang and X.J. Chen. 2003. Hydrogen production from

- glucose used as a model compound of biomass gasified in supercritical water. *International Journal of Hydrogen Energy* 28(1): 55-64.
- Huber, G., S. Iborra and A. Corma. 2006. Synthesis of transportation fuels from bio-mass: chemistry, catalysts, and engineering. *Chemical Reviews* 106: 4044-4098.
- Jin, F., Y. Watanabe, A. Kishita, H. Enomoto and H. Kishida. 2008. Production of acetic acid by hydrothermal two-step process of vegetable wastes for use as a road deicer. *Journal of Physics: Conference Series* 121(8).
- Kojima, Y., T. Fukuta, T. Yamada, M.S. Onyango, E.C. Bernardo, H. Matsuda and K. Yagishita. 2005 Catalytic wet oxidation of o-chlorophenol at mild temperatures under alkaline conditions. *Water Research* 39(1): 29-36.
- Kruse, A. 2008. Supercritical water gasification. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 2(5): 415-437.
- Lu, M., X. Zeng, J.L. Cao, Z.B. Huo and F.M. Jin. 2011. Production of formic and acetic acids from phenol by hydrothermal oxidation. *Research on Chemical Intermediates* 37: 201-209.
- Muangrat, R., J.A. Onwudili and P.T. Williams. 2010. Influence of alkali catalysts on the production of hydrogen-rich gas from the hydrothermal gasification of food processing waste. *Applied Catalysis B: Environmental* 100(3-4): 440-449.
- Muangrat, R., J.A. Onwudili and P.T. Williams. 2012. Reactions of different food classes during subcritical water gasification for hydrogen gas production. *International Journal of Hydrogen Energy* 37(3): 2248-2259.
- Onwudili, J.A. and P.T. Williams. 2010. Hydrothermal reactions of sodium formate and sodium acetate as model intermediate products of the sodium hydroxide-promoted hydrothermal gasification of biomass. *Green Chemistry* 12: 2214-2224.
- Quitain, A.T., M. Faisal, K. Kang, H. Daimon and K. Fujie. 2002. Low-molecular-weight carboxylic acids produced from hydrothermal treatment of organic wastes. *Journal of Hazardous Materials* 93(2): 209-220.
- Tedsree, K., T. Li, S. Jones, C.W.A. Chan, K.M.K. Yu, P.A.J. Bagot, E.A. Marquis, G.D.W. Smith and S.C.E. Tsang. 2011. Hydrogen production from formic acid decomposition at room temperature using a Ag-Pd core-shell nanocatalyst. *Nature Nanotechnology* 6: 302-307.
- U.S. Environmental Protection Agency (USEPA). 2001. Total, Fixed and Volatile Solids in Water, Solids and Biosolids; EPA-821-R-01-015; Water Resource Center: Washington, DC, USA.
- Yun, J., F. Jin, A. Kishita, K. Tohji and H. Enomoto. 2010. Formic acid production from carbohydrates biomass by hydrothermal reaction. *Journal of Physics: Conference Series* 215.

ดัชนีบทความในวารสารเกษตร ฉบับที่ 1 และ 2 ปีที่ 32 (2559)

ฉบับที่ 1 มกราคม - เมษายน 2559

	หน้า
การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลำไยด้วยเทคนิคไอดีอาร์เอฟทีดี	1
ผลของน้ำตาลซูโครส ถ่านกัมมันต์ และระยะเวลาการให้แสงต่อการสร้างเหง้าของชิงในสภาพปลอดเชื้อ	9
การยอมรับการผลิตมะม่วงตามหลักเกษตรที่ดีและเหมาะสมของเกษตรกรในอำเภอสามโก้ จังหวัดอ่างทอง	19
ปัจจัยที่สัมพันธ์กับแรงจูงใจของทายาทเกษตรกรในการสานต่ออาชีพเกษตรในอำเภอสนป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่	29
การย้ายถิ่นระดับจังหวัดกับการเปลี่ยนแปลงของประชากรเกษตรในประเทศไทย	39
ผลของโพแทสเซียมซิลิเกตในการควบคุมโรคราแป้งและราน้ำค้างของแตงกวาญี่ปุ่นภายใต้สภาพโรงเรือนและแปลงปลูกของเกษตรกร	51
ประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพจากเชื้อเห็ดฟริกต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ในสภาพห้องปฏิบัติการ	61
การรบกวนยีนต้านทานเพปไทด์จากเชื้อรา <i>BC₄F₃₋₄</i> [(ราตุฮีนติ/ขาวดอกมะลิ 105) X ชัยนาท 1] และ [(อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) X ชัยนาท 1]	73
ชีววิทยาของเพลี้ยหอยสีเขียว (<i>Coccus viridis</i> Green) และการควบคุมด้วยสารฆ่าแมลงและเชื้อราสาเหตุโรคแมลงในแปลงปลูกกาแฟ	83
การเจริญของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (<i>Cordyceps militaris</i>) บนดักแด้ไหมไทยพื้นบ้านพันธุ์นางลายและไหมป่าอีรี่	95
ผลของการเสริมสาหร่าย ยีสต์ และโปรไบโอติกต่อผลผลิตไข่ ลักษณะซาก และคุณภาพเนื้อของไก่ไข่ปลดระวาง	103
การใช้ขี้ข้าวโพดหมักทดแทนอาหารผสมสำเร็จรูปในไก่ลูกผสมพื้นเมือง	111
อิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนและองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าแพงโกล่า	118
ลักษณะของลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีนอินซูลินไลต์โกรทแฟคเตอร์วีน (IGF-I) ในปลาบึก (<i>Pangasianodon gigas</i>) และปลาสาวย (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>)	127
การใช้กรดอินทรีย์ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มก่อโรค (ซัลโมเนลล่า) ในทางเดินอาหารของสัตว์ปีก	139

ฉบับที่ 2 พฤษภาคม - สิงหาคม 2559

การประเมินฤทธิ์สารต้านจุลินทรีย์ก่อโรคพืชของราเอนโดไฟต์ที่แยกจากกาฝากและพืชอาศัยของกาฝาก	151
ชนิดและสีของครึ่ง (Hemiptera: Kerriidae) จากพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย	163
ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในโรงควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในแบบยั้งเดิบนพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่	171
ผลของสารฆ่าราบางชนิดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> สาเหตุโรคหอยหลอด	181
ความแปรปรวนของปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวเก่าพันธุ์พื้นเมืองของไทย	191
การใช้วิธีวิเคราะห์การจัดกลุ่มหมู่บ้าน เพื่อส่งเสริมเกษตรอินทรีย์ในจังหวัดเชียงใหม่	201
การเสริมสร้างศักยภาพของเกษตรกรในการผลิตฟริกพื้นเมืองพันธุ์หัวเรือตามมาตรฐานเกษตรปลอดภัยในจังหวัดอุบลราชธานี	209
การจัดการโลจิสติกส์ของธุรกิจไข่ไก่ในจังหวัดฉะเชิงเทรา	223
การพัฒนาสูตรชาชงใบหม่อนผสมผลหม่อนโดยใช้การทดลองออกแบบส่วนผสม	235
ผลของกากเอทานอลแห้งในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคให้นม	247
ผลของการใช้กากมะเขือเทศแห้งในอาหารชั้นต่อการย่อยได้ของโภชนะและสมรรถนะการเจริญเติบโตของโคพื้นเมืองไทย	261
ผลของการเสริมกากมะเขือเทศต่อสมรรถภาพการให้ผลผลิต คุณภาพไข่ และค่าโลหิตวิทยาในไก่ไข่	273
บทความปริทัศน์:	
การใช้ประโยชน์ข้าวโพดด้านอาหารสัตว์ในพื้นที่สูงเขตภาคเหนือของประเทศไทย	283

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ (ต่อ)

รูปแบบในการใช้ภาษาอังกฤษในเนื้อเรื่องภาษาไทย

- ชื่อวิทยาศาสตร์ คำขึ้นต้นให้ใช้อักษรตัวใหญ่ และใช้อักษรตัวเอน
Meloidogyne incognita
- ชื่อเฉพาะ ให้ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่ทุกคำ
Berdmann, Marschner
- ภาษาอังกฤษทั้งในวงเล็บและนอกวงเล็บ ให้ใช้ตัวเล็ก
completely randomized design , (transition period)
- ตัวย่อ 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

JOURNAL OF AGRICULTURE

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Volume 32, Issue 3 September - December 2016

Interspecific and Intergeneric Crossabilities of <i>Eulophia macrobulbon</i> (Par. & Pchb. f.) Hook. f. and <i>E. spectabilis</i> (Dennst.) Suresh. Pongnatee Pintajam, Chantalak Tiyaon and Nuttha Potapohn.....	299
Development of Male Sterile Green Chili Lines by Backcross Method Kitisak Wongsing and Maneechat Nikornpun.....	309
Effect of Paclobutrazol on Vegetative Growth of <i>Cleistocalyx nervosum</i> var. <i>Paniala</i> Thunwarut Wongwian and Daruni Naphrom.....	321
Callus and Shoot Induction from Endosperm of Immature Physic Nut Seed Vikanda Sayvongjai, Thaneeya Chetianukornkul and Tanachai Pankasemsuk.....	331
Effect of Nitrogen on Cut Rose Quality in Potted Production Wannasiri Tunprasas and Soraya Ruamrungsri.....	339
Production of Virus-free Shallot Using Tissue Culture Techniques Natthika Wannarat and Kaewalin Kunasakdakul.....	347
Information System for Decision Making and Managing Cassava Pink Mealybug, <i>Phenacoccus manihoti</i> <i>Matile-Ferrero</i> (Hemiptera: Pseudococcidae) in Northeastern and Eastern Thailand Ratchadawan Ngoen-klan and Benjakhun Sangthongpraow.....	357
Efficacy of Aloe Rind Extracts on Diamondback Moth Larva Control Pannarasi Susirirut.....	369
Effect of Soil Amendments Combined with Phosphate Solubilizing Bacteria on Soil Chemical Properties under Moringa Canopy Jiraporn Inthasan, Chatprawe Dechjirattanasiri and Pravitt Boonmee.....	379
Effect of Replacement of Soybean Meal with Giant Mimosa on Growth, Carcass and Meat Quality of Japanese Quails Krittaphak Buranawit and Montri Punyatong.....	391
Beef Production Cost and Returns of Farmers in Wat Bot and Phrom Phiram District, Phitsanulok Province Suphawadee Yaemkong.....	401
Survey of the Perspective of Commercial Fish Culture in Pongluang Village, Wiangchai District, Chiang Rai Province Kanana Ardsoongnearn.....	409
Effects of Phospholipid Concentration and Mixing Methods on Properties of Astaxanthin Extract-loaded Liposomes Anantita Sangsuriyawong, Maruj Limpawattana, Dalad Siriwan, Passarapa Kaewnern and Wanwimol Klaypradit.....	421
Analyses of Bioactive Ingredients and Antioxidant Activities of Some Edible Flowers Pasutorn Ounamornmas and Sarana Sommano.....	435
Production of Formic Acid from Representative Food Waste Under Autoclave Conditions Rattana Muangrat.....	447