



วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม 2557

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *Doritis pulcherrima* Lindl. ต้นแคระ โดยเทคนิคอาร์เอพีดี และ ไอเอสเอสอาร์

มัลลิกา ดวงเขตต์ ณัฐา ไพธามรณ และวิวัฒน์ บัณฑิตย์.....99

การประเมินพ่อและแม่พันธุ์เพื่อการผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 ของผักกาดเขียวปลี

ธีรวัฒน์ สีทอง และ มณีจักร นิกรพันธุ์.....111

การปรับตัวต่อสภาพแอโรบิกของพันธุ์ข้าวไร่ และข้าวนาสวน

พุทธพงศ์ มะโนคำ ณัฐฐิณี ภัทรกุล ศันสนีย์ จำจด ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย และ เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม.....121

การจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน

ของข้าวที่ปลูกในชุดดินสรรพยา

อุไรวรรณ ไอยสุวรรณ.....133

การใช้เชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ชักนำให้เกิดความต้านทานโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี

ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ศิริมาศ ชัยชม และ เกวลิณ คุณาศักดากุล.....141

ปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) x ชัยนาท 1) กับแมลงบั่ว ในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สมชาย ธนสินชัยกุล สุรเดช ปาละวิสุทธิ

เจตน์ ศุภฤกษ์ และ คณิตา เกิดสุข.....151

การสำรวจเชื้อราไฟทอนและเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

ณัฐกานต์ งามแสงฤทธิ์ จิราพร กุลสาริน สิริญา คัมภีโร และ เสาวณีย์ อภิญาณูวัฒน์.....161

ผลของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยโดยรวมจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง

และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารไก่เนื้อ

วรรณพร ทะพิงค์แก สุรรัตน์ ถือแก้ว และ มงคล ยะไชย.....171

การทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ในอาหารชั้นต่อการย่อยได้ และความเข้มข้นของ

กรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะรูเมนของแพะ

ปิ่น จันจุฬา และอัจฉรา เพ็งหนู.....181

ผลของระดับโปรตีนในอาหารต่อการย่อยได้ เมแทบอลิซึมในกระแสเลือด และสมรรถภาพการผลิตของแพะรีดนม

ปิ่น จันจุฬา พชรินทร์ ภัคดิฉนวน ศิริวัฒน์ วาลิกศิริ และ สมพงษ์ เทพประสิทธิ์.....191

บทความปริทัศน์:

ทางเลือกในการทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตสำหรับปศุสัตว์

วรรณพร ทะพิงค์แก.....201

ISSN 0857-0841

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เรื่องที่ตีพิมพ์

บทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการ

การเตรียมต้นฉบับ

1. ภาษา เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ

2. การพิมพ์ พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษขนาด A4 ด้วย ไมโครคอมพิวเตอร์โปรแกรม ไมโครซอฟท์ เวิร์ด ตัวอักษร Cordia new ขนาด 14 ตัวอักษรต่อนิ้ว ความยาวไม่ควรเกิน 10 หน้า (รวมบทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ)

3. การเรียงลำดับเนื้อหา

3.1 ชื่อเรื่อง (Title) ควรสั้น ชัดเจน และต้องสื่อเป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

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

3.3 บทคัดย่อ (Abstract) ควรเป็นเนื้อหาที่สั้น ชัดเจนและเข้าใจง่าย โดยรวมเหตุผลในการศึกษาวิจัย อุปกรณ์ วิธีการ ตลอดจนผลการศึกษาและสรุปด้วย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ควรเกิน 200 คำ และให้ระบุคำสำคัญ (keywords) ไว้ท้ายบทคัดย่อแต่ละภาษาด้วย (บทความปริทัศน์อาจไม่ต้องมีบทคัดย่อ)

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

3.5 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ให้อธิบายละเอียดวิธี อุปกรณ์ที่ใช้ ตลอดจนวิธีและแบบจำลองการศึกษาวิจัยที่ชัดเจน และสมบูรณ์

3.6 ผลการศึกษาหรือผลการทดลอง (Results) ให้บรรยายผลการศึกษาวิจัย พร้อมเสนอข้อมูลในรูปแบบ ตารางหรือภาพประกอบได้ โดยตารางหรือภาพ ให้จัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด

3.7 วิจารณ์ (Discussion) ควรเชื่อมโยงกับผลการศึกษาว่าสอดคล้องกับสมมุติฐาน หรือแตกต่างไปจากผลงานวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหรือไม่อย่างไรและด้วยเหตุใด โดยมีพื้นฐานการอ้างอิงที่เชื่อถือได้ วิจารณ์อาจนำไปรวมกับผลการศึกษาเป็นผลการศึกษาและวิจารณ์ (Results and Discussion)

3.8 สรุป (Conclusion) ควรสรุปผลที่ได้รับจากการศึกษาวิจัยว่าเป็นไปตามวัตถุประสงค์หรือไม่ พร้อมให้ข้อเสนอแนะ หรือระบุอุปสรรคและแผนงานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไป

4. กิตติกรรมประกาศ หรือ คำขอบคุณ (Acknowledgement)

อาจมีหรือไม่มีก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ช่วยเหลือในงานวิจัย แต่ไม่ได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย

5. เอกสารอ้างอิง (References)

5.1 ในเนื้อเรื่องไม่ควรอ้างอิงถึงเรื่องที่ไม่เกี่ยวข้องหรือห่างไกล 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 Johny (2003)...หรือ...(Johny, 2003) ถ้าผู้เขียนมี 2 คน ให้ใช้เป็น Johny and Walker (2004) ...หรือ...(Johny and Walker, 2004) หากมีมากกว่า 3 คน ให้ใช้เป็น Johny *et al.* (2005)...หรือ...(Johny *et al.*, 2005) สำหรับในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้ใส่ชื่อผู้เขียนทุกคนห้ามใช้คำว่า และคณะ หรือ *et al.*

5.2 ในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้เรียงลำดับเอกสารภาษาไทยก่อนภาษาอังกฤษ โดยเรียงตามลำดับอักษรในแต่ละภาษา ตามรูปแบบการเขียนมีดังนี้

1) วารสาร (Journals)

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

วันทนา มุฑิตา และ ณัฐา ควรประเสริฐ. 2547. เซลล์พันธุศาสตร์และการถ่ายทอดสีดอกของฟิวเซีย. วารสารเกษตร 20(1): 10-18.

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

2) หนังสือ และตำรา (Books & Textbooks)

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

จริยา วิสิทธิ์พานิช ชาตรี สิทธิกุล และ เขียวลักษณ์ จันทร์บาง. 2545. โรคและแมลงศัตรูลำไย ลิ้นจี่ และมะม่วง. ธนบรรณการพิมพ์, เชียงใหม่. 308 หน้า.

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

3) เรื่องย่อในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องกันเขียน และมีบรรณานุกรม

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

ดำรง เวชกิจ และ สมบูรณ์ ทองสกุล. 2535. เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช. หน้า 22-42. ใน: สุวัฒน์ รวยอารีย์ (บก.). แมลงและศัตรูศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร. ห้างหุ้นส่วนจำกัด โอเดียสแควร์, 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 มณีพชร. 2547. ผลของการใช้อินชอนต่อคุณภาพและสารพิษตกค้างหลังการเก็บเกี่ยวส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 100 หน้า.

5) เอกสารวิชาการอื่นๆ

ชื่อผู้เขียน หรือหน่วยงาน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องหรือชื่อหนังสือ. ประเภทของเอกสาร. สถาบันหรือหน่วยงานที่จัดพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมด. ทัศนคติ ชโยภาส. 2544. แมลงศัตรูปลาน้ำจืดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 126 หน้า.

6) สื่ออิเล็กทรอนิกส์

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

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2548. การปลูกผักแบบไม่ใช้ดิน (ไฮโดรโปนิกส์). (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.doae.go.th/proster/nondin/html> (21 เมษายน 2548).

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

ดูคำแนะนำรูปแบบในการใช้ภาษาอังกฤษในเนื้อเรื่องภาษาไทย และการส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์ได้ในปกหลัง

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.สฤษชัย จตุรสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editor	Sanchai Jaturasitha, Dr.sc.agr., Prof. Chiang Mai University
รองบรรณาธิการ	ผศ.ดร.เกวลิณ คุณาศักดากุล มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Vice Editor	Kaewalin Kunasakdakul, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University
กองบรรณาธิการ ฝ่ายวิชาการ	ผศ.ดร.สุรินทร์ นิลสำราญจิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร.ณัฐา โพธาภรณ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร.ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร.สุนทร คำยอง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร.บุศรา ลีมนิรันดร์กุล มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร.เยาวลักษณ์ จันทร์บาง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร.ฉันทลักษณ์ ตียายน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร.จิรวรรณ กิจชัยเจริญ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร.วรรณพร ทะพิงค์แก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ศ.ดร.จรัญ จันทลักขณา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศ.ดร.เมธา วรรณพัฒน์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	Editorial Board (Academic)	Surin Nilasamranchit, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University 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 Budsara Limnirankul, Ph.D., Chiang Mai University Yaowaluk Chanbang, Ph.D. Chiang Mai University Chantalak Tiyyayon, Ph.D. Chiang Mai University Jirawan Kitchaicharoen, Ph.D. Chiang Mai University Wanaporn Tapingkae, Ph.D. Chiang Mai University Charan Chantalakhana, Ph.D., Prof. Kasetsart University Metha Wanapat, Ph.D., Prof. Khon Kaen University

	ศ.ดร.อังศุมาลย์ จันทราปัติย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รศ.ดร.เสวียน เปรมประสิทธิ์ มหาวิทยาลัยนเรศวร รศ.ดร.วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ มหาวิทยาลัยนเรศวร ผศ.ดร.ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ รศ.ดร.สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร มหาวิทยาลัยขอนแก่น รศ.ดร.เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล มหาวิทยาลัยขอนแก่น รศ.บำเพ็ญ เขียวหวาน มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมธิราช ผศ.ดร.เพ็ญพร เจนการกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ผศ.ดร.ไชยวรรณ วัฒนจันทร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ รศ.ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ผศ.ดร.เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ รศ.ดร.ธวัชชัย ศุภดิษฐ์ สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์	Angsumarn Chandrapatya, Ph.D., Prof. Kasetsart University Savent Pampasit, Ph.D., Assoc. Prof. Naresuan University Weerathep Pongprasert, Ph.D., Assoc. Prof. Naresuan University Pathipan Sutigoolabud, Ph.D., Assist. Prof. Maejo University Suchila Techawongstien, D.agr., Assoc. Prof. Khon Kaen University Petcharat Thummabenjapone, Ph.D., Assoc. Prof. Khon Kaen University Bumpen Keowan, Assoc. Prof. Sukhothai Thammathirat Open University Penporn Jankarnkij, Ph.D., Assist. Prof. Kasetsart University Chaiyawan Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof. Prince of Songkla University Kriangsak Mengumphan, Ph.D., Assoc. Prof. Maejo University Saowakon Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof. Prince of Songkla University Tawadchai Suppadit, Ph.D., Assoc. Prof. Nation Institute of Development Administration
กองบรรณาธิการ	นางสาววิไลพร ธรรมตา	Editorial Board Vilaiporn Thammat
ฝ่ายการจัดการ	นางสาวณัฐนันท์ ปารมี นายมานพ เปี้ยพรรณ	(Management)Nuttanun Paramee Manop Pearpun
สำนักงานและ การติดต่อ	กองบรรณาธิการวารสารเกษตร งานบริหารงานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200 โทร. 0 5394 4089-92 ต่อ 15 โทรสาร 0 5394 4666 E-mail: agjournal@cmu.ac.th	Office and Inquiries 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: agjournal@cmu.ac.th
การบอกรับ เป็นสมาชิก	บอกรับเป็นสมาชิกได้จากใบบอก รับเป็นสมาชิกท้ายเล่ม หรือติดต่อ กองบรรณาธิการโดยตรง	Membership Apply through the membership form as attached herewith or contact directly to the Editorial Board

บทบรรณาธิการ

สวัสดีครับท่านผู้อ่านทุกท่าน

ปีนี้สภาพภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงอย่างมาก คือ ในฤดูหนาวก็หนาวกว่าปกติ ส่วนฤดูร้อนที่กำลังเผชิญนี้ก็ร้อนจัดเอาเรื่อง จนเกิดพายุฤดูร้อนที่นำลูกเห็บตกไปทั่ว โดยเฉพาะภาคเหนือไม่ได้เพียงทำความเสียหายให้แก่บ้านเรือนเท่านั้น ผลผลิตทางการเกษตรก็เสียหายอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นสวนผลไม้ สวนผัก หรือแม้กระทั่งข้าวที่อยู่ในนา นี่เป็นปรากฏการณ์การเตือนจากธรรมชาติ ดังนั้นนักวิจัยจึงต้องวิจัยหาวิธีการปรับตัวของพืชและสัตว์ ให้เข้ากับสภาพภูมิอากาศให้ได้ เช่น การปรับตัวของพันธุ์ข้าวไร่ และข้าวนาสวนว่าจะต้องจัดการแปลงอย่างไร ในสภาพของการใช้น้ำให้น้อยลงเรียกว่าสภาพแอโรบิก สำหรับในสัตว์นั้นอาหารสัตว์นับว่าเป็นต้นทุนการผลิตที่สูง จึงต้องหาเศษวัสดุเหลือทางการเกษตรมาทดแทน เช่น วัสดุเพาะเห็ดนางรม สำหรับใช้เป็นอาหารไก่เนื้อ หรือใช้กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์เป็นอาหารแพะ เป็นต้น นี่เป็นตัวอย่างของบทความในวารสารเกษตร

วารสารเกษตร ฉบับที่ 2 ของปีที่ 30 มีบทความวิจัย จำนวน 10 เรื่อง คือ พืชสวน 2 เรื่อง พืชไร่ 1 เรื่อง ปฐพีศาสตร์ 1 เรื่อง โรคพืช 1 เรื่อง กัญญาวิทยา 2 เรื่อง สัตวศาสตร์ 3 เรื่อง และบทความปริทัศน์ 1 เรื่อง ซึ่งบทความดี ๆ เหล่านี้ เกิดจากความตั้งใจในการศึกษาวิจัย เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ ต้องขอขอบคุณคณะผู้วิจัยทั้งจากภายในและภายนอกมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้แบ่งปันข้อมูลที่จะนำไปสู่การปฏิบัติที่ดีได้

พบกันใหม่ในฉบับหน้าครับ

ศ.ดร. สัญชัย จตุรลัทธา

บรรณาธิการวารสารเกษตร

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ
Doritis pulcherrima Lindl. ต้นแคระ โดยเทคนิคอาร์เอพีดี
และ ไอเอสเอสอาร์

Genetic Relationship Analysis of Dwarf *Doritis pulcherrima*
Lindl. by RAPD and ISSR Techniques

มัลลิกา ดวงเขตต์^{1/} ณัฐา โพธาภรณ์^{1/} และวีณัน บัณฑิตย์^{1/}
Mallika Duangkhet^{1/}, Nuttha Potapohn^{1/} and Weenun Bundithya^{1/}

Abstract: *Doritis pulcherrima* Lindl. belongs to Orchidaceae family. Phenotypic variation within species is great making it difficult to identify plant using morphological characteristics. In this study, RAPD and ISSR were used to determine genetic relationship of Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. with similar leaf shape and spot. Twelve of the 80 RAPD and 13 of the 115 ISSR screened primers yielded 98 (87.5%) and 160 (85.1%) polymorphic bands, respectively. The genetic similarity coefficients ranged from 0.44 to 0.96 by RAPD and 0.46 to 0.93 by ISSR. Cluster analysis based on UPGMA clearly resulted in grouping of Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot, and the dendrogram generated with ISSR markers clearly separated *D. pulcherrima* Lindl. from Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. and could group Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot. The molecular classification based on RAPD and ISSR technique agree with morphological identification of Dwarf *D. pulcherrima* Lindl.

Keywords: Dwarf *Doritis pulcherrima* Lindl., RAPD Technique, ISSR Technique

^{1/} ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

บทคัดย่อ: *Doritis pulcherrima* Lindl. อยู่ในวงศ์ Orchidaceae มีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐาน ทำให้ยากต่อการจำแนกสายพันธุ์ ดังนั้นจึงได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระที่มีความคล้ายคลึงของรูปทรงใบ และลายที่ปรากฏบนใบ ด้วยเทคนิค RAPD และ ISSR จากการคัดกรองไพรเมอร์ RAPD 80 ชนิด และไพรเมอร์ ISSR 115 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ RAPD 12 ชนิด และไพรเมอร์ ISSR 13 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบ ดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันจำนวน 98 แถบ (87.5%) และ 160 แถบ (85.1%) ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมโดยไพรเมอร์ RAPD และ ISSR อยู่ในช่วง 0.44 ถึง 0.96 และ 0.46 ถึง 0.93 ตามลำดับ การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยวิธี UPGMA พบว่าไพรเมอร์ RAPD สามารถจัดกลุ่มต้นแคระใบกลมมีลายได้ และไพรเมอร์ ISSR จำแนก *D. pulcherrima* Lindl. ออกจากกลุ่มต้นแคระ และสามารถจัดกลุ่มต้นแคระใบกลมมีลายได้ การจัดกลุ่มด้วยเทคนิค RAPD และ ISSR สอดคล้องกับลักษณะสัณฐานของกล้วยไม้ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระ

คำสำคัญ: *Doritis pulcherrima* Lindl. ต้นแคระ เทคนิคอาร์เอฟดี เทคนิคไอเอสเอสอาร์

คำนำ

Doritis pulcherrima Lindl. อยู่ในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดในบรรดากลุ่มไม้ดอกด้วยกัน พบครั้งแรกในประเทศเวียดนาม มีชื่อไทยว่า ม้าวัง เรียกตามลักษณะกลีบเลี้ยงกลีบดอกที่แผ่บานแผ่เมื่อดอกบานเต็มที่ จะดูไปทางด้านหลังเหมือนกับลักษณะม้าที่กำลังวิ่งควมเต็มที่จะขนลุ่ไปด้านหลัง (ณรงค์, 2519) เป็นกล้วยไม้ที่มีดอกขนาดเล็ก แต่มีก้านช่อดอกยาวตั้งขึ้นทรงต้นเดี่ยว ใบซ้อนเรียงชิดกัน ใบหนาและค่อนข้างอวบ น้ำม้าวังมีสีดอกที่ผันแปรมากตั้งแต่สีขาวเกือบบริสุทธิ์ และมีหูกลิบบากสีเหลือง ซึ่งพบที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ถึงสีแดงม่วง และม่วงแดง หรือบางครั้งพบดอกสีฟ้าครามหรือม่วงอมฟ้า แต่ที่พบมากคือสีระหว่างชมพูอ่อนถึงชมพูเข้ม (สุรางค์รัตน์, 2551) กล้วยไม้สกุล *Doritis* เป็นหนึ่งในบรรดาสกุลกล้วยไม้ที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งภายในและต่างประเทศ (ระพี, 2544) อีกทั้งมีการนำพืชสกุลนี้ไปผสมกับพืชสกุลอื่น อาทิเช่น สกุลฟาแลนนอปซิส เกิดเป็นลูกผสมมีชื่อสกุลว่า *Doritaenopsis* ซึ่งมีลักษณะดอกที่สวยงาม ให้ลักษณะสีดอกที่เน้นไปทางสีชมพู (ระพี, 2544) โดยลักษณะของดอกที่แปลกตานั่น สามารถพัฒนาเป็นไม้ดอกส่งออกได้ สำหรับ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระนั้น Taywiya *et al.* (2008) รายงานว่า พบแพร่กระจายในประเทศไทย เป็นกล้วยไม้ขนาดเล็ก (miniature plant) ดอกมีสีชมพูเข้ม มีกลุ่มเรณู 4 กลุ่ม อยู่ติดกัน จากการสังเกตโดย ญัฐดนัย (ติดต่อส่วนตัว) พบว่า

ลักษณะใบของ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระมีลักษณะค่อนข้างหลากหลาย ทำให้การจำแนกโดยใช้ลักษณะทางฟีโนไทป์อย่างเดียวไม่เพียงพอ การนำเทคนิคทางอณูชีววิทยาเข้ามาช่วยตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรม (สุรินทร์, 2545) มีส่วนช่วยเสริมให้การจำแนกถูกต้องยิ่งขึ้น

เทคนิคทางอณูชีววิทยาที่ใช้ตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมมีอยู่หลายวิธี เช่น เทคนิค RAPD (random amplified polymorphic DNA) เป็นการใช้เทคนิคพีซีอาร์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย ไพรเมอร์ที่ใช้มีขนาดสั้นประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์ โดยผสมกับบิตดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีลำดับเบสคู่สมกัน (William *et al.*, 1990) นิยมนำมาใช้จำแนกลักษณะทางพันธุกรรม ความแตกต่างทางด้านชนิด และประชากร (สุรินทร์, 2545) เนื่องจากทำได้ง่าย และค่าใช้จ่ายไม่สูง (Lee *et al.*, 2003) แต่มีข้อจำกัดคือ เมื่อทำซ้ำมักให้ผลที่ไม่เหมือนเดิม อย่างไรก็ตาม เทคนิค RAPD เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับการจำแนกระหว่างชนิดได้ เช่นในการทดลองของ Lim *et al.* (1999) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลแวนด้าจำนวน 10 ชนิด โดยใช้ไพรเมอร์ RAPD 8 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 158 แถบ และสามารถแบ่งกลุ่มพืชตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม ที่สอดคล้องกับลักษณะใบ Oliveira *et al.* (2010) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Catasetum* ซึ่งอยู่ในวงศ์

Orchidaceae โดยใช้ไพรเมอร์ RAPD จำนวน 15 ชนิด สามารถแบ่งพืชเป็น 11 กลุ่ม ตามลักษณะทางสัณฐาน และสภาพภูมิศาสตร์การเจริญที่ใกล้เคียงกัน ศิริลักษณ์ และคณะ (2547) จำแนกกล้วยไม้สกุลหวายจำนวน 12 ชนิด โดยใช้เทคนิค RAPD โดยไพรเมอร์ OPAK04 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *Dendrobium infundibulum* และ *Dendrobium crystallinum* แตกต่างออกไปจากกล้วยไม้ชนิดอื่น นอกจากนี้ยังมีเทคนิค ISSR (inter simple sequence repeats) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิด จนถึงภายในชนิดของสิ่งมีชีวิต และลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคนี้สามารถทำซ้ำได้ มีค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก ไม่ยุ่งยากซับซ้อน Wang *et al.* (2009) ได้ศึกษาความหลากหลาย และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *Cymbidium goeringii* โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR พบว่า ไพรเมอร์ 25 ชนิด สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้จำนวน 4,405 แถบ สามารถแบ่งพืชออกเป็น 2 กลุ่ม และสอดคล้องกับแหล่งกำเนิด Verma *et al.* (2009) รายงานการประยุกต์ใช้เทคนิค RAPD และ ISSR ร่วมกันในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Vanilla* โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 10 ชนิด และไพรเมอร์ RAPD จำนวน 30 ชนิด พบว่ามีไพรเมอร์ RAPD เพียง 20 ชนิดเท่านั้นที่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ ทุกตัวอย่าง โดยทั้งสองเทคนิคสามารถแยก *Vanilla andamanica* ออกจาก *Vanilla* ชนิดอื่น แสดงให้เห็นว่า *V. andamanica* มีพันธุกรรมที่แตกต่างจาก *Vanilla* ชนิดอื่น ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระที่มีความแตกต่างของรูปทรงใบ และลายที่ปรากฏบนใบ ด้วยเทคนิค RAPD และ ISSR

อุปกรณ์และวิธีการ

พันธุ์พืช

พันธุ์พืชที่ใช้คือ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระ หรือเอื้องม้าวิ่งแคระ ได้มาจากสภาพธรรมชาติจากจังหวัด ชุมพร และนำมาปลูกเลี้ยงที่เรือนเพาะชำกล้วยไม้ ศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะ

เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตัวอย่างที่ศึกษามีรูปทรงใบและลายที่ปรากฏบนใบต่างกัน 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ต้น โดย กลุ่มที่ 1 มีลักษณะต้นแคระใบกลมมีลาย กลุ่มที่ 2 ต้นแคระใบรีมีลาย และกลุ่มที่ 3 ต้นแคระใบรีไม่มีลาย และใช้ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นปกติ 1 ต้น เป็นพืชนอกกลุ่ม (ภาพที่ 1a-d)

การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธี CTAB ที่ดัดแปลงจาก Taywiya *et al.* (2008) ตรวจสอบคุณภาพ และปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี 1.8% agarose gel electrophoresis และเครื่อง Nanodrop เก็บดีเอ็นเอที่สกัดได้ ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค RAPD

องค์ประกอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ อ้างอิงจาก Kate-ngam and Lakote (2008) โดยใช้ไพรเมอร์ RAPD 80 ชนิด คือ OPA01-20, OPD01-20, OPF01-20 และ OPG01-20 (Bio Basic, Canada) สังเคราะห์ดีเอ็นเอตามขั้นตอนดังนี้ 94 องศาเซลเซียส 3 นาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที, 43.6 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 1 นาที จำนวน 40 รอบ และ 72 องศาเซลเซียส 8 นาที จำนวน 1 รอบ นำผลผลิตที่ได้มาตรวจสอบด้วย 1.8% agarose gel electrophoresis ใน 1X TBE buffer จากนั้นย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ บันทึกภาพภายใต้แสง UV โดยใช้ gel documentation (Syngene gene genius bio imaging system, U. S. A.)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิค ISSR

องค์ประกอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ อ้างอิงจาก Taywiya *et al.* (2008) โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR 118 ชนิด คือ ISSR1-ISSR98 (วิถัน และดำเนิน, 2554) UBC811, UBC812, UBC818, UBC827, UBC834, UBC835, UBC840, I2, I4, I25, I34, I44 (Wang *et al.*, 2009) UBC809, UBC826, UBC836, UBC866 (Wang *et al.*, 2011) A37, B1, B7 และ B10 (Haider *et al.*, 2012) สังเคราะห์ดีเอ็นเอตามขั้นตอนดังนี้ 94 องศาเซลเซียส

3 นาที่ จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 58 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 1 นาที จำนวน 40 รอบ และ 72 องศาเซลเซียส 8 นาที จำนวน 1 รอบ นำผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบ เช่นเดียวกับเทคนิค RAPD

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

ตรวจดูความคมชัด และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ ตรวจสอบตำแหน่งที่ปรากฏ และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ คำนวณขนาดโมเลกุลด้วยโปรแกรม Excel 2010 บันทึกผลโดยให้การปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเป็น 1 และการไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งเดียวกันมีค่าเป็น 0 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc version 2.01e (Rohlf, 2000) สร้างแผนภาพเดนโดรแกรมด้วยวิธี

UPGMA คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมด้วยวิธี Jaccard's similarity coefficients ประเมินความเชื่อมั่นของแผนภาพเดนโดรแกรมโดยการทำ bootstrap ด้วยโปรแกรม freetree (Hapl et al., 2001)

ผลและวิจารณ์

การสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอจากใบของ *D. pulcherrima* Lindl. ด้วยวิธีการของ Taywiya et al. (2008) พบว่าได้ดีเอ็นเอตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 100-200 ng/μl โดยดีเอ็นเอส่วนใหญ่มีคุณภาพดี ไม่มีการแตกหัก เนื่องจากพบแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียว และคมชัด ไม่มีแถบปนเปื้อนของอาร์เอ็นเอ และโปรตีน (ภาพที่ 2)

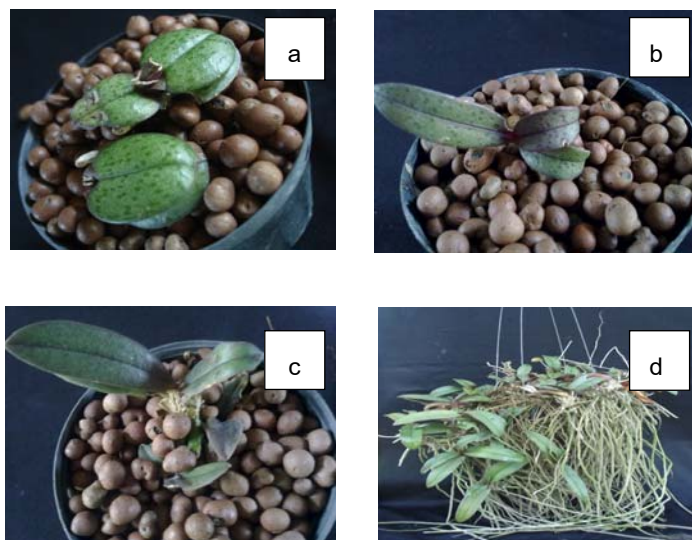


Figure 1 Characteristics of *D. pulcherrima* Lindl. (a = globose leaf with spot dwarf, b = oblong leaf with spot dwarf, c = oblong leaf without spot dwarf and d = *D. pulcherrima* Lindl. of normal size)

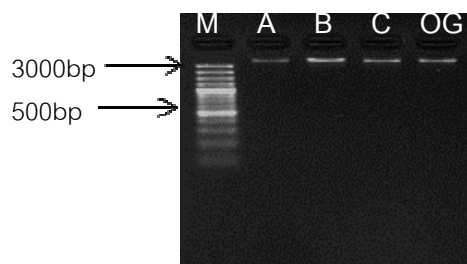


Figure 2 Genomic DNA extracted from leaf samples (M: molecular ladder; A: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot; B: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf with spot; C: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf without spot; OG: *D. pulcherrima* Lindl.)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD และ ISSR

การทดสอบไพรเมอร์ RAPD เบื้องต้น จำนวน 80 ไพรเมอร์ พบว่ามีไพรเมอร์ 12 ชนิด คือ OPA01, OPA02, OPA03, OPA05, OPA08, OPA09, OPA10, OPA11, OPA18, OPA19, OPA20 และ OPC19 ที่สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทุกตัวอย่าง แถบคมชัด และเกิดแถบจำเพาะในการจำแนกกลุ่มตัวอย่างได้ หรือ

เกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (polymorphic bands) สูงสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 112 แถบ มีขนาดประมาณ 73 -2109 คู่เบส เป็นแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 98 แถบ คิดเป็น 87.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไพรเมอร์ OPA02 และ OPA11 เป็นไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอสูงสุดคือ 15 แถบ ในขณะที่ไพรเมอร์ OPA10, OPA11 และ OPA19 มีเปอร์เซ็นต์การให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันสูงสุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

Table 1 Polymorphism of RAPD and ISSR markers in Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. and *D. pulcherrima* Lindl.

Primer	Primer sequence	Total no. of band	No. of polymorphic bands	% Polymorphism
OPA01	5'-CAG GCC CTT C-3'	5	4	80
OPA02	5'-TGC CGA GCT G-3'	15	14	93.33
OPA03	5'-AGT CAG CCA C-3'	10	8	80
OPA05	5'-AGG GGT CTT G-3'	3	2	66.67
OPA08	5'-GTG ACG TAG G-3'	6	5	83.33
OPA09	5'-GTG ATC GCA G-3'	12	10	83.33
OPA10	5'-CAA TCG CCG T-3'	10	10	100
OPA11	5'-CAG CAC CCA C-3'	15	15	100
OPA18	5'-GGG TAA CGC C-3'	12	11	91.67
OPA19	5'-CAA ACG TCG G-3'	7	7	100
OPA20	5'-GTT GCG ATC C-3'	11	9	81.82
OPC19	5'-GTT GCC AGC C-3'	6	3	50
ISSR16	5'-(CGC) ₅ A-3'	10	4	40
ISSR18	5'-(CGC) ₅ T-3'	13	11	84.62
ISSR19	5'-(CGG) ₅ A-3'	6	5	84.62
ISSR25	5'-(GAG) ₇ A-3'	10	5	50
ISSR30	5'-(GCC) ₅ T-3'	10	8	80
ISSR67	5'-(ACA) ₉ A-3'	15	15	100
ISSR68	5'-(ACA) ₉ T-3'	14	11	78.57
ISSR69	5'-(ACA) ₉ G-3'	16	13	81.25
ISSR83	5'-(CAC) ₆ A-3'	9	8	88.89
ISSR84	5'-(CAC) ₆ T-3'	25	25	100
I2	5'-(ACA) ₈ T-3'	18	17	94.44
UBC866	5'-(GCC) ₆ A-3'	13	9	69.23
B10	5'-(CAG) ₅ -3'	29	29	100

การทดสอบไพรเมอร์ ISSR จำนวน 118 ชนิด พบว่ามีไพรเมอร์ 13 ชนิด คือ ISSR16, ISSR18, ISSR19, ISSR25, ISSR30, ISSR67, ISSR68, ISSR69, ISSR83, ISSR84, I2, UBC866 และ B10 ที่สามารถสังเคราะห์แถบ ดีเอ็นเอได้ทุกตัวอย่าง แถบคมชัด และเกิดแถบที่จำแนก กลุ่มตัวอย่างได้ หรือเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันสูง สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 188 แถบ ขนาด ประมาณ 318-2758 คู่เบส เป็นแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง จำนวน 160 แถบ คิดเป็น 85.1 เปอร์เซ็นต์ โดยไพรเมอร์ B10 เป็นไพรเมอร์ที่ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุดคือ 29 แถบ และเปอร์เซ็นต์การให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน สูงสุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

การที่ไพรเมอร์ RAPD ให้เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอ ที่แตกต่างใกล้เคียงกับไพรเมอร์ ISSR อาจเนื่องมาจากทั้ง ไพรเมอร์ RAPD และไพรเมอร์ ISSR เป็นไพรเมอร์แบบสุ่ม ซึ่งไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด ทำให้มีโอกาส เข้าจับกับดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่ง Kumar *et al.* (2009) รายงานว่า ไพรเมอร์ RAPD มีประสิทธิภาพในการ สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ใกล้เคียงกับไพรเมอร์ ISSR ใน แอพริคอต โดยพบว่าไพรเมอร์ RAPD ให้เปอร์เซ็นต์แถบดี เอ็นเอที่แตกต่างกันสูงถึง 97.84 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไพรเมอร์ ISSR ให้เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง 96.5 เปอร์เซ็นต์ และในการศึกษาพืชสกุล *Houttuynia* โดย Wu *et al.* (2005) พบว่าทั้งไพรเมอร์ RAPD และ ISSR ให้ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างใกล้เคียงกันคือ 92.9 และ 92.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับลักษณะใบ

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอพบการปรากฏแถบ จำเพาะที่สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างได้ ดังนี้ การใช้ไพร เมอร์ OPA02, OPA18, ISSR83 และ I2 พบแถบจำเพาะ สำหรับกลุ่มต้นแคระใบกลมหลาย ขนาดประมาณ 771, 340, 639 และ 421 คู่เบส ตามลำดับ (ภาพที่ 3-6) ส่วน การใช้ไพรเมอร์ ISSR19 พบแถบขนาดประมาณ 473 คู่ เบส สำหรับการจำแนกต้นแคระใบรีมีลาย และใบรีไม่มี ลาย ออกจากต้นแคระใบกลมมีลาย และ *D. pulcherrima* Lindl. (ภาพที่ 7)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระ

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยวิธี Jaccard's similarity coefficients พบว่า ไพรเมอร์ RAPD ทั้ง 12 ไพรเมอร์ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ในช่วง 0.44-0.96 และเมื่อนำข้อมูลมาสร้างแผนภาพเดนโดร แกรมด้วยวิธี UPGMA พบว่า สามารถจัดกลุ่ม *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระ และ *D. pulcherrima* Lindl. ทั้ง 16 ตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มต้นแคระใบกลม มีลาย (ต้นที่ 1-5) ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.86 และ กลุ่มที่สอง คือ ต้นแคระใบรีมีลาย (ต้นที่ 1-5) ต้นแคระใบ รีไม่มีลาย (ต้นที่ 1-5 ยกเว้นต้นที่ 3) และ *D. pulcherrima* Lindl. ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.54 (ภาพที่ 8) และ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไพรเมอร์ ISSR ทั้ง 13 ชนิด พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่

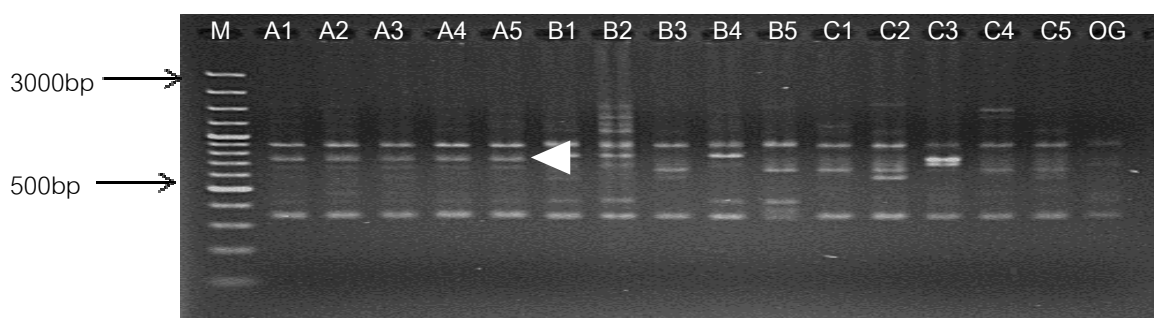


Figure 3 DNA banding patterns amplified by OPA02. (arrow: 771 bp fragments; M: molecular ladder; A1-A-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot; B1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf with spot; C1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf without spot; OG: *D. pulcherrima* Lindl.)

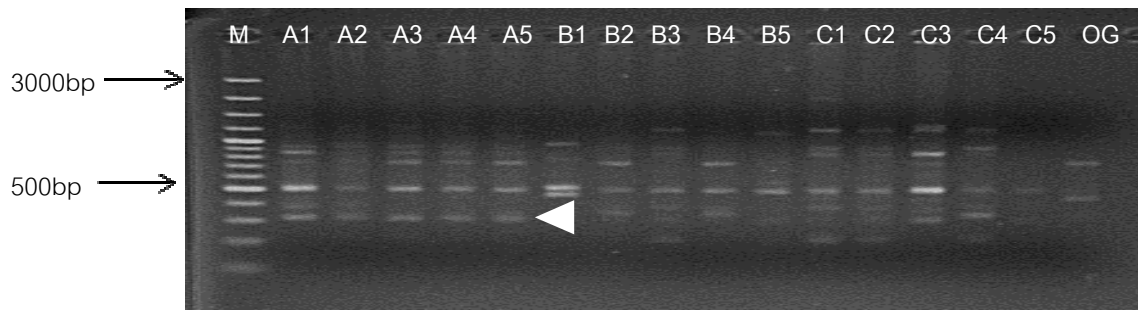


Figure 4 DNA banding patterns amplified by OPA18 (arrow: 340 bp fragments; M: molecular ladder; A1-A5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot; B1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf with spot; C1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf without spot; OG: *D. pulcherrima* Lindl.)

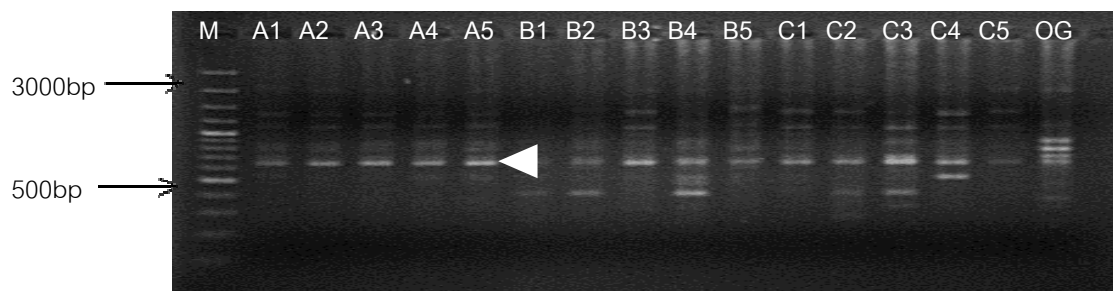


Figure 5 DNA banding patterns amplified by ISSR83. (arrow: 639 bp fragments; M: molecular ladder; A1-A5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot; B1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf with spot; C1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf without spot; OG: *D. pulcherrima* Lindl.)

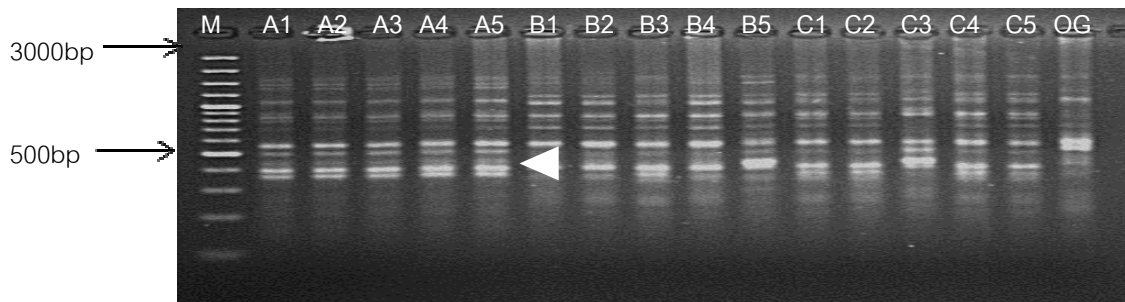


Figure 6 DNA banding patterns amplified by I2. (arrow: 421 bp fragments; M: molecular ladder; A1-A5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot; B1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf with spot; C1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf without spot; OG: *D. pulcherrima* Lindl.)

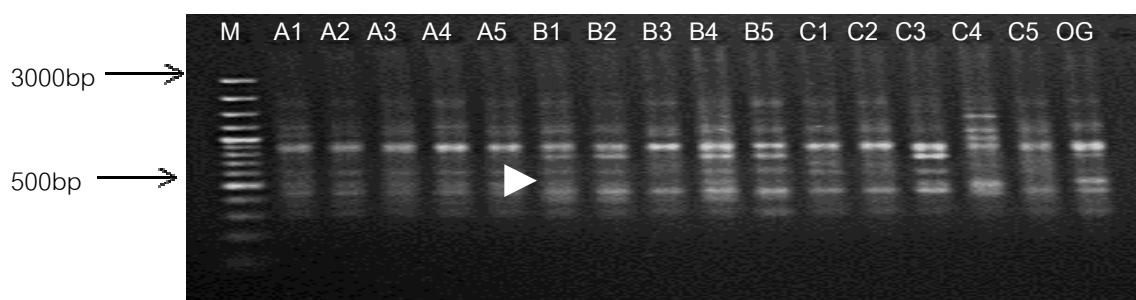


Figure 7 DNA banding patterns amplified by ISSR19. (arrow: 473 bp fragments; M: molecular ladder; A1-A-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot; B1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf with spot; C1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf without spot; OG: *D. pulcherrima* Lindl.)

ในช่วง 0.46-0.93 สามารถจำแนก *D. pulcherrima* Lindl. ออกจากพืชต้นแคระได้ ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.46 และสามารถจัดกลุ่มต้นแคระใบกลมมีลายต้นที่ 1-5 ได้ ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.80 (ภาพที่ 9)

การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA ของทั้งสองเทคนิค ให้ผลสอดคล้องกับการจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทาง สัณฐานวิทยา เมื่อพิจารณาเทคนิค RAPD พบว่าสามารถ จัดกลุ่มกล้วยไม้ตามลักษณะสัณฐานทางใบ คือใบกลม (*D. pulcherrima* Lindl.ต้นแคระใบกลมลายต้นที่ 1-5) (ภาพที่ 1a) และใบรี (*D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระ ใบรีมีลายต้นที่ 1-5 ต้นแคระใบรีไม่มีลายต้นที่ 1-2 และ 4-5 และ *D. pulcherrima* Lindl.) (ภาพที่ 1b-d) ส่วนเทคนิค

ISSR สามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้สอดคล้องกับลักษณะ สัณฐานมากกว่า โดยจัดกลุ่มตามลักษณะสัณฐานทางลำ ต้น และใบ คือ จำแนก *D. pulcherrima* Lindl. ออกจาก กลุ่มต้นแคระ โดย *D. pulcherrima* Lindl. มีลักษณะต้นที่ สูง ใหญ่กว่า ใบยาว และเรียวมากกว่า *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระ และจัดกลุ่มต้นแคระใบกลม (*D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระใบกลมลายต้นที่ 1-5) ไว้ ด้วยกัน (ภาพที่ 1a) เทคนิค RAPD และ ISSR สามารถจัด กลุ่ม *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระใบกลมมีลายทั้ง 5 ต้น ได้ ซึ่งลักษณะใบของกลุ่มนี้ค่อนข้างแตกต่างจากกลุ่ม ที่เหลือได้แก่ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระใบรีมีลาย ใบรีไม่มีลาย และ *D. pulcherrima* Lindl. (ใบรี) การที่

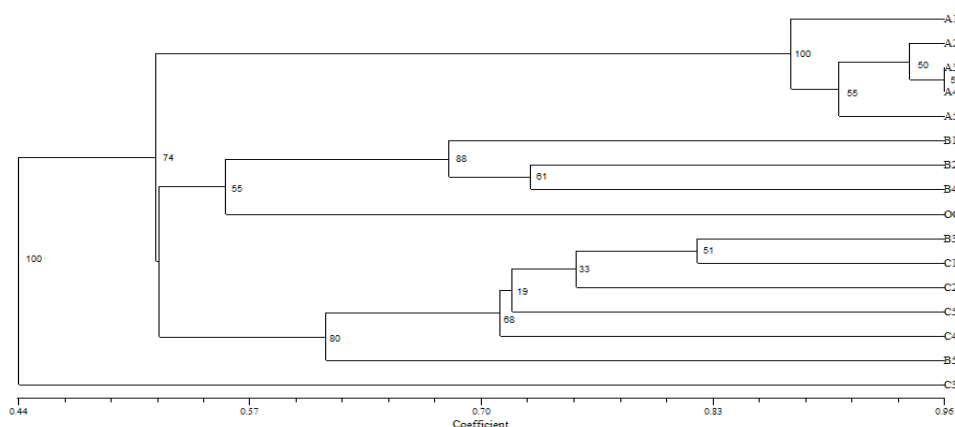


Figure 8 Dendrogram obtained with Jaccard's coefficients using RAPD data of *D. pulcherrima* Lindl. Node support was estimated with 1,000 bootstrap replicates. (A1-A-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot; B1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf with spot; C1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf without spot; OG: *D. pulcherrima* Lindl.)

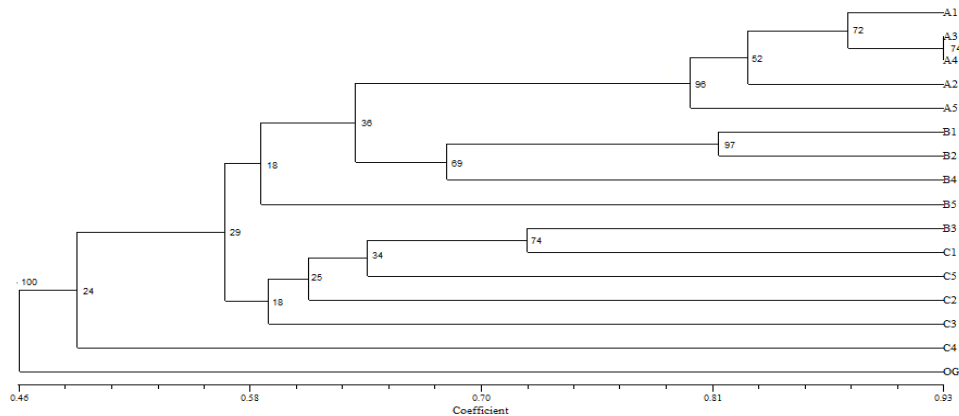


Figure 9 Dendrogram obtained with Jaccard's coefficients using ISSR data of *D. pulcherrima* Lindl. Node support was estimated with 1,000 bootstrap replicates. (A1-A-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. globose leaf with spot; B1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf with spot; C1-5: Dwarf *D. pulcherrima* Lindl. oblong leaf without spot; OG: *D. pulcherrima* Lindl.)

ไพรมเมอร์ ISSR สามารถจัดกลุ่มพืชได้ละเอียด และสอดคล้องกับลักษณะสัณฐานของกล้วยไม้มากกว่าไพรมเมอร์ RAPD สอดคล้องกับ Medraoui *et al.* (2007) ที่รายงานว่าการจัดกลุ่มพืชด้วย RAPD ได้ชัดเจน และสอดคล้องกับลักษณะทางภูมิศาสตร์แหล่งที่มาของพืชมากกว่าเทคนิค RAPD อย่างไรก็ตาม ทั้ง 2 เทคนิคมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน เนื่องจากให้ค่าระยะห่างทางพันธุกรรมใกล้เคียงกัน ความสอดคล้องในการจัดกลุ่มเพียงบางส่วนระหว่างเทคนิค RAPD และ ISSR เป็นไปในทางเดียวกับรายงานของ Verma *et al.* (2009) ที่ศึกษาความหลากหลายของพืชสกุล *Vanilla* พบว่าการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของทั้งเทคนิค RAPD และ ISSR ไม่เหมือนกัน แต่มีความคล้ายคลึงกันโดยทั้งสองเทคนิคจัดกลุ่ม *V. planifolia* และ *V. tahitensis* ไว้ด้วยกันได้ อีกทั้งสามารถแยก *V. andamanica* ออกมาได้ เมื่อนำพืชตัวอย่างที่จัดเป็นกลุ่มเดียวกันด้วยลักษณะทางสัณฐานมาวิเคราะห์ พบว่ามีลักษณะแถบดีเอ็นเอต่างกัน และมีระยะห่างทางพันธุกรรม แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *D. pulcherrima* Lindl. ต้นแคระที่ศึกษาอยู่

สรุป

เทคนิค RAPD สามารถจัดกลุ่มต้นแคระใบกลมมีลายได้ ส่วนเทคนิค ISSR สามารถจำแนก *D. pulcherrima* Lindl. ออกจากต้นแคระ และสามารถจัดกลุ่มใบกลมมีลาย ภายในกลุ่มต้นแคระได้

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์พันธุ์พืชสารเคมี และอุปกรณ์ จากโครงการพัฒนาคุณภาพไม้ดอกทางเศรษฐกิจ (กล้วยไม้) และโครงการวิจัยบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร (CMU Ag-biotech) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

- ณรงค์ โฉมเฉลา. 2519. Tetraploidy ในกล้วยไม้ไทย. วิทยาศาสตร์สโมสรกล้วยไม้บางเขน 4: 213-218.
ระพี สาคริก. 2554. กล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มต้น. วชิรฯ บจก. กรุงเทพฯ. 222 หน้า.
วิวัฒน์ บัณฑิตย และ ดำเนิน กาละดี. 2554. การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับสารต้านอนุมูล

- อิสระในข้าวเก่า. รายงานประจำปี 2554 งานบริหารงานวิจัย และวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 91 หน้า.
- ศิริลักษณ์ อินทวงค์ วิวัฒน์ บัณฑิตย และ ณัฐา ควรประเสริฐ. 2547. การจำแนกกล้วยไม้ไทยสกุลหวายโดยใช้เทคนิคอาร์เอฟดี. วารสารเกษตร 20(2): 152-158
- สุรางค์รัตน์ อินทมุสิก. 2551. การแปรผันทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ม้าวิ่ง (*Doritis pulcherrima* Lindl. Sensulato) ในเขตพรรณพฤษชาติภาคใต้ของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาพฤกษศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 105 หน้า.
- สุนทร ปิยะโชคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอฟดีและเอเอฟแอลพี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 115 หน้า.
- Haider, N., I. Nabulsi and Y. Kamary. 2012. Phylogeny of Orchidaceae species in northwest Syria based on ISSRs. Journal of Plant Biology Research 1: 36-50.
- Hampl, V., A. Pavlicek and J. Flegr. 2001. Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with a freeware program free tree: Application to trichomonad parasites. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 51: 731-735.
- Kate-ngam, S. and P. Lakote. 2008. A comparative study of different RAPD-PCR protocols for genetic diversity analysis of *Doritis* germplasm. Agricultural Science Journal 39: 203-206.
- Kumar, M., G. P. Mishra, R. Singh, J. Kumar, P. K. Naik and S. B. Singh. 2009. Correspondence of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different apricot genotypes from cold arid deserts of trans-Himalayas. Physiology and Molecular Biology Plants 15: 225-36.
- Lee, I. S., D. S. Kim, S. J. Lee, H. S. Song and Y. I. Lee. 2003. Selection and characterizations of radiation-induced salinity-tolerant lines in rice. Breeding Science 53: 313-318.
- Lim, S. H., P. C. P. Teng, Y. H. Lee and C. J. Goh. 1999. RAPD analysis of some species in the genus *Vanda*. Annals of Botany 83: 193-196.
- Medraoui, L., A. Mohammed, B. Ouafae, M. Driss and F. M. Abdelkarim. 2007. Evaluation of genetic variability of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) in northwestern Morocco by ISSR and RAPD markers. Comptes Rendus Biologies 330: 789-797.
- Oliveira, L. D. V. R., R. T. D. Faria, C. D. F. Ruas, P. M. Ruas, M. D. O. Santos and V. P. Carvalho. 2010. Genetic analysis of species in the genus *Catasetum* (Orchidaceae) using RAPD markers. Brazilian Archives of Biology and Technology 53: 375-387.
- Rohlf, F. 2000. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 2.01e. Exeter Ltd., Setauket, NY, U. S. A.
- Taywiya, P., W. Bundithya and N. Potapohn. 2008 . Analysis of genetic relationship of the genus *Phalaenopsis* by RAPD technique. Acta Horticulture 788: 39-45.
- Verma, P., C. Debasis, N. J. Satya, K. M. Devesh, K. S. Pradhyumna, V. S. Samir and T. Rakesh. 2009. The extent of genetic diversity among Vanilla species: comparative results for RAPD and ISSR. Industrial Crops and Products 29: 581-589.

- Wang, H. Z., J. J. Lu, X. Hu and J. J. Liu. 2011. Genetic variation and cultivar identification in *Cymbidium ensifolium*. Plant System 293: 101-110.
- Wang, H. Z., Z. X. Wu, J. J. Lu, N. N. Shi, Z. Yan, Y. Zhao, Z. T. Zhang and J. J. Liu. 2009. Molecular diversity and relationship among *Cymbidium goeringii* cultivars based on inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. Genetica 136: 391-399.
- William, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18: 6,531-6,535.
- Wu, W., Y. L. Zheng, L. Chen, Y. M. Wei, R. W. Yang and Z. H. Yan. 2005. Evaluation of genetic relationships in the genus *Houttuynia* Thunb. In China based on RAPD and ISSR markers. Biochemical Systematic and Ecology 33: 1141-1157.
-

การประเมินพ่อและแม่พันธุ์เพื่อการผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 ของผักกาดเขียวปลี

Evaluation of Male and Female Parents for F₁ Hybrid Production of Leaf Mustard

ธีรวัฒน์ สีทอง^{1/} และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์^{1/}
Teerawat Seetong^{1/} and Maneechat Nikompun^{1/}

Abstract: Seven F₁ hybrids, male and female parents of leaf mustard were tested in comparison with commercial varieties. A randomized complete block design with 3 replications was used. Yields of the varieties ranged from 2,016 to 4,435 kg./rai. Which was significantly different. Variety 2M gave the highest yielding variety. The F₁ hybrid BC9(4-4 x 2M) x 4OR was the highest yielding variety among the F₁ hybrids, it gave 3,468 kg./rai. Head weight of four F₁ hybrids derived from BC9(4-3 x 19H) x 2M, BC9(4-4 x 4OR) x 19H9, BC9(4-4 x 4OR) x 2M and BC11(4-4 x 4OR) x 2M ranged from 350 to 450 g./head and they were significantly different from other F₁ hybrids. These sizes of heads were the desirable size by processing factory. However, trimming percentage was not significantly different. Results showed that most of the F₁ hybrids exhibited negative heterotic effects on yield over their mid parents except the F₁ hybrid BC9(4-4x4OR)x19H9 which expressed promising negative heterosis effect on yield, head weight before and after trimming, percentage of trimming and stem shape index, at 16.7, 33.5, 16.7, 17.8 and 21.9% respectively. Positive heterosis effect on solidity and head shape index at 42.5 and 1.6, respectively. The F₁ hybrid BC11(4-4x4OR) x 2M, BC9(4-4x4OR) x 2M, BC9(4-3x19H) x 2M, BC9(4-4x4OR) x 19H9, BC9(4-4x2M) x 19H9, BC9(4-4x2M) x 4OR and BC11(4-4x4OR) x 19H16 which expressed promising negative heterobletiosis effect on yield, heterobletiosis value of 50.6, 50.5, 41.3, 35.1, 27.2, 16.0 and 13.9, respectively. The F₁ hybrids BC11(4-4x4OR) x 2M, BC9(4-4x4OR) x 2M, BC9(4-4x4OR) x 19H9, BC9(4-3x19H) x 2M, BC9(4-4x2M) x 19H9, BC11(4-4x4OR) x 19H16 and BC9(4-4x2M) x 4OR which expressed promising negative standards heterosis effect on yield, had standards heterosis value of 47.4, 47.3, 38.6, 37.5, 31.1, 23.8 and 16.9, respectively.

Keywords: F₁ hybrid, leaf mustard, heterotic effect

^{1/} ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 239 ถ.ห้วยแก้ว อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, 239 Huay Kaew Road, Muang, Chiang Mai. 50200

บทคัดย่อ: การประเมินผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 7 พันธุ์ และเปรียบเทียบกับ พันธุ์พ่อแม่ พันธุ์การค้า วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก มี 3 ซ้ำ ทดสอบในฤดูหนาว ปี พ.ศ. 2554 ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ามีผลผลิตเฉลี่ย 2,016 ถึง 4,435 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด คือ พันธุ์ 2M ส่วนพันธุ์ BC9(4-4 x 2M) ที่ใช้เป็นแม่พันธุ์ผสมกับพ่อพันธุ์ 4OR ให้ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC9(4-4x2M) x 4OR ที่มีผลผลิตสูง 3,468 กิโลกรัมต่อไร่ และพันธุ์ BC9(4-3x19H) x 2M BC9(4-4x 4OR) x 19H9 BC9(4-4x 4OR)x2M และ BC11(4-4x4OR)x2M มีน้ำหนักปลีเฉลี่ย 350 ถึง 450 กรัมต่อหัว ซึ่งเป็นน้ำหนักหัวที่เป็นที่ต้องการของโรงงานแปรรูป ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เปอร์เซ็นต์การตัดแต่งไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติและการศึกษาความดีเด่นของผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 1 ส่วนใหญ่มีความดีเด่นของลูกผสมระดับต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของ พ่อ-แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC9(4-4x4OR)x19H9 มีความดีเด่นของลูกผสม ในด้านของน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักปลีก่อนตัดแต่ง น้ำหนักปลีหลังตัดแต่ง เปอร์เซ็นต์การตัดแต่ง และอัตราส่วนของลำต้นในทางลบ เท่ากับร้อยละ 16.7, 33.5, 16.7, 17.8 และ 21.9 ตามลำดับ ความแน่นของปลีและอัตราส่วนของหัวแสดงออกในทางบวก ซึ่งมีค่าความดีเด่น 42.5 และ 1.6 ตามลำดับ และความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าพ่อหรือแม่ที่ดีที่สุดในด้านผลผลิตต่อไร่ พบว่า พันธุ์ BC11(4-4x4OR)x2M BC9(4-4x4OR)x2M BC9(4-3x19H)x2M BC9(4-4x4OR)x19H9 BC9(4-4x2M)x19H9 BC9(4-4x2M)x4OR และ BC11(4-4x4OR)x19H16 แสดงความดีเด่นในทางลบ เท่ากับร้อยละ 50.6, 50.5, 41.3, 35.1, 27.2, 16.0 และ 13.9 ตามลำดับ ส่วนความดีเด่นเหนือกว่าพันธุ์มาตรฐานหรือพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าในด้านผลผลิตต่อไร่ พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC11(4-4x4OR)x2M BC9(4-4x4OR)x2M BC9(4-4x4OR)x19H9 BC9(4-3x19H)x2M BC9(4-4x2M)x19H9 BC11(4-4x4OR)x19H16 และ BC9(4-4x2M)x4OR แสดงความดีเด่นในทางลบ เท่ากับร้อยละ 47.4, 47.3, 38.6, 37.5, 31.1, 23.8 และ 16.9 ตามลำดับ

คำสำคัญ: พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ผักกาดเขียวปลี ความดีเด่น

คำนำ

ผักกาดเขียวปลี (*Brassica juncea* L. var. *rugosa*) มีชื่อเรียกกันหลายชื่อ เช่น Indian mustard, brown mustard, leaf mustard และ Chinese mustard เกิดจากผักกาดชนิด *Brassica nigra* และ *Brassica campestris* (มณีจันทร์, 2545) มีถิ่นกำเนิดในแอฟริกา แต่มีปลูกในทวีปเอเชียและปลูกอย่างกว้างขวางจากยุโรป ตะวันออกจนถึงประเทศจีนและอินเดีย สำหรับในประเทศไทยอินเดียผักกาดเขียวปลีเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญมาก (Purseglove, 1968) ในประเทศไทยนิยมนำมาดองมากกว่าบริโภคสด แต่ในประเทศตะวันตกมีการปลูกเพื่อผลิตเมล็ด เรียกว่า เมล็ดมัสตาร์ด (mustard seed) ใช้ทำเครื่องเทศ จากสถิติของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2553) พบว่า ประเทศไทยนำเข้าเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีจากต่างประเทศ ตั้งแต่ปี 2547-2552 โดยเฉลี่ยมีปริมาณ 77.5 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่า 5.2 ล้านบาทต่อปี

ปัญหาของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผักกาดดอง พบว่าขนาดของปลีมีขนาดใหญ่ ไม่เหมาะสมต่อขนาดของภาชนะบรรจุ ทางบริษัทจึงต้องการปลีขนาดเล็กประมาณ 350-450 กรัม (จากการสอบถาม บริษัท สันติภาพ (ฮั่วเฟ่ง 1958) จำกัด)

พันธุกรรมเพศผู้เป็นหมันในไฮโดพลาสซึม ซึ่งได้จากการทำไฟโตพลาสฟิวชัน (protoplast fusion) ระหว่าง *B. napus* cv. Hanna กับ *B. juncea* เรียกพันธุกรรมเพศผู้เป็นหมันที่ได้นี้ว่า Anand cytoplasm ซึ่งระบบพันธุกรรมเพศผู้เป็นหมันระบบนี้ค้นพบโดย Anand (Szasz et al., 1991) ต่อมา Rao et al. (1994) ได้ค้นพบระบบการเป็นหมันในไฮโดพลาสซึมที่เกิดจากการผสมกลับระหว่าง *Diplotoxis siifolia* และ *B. juncea* ได้พันธุ์เพศผู้เป็นหมันใน ไฮโดพลาสซึม (cytoplasmic male sterile line) ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญเติบโตเหมือน *B. juncea* ซึ่งมีกลีบดอกและกลีบเลี้ยงแคบ ก้านชูดอกเพศผู้สั้นลง และละอองเกสรเพศผู้ไม่

อุปกรณ์และวิธีการ

แตก และระบบพันธุกรรมเพศผู้เป็นหมันที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์คือ Ogura cytoplasm ที่เป็นไฮโดพลาสซึมของผักกาดหัว (Yamagishi and Terachi, 1993) มีการพัฒนาแม่พันธุ์ผักกาดเขียวปลีให้มียืนเพศผู้เป็นหมันในไฮโดพลาสซึม โดยการย้ายนิวเคลียสจากพ่อพันธุ์เข้าไปในผักกาดเขียวปลีที่มีพันธุกรรมเพศผู้เป็นหมันแบบ Ogura cytoplasm และ Anand cytoplasm ซึ่งเป็นแม่พันธุ์โดยใช้วิธีการผสมกลับ (backcross) ประมาณ 7-8 ครั้ง ทำให้ได้ผักกาดเขียวปลีที่มีลักษณะเพศผู้เป็นหมัน เพื่อใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 (นรินทร์และคณะ, 2545) ซึ่งเป็นที่มาของลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ใช้ในการทดลองนี้

ความดีเด่นของลูกผสม (heterosis หรือ hybrid vigor) เป็นปรากฏการณ์ของลักษณะอันใดอันหนึ่ง เมื่อลูกผสมชั่วที่ 1 แสดงความสามารถเหนือกว่าความสามารถของพ่อแม่ที่แสดงออกในลักษณะดังกล่าว การเกิดขึ้นของความดีเด่นของลูกผสมในแต่ละลักษณะนั้นเกิดจากพฤติกรรมของยีนที่สลับซับซ้อนมาก (ดาเนิน, 2545) ความดีเด่นของลูกผสมสามารถแยกความแตกต่างออกได้เป็น 3 ลักษณะ ได้แก่ (1) relative heterosis คือ ความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ (2) heterobeltiosis คือ ความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าพ่อหรือแม่ที่ดีที่สุดของลูกผสมนั้น ๆ (3) standard heterosis คือ ลูกผสมแสดงความดีเด่นเหนือกว่าพันธุ์มาตรฐานหรือพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าในขณะนั้น (Banga, 1998) Lui *et al.* (2002) รายงานความดีเด่นของลูกผสมระหว่างพันธุ์เพศผู้เป็นหมันกับพันธุ์เพศผู้ปกติใน stem mustard (*B. juncea* var. *tumida*) และความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของลูกผสม และพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งพบว่า น้ำหนักสด ผลผลิตต่อไร่ และความยาวใบในแนวราบที่ขนาดกบพื้น มีความดีเด่นเหนือพ่อแม่ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความดีเด่นของลูกผสมในการปรับปรุงพันธุ์ Indian mustard (Priti *et al.*, 2010) rapeseed (Sabaghnia *et al.*, 2010) *B. rapa* ssp. *brown sarson* (Dar *et al.*, 2011)

การศึกษานี้เป็นการประเมินพ่อและแม่พันธุ์เพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 ของผักกาดเขียวปลี โดยพิจารณาลักษณะทางพืชสวนที่ดีและความดีเด่นของลูกผสมชั่วที่ 1

ปลูกพันธุ์พ่อและแม่ที่ใช้ผลิตผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 ในฤดูหนาว ช่วงเดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2553 ถึง เดือน มีนาคม พ.ศ. 2554 โดยปลูกผักกาดเขียวปลีพันธุ์พ่อ จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ 2M 4OR 19H9 และ 19H16 ส่วนพันธุ์แม่ จำนวน 4 พันธุ์ คือ BC9(4-4X2M) BC9(4-4X4OR) BC11(4-4X4OR) และ BC9(4-3X19H) ซึ่งเป็นผักกาดเขียวปลีเพศผู้เป็นหมันในไฮโดพลาสซึม ได้เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 7 คู่ ได้แก่ BC9(4-3x19H)x2M BC9(4-4x4OR)x19H9 BC9(4-4x4OR)x2M BC9(4-4x2M)x19H9 BC9(4-4x2M)x4OR BC11(4-4x4OR)x 19H16 และ BC11(4-4x4OR)x2M ปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์การค้า จำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เยี่ยม MAX 018 และ M-ONE เริ่มเพาะเมล็ดผักกาดเขียวปลีในเดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2554 โดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุเพาะ รดน้ำให้ชุ่มทุกวัน หลังจากงอกประมาณ 7 วันย้ายลงถาดเพาะกล้า ใช้พีทมอสเป็นวัสดุเพาะ หลังจากย้ายลงถาดเพาะกล้าประมาณ 10 วัน รดปุ๋ยสูตร 46-0-0 ประมาณ 15 กรัมต่อน้ำ 15 ลิตร โดยจะให้ปุ๋ยในช่วงที่เป็นต้นกล้า 2 ครั้ง เมื่ออายุกล้าได้ 25 วัน คัดเอาต้นที่สมบูรณ์และสม่ำเสมอย้ายปลูกลงแปลง โดยวางแผนการทดลองแบบแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ จำนวน 3 ซ้ำ ปลูกพันธุ์ละ 16 ต้นต่อซ้ำ ปลูกระยะ 50x50 เซนติเมตร แปลงขนาด 1X4 เมตร โดยเตรียมแปลงตากดินไว้ประมาณ 7 วัน และคลุมแปลงด้วยพลาสติกขนาดกว้าง 1.2 เมตร ให้น้ำโดยใช้ระบบน้ำหยด พร้อมกับให้สารละลายปุ๋ยที่ประกอบด้วย ปุ๋ยแคลเซียมไนเตรท (300 กรัม โพแทสเซียมไนเตรท 130 กรัม และ โมโนโพแทสเซียมฟอสเฟต 150 กรัม ผสมน้ำ 200 ลิตร) และธาตุอาหารรอง 5 กรัม (ประกอบด้วย Mg 9.0%, Fe 4.0%, Mn 4.0%, Cu 1.5%, Co 0.05%, Zn 1.5% , B 0.5% และ Mo 0.1%) โดยให้ไปพร้อมกับระบบน้ำทุกวัน วันละ 2 ครั้ง เข้า-เย็น

หลังย้ายปลูกได้ 45 วัน เก็บเกี่ยวผลผลิต การบันทึกข้อมูล ได้แก่ ผลผลิตต่อไร่ องค์ประกอบของผลผลิตต่อไร่ ได้แก่ น้ำหนักก่อนตัดแต่ง น้ำหนักหลังตัดแต่ง เปอร์เซ็นต์การตัดแต่ง ความแน่นของปลี ความยาว

และความกว้างของลำต้นและหัว นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ คำนวณหาค่าความดีเด่นของลูกผสม ได้แก่ ความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ ความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าพ่อหรือแม่ที่ดีที่สุดและความดีเด่นเหนือกว่าพันธุ์มาตรฐานหรือพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้า

ผลการทดลอง

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 1) ปรากฏว่า ผักกาดเขียวปลีทั้งหมดในด้านผลผลิตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีผลผลิตเฉลี่ย 2,016 ถึง 4,435 กิโลกรัมต่อไร่ โดยพันธุ์ 2M ให้ผลผลิตมากที่สุด

Table 1 Yield and yield components of leaf mustard in winter 2011

Variety	Yield (kg./rai)	Head Weight (g./head)		Trimming ^{2/} (%)	Solidity ^{3/} (gm/CC M)	HSI ^{4/}	SSI ^{5/}
		Before	After				
		Trimming	Trimming				
Hybrids							
BC9(4-3 x 19H) x 2M	2,605.7 ^{cde1/}	1,362.5 ^{abcd1/}	430.9 ^{cd1/}	66.6 ^a	1.17 ^{cd1/}	0.9 ^{b1/}	0.69 ^{ab1/}
BC9(4-4 x 4OR) x 19H9	2,560.3 ^{cde}	830.0 ^{ef}	423.3 ^{cd}	47.4 ^a	1.56 ^{bc}	1.0 ^b	0.6 ^{ab}
BC9(4-4 x 4OR) x 2M	2,197.4 ^{de}	1,106.7 ^{bcde}	363.3 ^d	66.5 ^a	1.63 ^{bc}	0.9 ^b	0.5 ^b
BC9(4-4 x 2M) x 19H9	2,872.8 ^{bcde}	1,454.2 ^{abc}	475.0 ^{bcd}	65.3 ^a	1.06 ^{cd}	1.0 ^b	0.8 ^{ab}
BC9(4-4 x 2M) x 4OR	3,467.5 ^{abcde}	1,310.8 ^{abcd}	573.3 ^{abcd}	59.3 ^a	1.51 ^{bc}	1.0 ^b	0.8 ^{ab}
BC11(4-4 x 4OR) x 19H16	3,180.2 ^{abcde}	1,337.5 ^{abc}	525.8 ^{abcd}	59.4 ^a	1.1 ^{cd}	1.0 ^b	0.7 ^{ab}
BC11(4-4 x 4OR) x 2M	2,192.4 ^{de}	1,060.0 ^{cdef}	362.5 ^d	64.5 ^a	2.1 ^b	0.9 ^b	0.6 ^{ab}
Female Parent							
BC9(4-3 x 19H)	3,381.8 ^{abcde}	1,394.2 ^{abc}	559.2 ^{abcd}	59.7 ^a	1.33 ^{cd}	0.9 ^b	0.7 ^{ab}
BC9(4-4 x 4OR)	2,197.4 ^{de}	890.8 ^{def}	363.3 ^d	58.4 ^a	1.1 ^{cd}	0.9 ^b	0.8 ^{ab}
BC9(4-4 x 2M)	2,545.2 ^{cde}	1,404.2 ^{abc}	420.8 ^{cd}	68.1 ^a	1.27 ^{cd}	1.0 ^b	0.6 ^{ab}
BC11(4-4 x 4OR)	2,016.0 ^e	670.0 ^f	333.3 ^d	47.6 ^a	1.53 ^{bc}	1.0 ^b	0.7 ^{ab}
Male Parent							
19H9	3,946.3 ^{abc}	1,606.7 ^a	652.5 ^{abc}	56.9 ^a	1.1 ^{cd}	1.2 ^b	0.8 ^{ab}
19H16	3,694.3 ^{abcd}	1,489.2 ^{ab}	638.3 ^{abc}	58.5 ^a	1.17 ^{cd}	1.1 ^b	0.7 ^{ab}
4OR	4,127.8 ^{ab}	1,564.2 ^a	682.5 ^{ab}	52.4 ^a	0.98 ^{cd}	1.1 ^b	0.8 ^{ab}
2M	4,435.2 ^a	1,604.2 ^a	733.3 ^a	54.2 ^a	1.06 ^{cd}	1.1 ^b	1.0 ^a
Control variety							
Yeam	4,032.0 ^{abc}	1,472.2 ^{abc}	666.67 ^{abc}	52.8 ^a	2.9 ^a	2.2 ^a	0.6 ^b
MAX 018	4,223.5 ^{ab}	1,487.5 ^{ab}	698.3 ^{ab}	52.1 ^a	0.8 ^d	1.0 ^b	0.8 ^{ab}
M-ONE	4,258.8 ^{ab}	1,463.3 ^{abc}	704.2 ^{ab}	49.1 ^a	1.25 ^{cd}	1.1 ^b	0.9 ^{ab}

^{1/} Mean within column with different letters differ at $P \leq 0.05$ according to least significant difference and ns = non significant at, respectively

^{2/} Percentage of Trimming = {(Before Trimming - After Trimming) / Before Trimming} X 100

^{3/} Solidity = $MHW / (0.524 d_1^2 d_2)$

MHW = mean head weight, d_1 = mean length of head, d_2 = mean width of head

^{4/} HSI = Head shape index = (Head length)/(Head width)

^{5/} SSI = Stem shape index = (Stem length)/(Stem width)

และพันธุ์ BC11(4-4 x 4OR) ให้ผลผลิตน้อยที่สุด ในกลุ่มผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 พบว่าผักกาดเขียวปลีพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 BC9(4-4 x 2M)x4OR (ภาพที่ 1) ให้ผลผลิตมากที่สุดคือ 3,468 กิโลกรัมต่อไร่ ที่ได้จาก BC9(4-4 x 2M) เป็นพันธุ์แม่ผสมกับ 4OR น้ำหนักปลีก่อนตัดและหลังตัดแต่ง เท่ากับ 1,311 และ 573 กรัมต่อหัว ผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 (ภาพที่ 2) ที่มีน้ำหนักปลีเฉลี่ย 350 ถึง 450 กรัมต่อหัว ซึ่งเป็นที่ต้องการของโรงงานแปรรูป ได้แก่ BC9(4-3 x 19H) x 2M, BC9(4-4 x 4OR) x 19H9, BC9(4-4 x 4OR) x 2M และ BC11(4-4 x 4OR) x 2M คือ 430.8, 423.3, 363.3 และ 362.5 กรัมต่อหัว ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การตัดแต่งอยู่ระหว่าง 47.4-66.5 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การตัดแต่งน้อยที่สุด คือ BC9(4-4x4OR)x19H9 พันธุ์ผักกาดเขียวปลีที่ทดลอง มีความแน่นของปลี (solidity) เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.82-2.96 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ในกลุ่มลูกผสมชั่วที่ 1 ผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC11(4-4 x 4OR) x 2M มีความหนาแน่นมากที่สุด คือ 2.10 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าพันธุ์แม่ 018 และพันธุ์ M-ONE ที่เป็นพันธุ์มาตรฐาน อัตราส่วนของปลี (head shape index) พบว่า พันธุ์เยี่ยม มีอัตราส่วนของปลีมากที่สุด คือ 2.19 ส่วนลูกผสมชั่วที่ 1 ทุกคู่มีอัตราส่วนของปลีอยู่ระหว่าง 0.90 ถึง 1.03 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอัตราส่วนของลำต้นที่พิจารณาจากความยาวกับความกว้างของลำต้น พบว่า ลูกผสมมีอัตราส่วนของลำต้นเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.54 ถึง 0.77 ซึ่ง

น้อยกว่าพันธุ์แม่ 018 และพันธุ์ M-ONE ที่มีอัตราส่วนของลำต้นเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.84 และ 0.85 ตามลำดับ

ผลการศึกษาความดีเด่นของลูกผสมชั่วที่ 1 (ตารางที่ 2) พบว่า ผลผลิตต่อไร่ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC9(4-4x4OR)x2M BC9(4-3x19H)x2M BC11(4-4x4OR)x2M BC9(4-4x4OR)x19H9 BC9(4-4x2M)x19H9 แสดงความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ในทางลบ ผลผลิตต่อไร่เท่ากับร้อยละ 33.7, 33.3, 32.0, 16.7 และ 11.5 ตามลำดับ ยกเว้น พันธุ์ BC11(4-4x4OR)x19H16 และ BC9(4-4x2M)x4OR แสดงความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ในทางลบ ผลผลิตต่อไร่เท่ากับร้อยละ 11.4 และ 3.4 ตามลำดับ ความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าพ่อหรือแม่ที่ดีที่สุด พบว่า ผลผลิตต่อไร่ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC11(4-4x4OR)x2M BC9(4-4x4OR)x2M BC9(4-3x19H)x2M BC9(4-4x4OR)x19H9 BC9(4-4x2M)x19H9 BC9(4-4x2M)x4OR และ BC11(4-4x4OR)x19H16 แสดงความดีเด่นในทางลบ เท่ากับร้อยละ 50.6, 50.5, 41.3, 35.1, 27.2, 16.0 และ 13.9 ตามลำดับ ความดีเด่นเหนือกว่าพันธุ์มาตรฐานหรือพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้า พบว่า ผลผลิตต่อไร่ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC11(4-4x4OR)x2M BC9(4-4x4OR)x2M BC9(4-4 x 4 OR)x1 9 H9 BC9 (4 -3 x1 9 H)x2 M BC9 (4 -4x2M)x19H9 BC11(4-4x4OR)x19H16 และ BC9(4-4x2M)x4OR แสดงความดีเด่นในทางลบ เท่ากับร้อยละ 47.4, 47.3, 38.6, 37.5, 31.1, 23.8 และ 16.9 ตามลำดับ



Figure 1 F₁ hybrids gave positive heterotic effects on yield over their mid parents



Figure 2 Head shape of F_1 hybrids, male and female parents and commercial varieties of leaf mustard after trimming

วิจารณ์

การประเมินพ่อและแม่พันธุ์เพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 ของผักกาดเขียวปลี โดยพิจารณาลักษณะพืชสวนที่ดีและความดีเด่นของลูกผสม ผักกาดเขียวปลีพันธุ์แม่บางพันธุ์ยังมีลักษณะทางพืชสวนไม่เหมาะสม ทำให้พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ผลผลิตต่อไร่ต่ำกว่าพันธุ์การค้า เป็นผลมาจากการผสมกลับของพันธุ์แม่ยังไม่สามารถให้ลักษณะการห่อหัวหรือลักษณะทางพืชสวนที่ดีได้สมบูรณ์ (นรินทร์, 2545) เนื่องจากแม่พันธุ์ผักกาดเขียวปลีที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นพันธุ์ในไฮโดรพลาสซึม ที่ถ่ายทอดมาจากยีนของผักกาดหัว (มณีฉัตร, 2545) ผักกาดเขียวปลีทุกพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การตัดแต่งที่สูง ซึ่งส่วนใหญ่มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่าต้องตัดส่วนที่เป็นใบและก้านทิ้งไปครึ่งหนึ่งทำให้สูญเสียผลผลิตไป

ทั้งนี้เนื่องจากผักกาดเขียวปลีที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีจำนวนใบที่มาก (โชคชัย, 2540) ผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 ที่มีน้ำหนักปลีเฉลี่ย 350 ถึง 450 กรัมต่อหัว ได้แก่ BC9(4-3 x 19H) x 2M, BC9(4-4 x 4OR) x 19H9, BC9(4-4 x 4OR) x 2M และ BC11(4-4 x 4OR) x 2M คือ 430.8 423.3 363.3 และ 362.5 กรัมต่อหัว ตามลำดับ ดังนั้นการใช้พ่อและแม่พันธุ์ที่ให้ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่มีน้ำหนักปลีเฉลี่ย 350 ถึง 450 กรัมต่อหัว ได้แก่ แม่พันธุ์ BC9(4-3 x 19H) ผสมกับพ่อพันธุ์ 2M แม่พันธุ์ BC9(4-4 x 4OR) ผสมกับพ่อพันธุ์ 19H9 แม่พันธุ์ BC9(4-4 x 4OR) ผสมกับพ่อพันธุ์ 2M และ แม่พันธุ์ BC11(4-4 x 4OR) ผสมกับพ่อพันธุ์ 2M จะให้ลูกผสมชั่วที่ 1 มีน้ำหนักปลีที่เหมาะสมกับความต้องการของโรงงานแปรรูปผักกาดเขียวปลี และสามารถนำพ่อแม่ของลูกผสมเหล่านี้ไปพัฒนาเพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 ที่มีปลีขนาดเล็กและมีลักษณะทางพืชสวนที่ดี

Table 2 Heterosis, heterobeltiosis and standard heterosis of yield and yield components in winter 2011

Variety	Yield (kg./rai)	Head weight (g./head)		Trimming (%)	Solidity (g./CCM)	Head		HSI	Stem		SSI
		Before Trimming	After Trimming			length	width		length	width	
Heterosis											
BC9(4-3 x 19H) x 2M	-33.3	-9.1	-33.3	17.7*	-1.5	-12.8*	-7.4	-5.6*	-19.5	-5.5	-18.1
BC9(4-4 x 4OR) x 19H9	-16.7	-33.5	-16.7	-17.8	42.5	-15.2*	-16.2	1.6*	-3.1	22.8	-21.9
BC9(4-4 x 4OR) x 2M	-33.7	-11.3	-33.7	19.0*	49.4	-24.3*	-19.3	-5.9*	-12.2	40.4	-39.5
BC9(4-4 x 2M) x 19H9	-11.5	-3.4	-11.2	1.0	-10.4	-2.4*	9.1	-10.3*	9.6	-11.1	16.9
BC9(4-4 x 2M) x 4OR	3.4	-11.7	3.4	-11.4	34.2	-6.9*	-6.5	0.0	2.9	-9.2	9.3
BC11(4-4 x 4OR) x 19H16	11.4	23.9	8.2	12.0*	-18.9	16.5*	21.1	-3.5*	15.7	9.5	3.9
BC11(4-4 x 4OR) x 2M	-32.0	-6.8	-32.0	27.8*	62.1	-17.4*	-5.8	-11.8*	0.8	25.6	-22.1
Heterobeltiosis											
BC9(4-3 x 19H) x 2M	-41.3	-15.1	-41.3	11.5*	-11.5	-21.6	-10.6	-12.4	-25.0	-11.5*	-29.9
BC9(4-4 x 4OR) x 19H9	-35.1	-48.3	-35.1	-18.8	42.5	-25.8*	-17.3	-10.1	-10.2	18.4*	-24.1
BC9(4-4 x 4OR) x 2M	-50.5	-31.0	-50.5	13.9*	46.9	-34.6*	-24.1	-14.0	-19.2	40.4*	-45.3
BC9(4-4 x 2M) x 19H9	-27.2	-9.5	-27.2	-7.3	-16.6	-13.4*	4.6	-17.2	3.9	-24.7*	2.2
BC9(4-4 x 2M) x 4OR	-16.0	-16.2	-16.0	-20.5	18.9	-18.1*	-13.3	-5.4	-0.7	-21.6*	-8.0
BC11(4-4 x 4OR) x 19H16	-13.9	-10.2	-17.6	1.6	-28.4	-0.25	7.3	-7.4	-0.2	-1.1*	-1.7
BC11(4-4 x 4OR) x 2M	-50.6	-33.9	-50.6	20.9	37.2	-31.7*	-19.7	-15.1	-18.0	19.7*	-35.1
Standard Heterosis											
BC9(4-3 x 19H) x 2M	-37.5	-7.6	-37.5	29.7	-30.4	-18.0	-0.6	-34.0	-33.5	-12.1	-9.2
BC9(4-4 x 4OR) x 19H9	-38.6	-43.7	-38.6	-7.8	-7.1	-24.4	-17.0	-27.0	-33.1	2.6	-21.1
BC9(4-4 x 4OR) x 2M	-47.3	-24.9	-47.3	29.4	-3.0	-31.5	-15.7	-35.5	-28.3	21.6	-28.9
BC9(4-4 x 2M) x 19H9	-31.1	-1.4	-31.1	27.1	-36.9	-11.8	4.9	-32.6	-26.2	-12.7	1.3
BC9(4-4 x 2M) x 4OR	-16.9	-11.1	-16.9	15.5	-10.1	-15.1	-6.7	-27.0	-24.2	-9.0	-1.3
BC11(4-4 x 4OR) x 19H16	-23.8	-9.3	-23.8	15.7	-34.5	-4.1	8.9	-29.8	-23.5	-3.8	-5.3
BC11(4-4 x 4OR) x 2M	-47.4	-28.1	-47.4	25.7	25.0	-28.5	-10.7	-36.2	-27.3	3.7	-15.8

* Significant at 5% probability levels, respectively. % Heterosis = $(\bar{F}_1 - \bar{MP}) \times 100 / \bar{MP}$, % Heterobeltiosis = $(\bar{F}_1 - \bar{P}) \times 100 / \bar{P}$, MP = mid-parent, PI = better parent.

Standard Heterosis = $(\bar{F}_1 - \text{Control variety}) \times 100 / \text{Control variety}$.

จากผลการทดลองลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC9(4-4x4OR)x2M BC9(4-3x19H)x2M BC11(4-4x4OR)x2M BC9(4-4x4OR)x19H9 BC9(4-4x2M)x19H9 ที่แสดงความดีเด่นในทางลบ เนื่องมาจากการแสดงออกของยีนแบบไม่เป็นผลบวกสะสม (non-additive gene) และถูกควบคุมด้วยยีนหลายยีน (วีรพันธ์, 2548) เป็นผลทำให้มีขนาดหัวของลูกผสมชั่วที่ 1 เล็กลง ส่วนลูกผสมมีความดีเด่นเหนือกว่าพ่อแม่ เนื่องมาจากยีนนั้นแสดงออกแบบผลบวกสะสม (additive gene) นอกจากนี้ กฤษฎา (2546) ยังได้กล่าวถึงการเกิดความดีเด่นของลูกผสมไว้ว่า ส่วนมากเกิดจากปฏิกิริยาการข่มของยีน ส่วนน้อยเกิดจากการข่มข้ามคู่และการข่มข้ามลักษณะของยีน ซึ่งความดีเด่นของลูกผสมที่เกิดจากการข่มข้ามคู่และการข่มข้ามลักษณะจะถูกคัดทิ้งโดยธรรมชาติ จึงได้สรุปว่าความดีเด่นของลูกผสมนั้นเป็นผลมาจากผลบวกสะสม (cumulative effect) ของยีนข่มแต่ละตัว จากยีนแต่ละชุดที่ต่างกันจะมีระดับการข่มที่ไม่เท่ากัน

สรุป

จากผลการทดลองดังกล่าว เห็นได้ว่าผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC9(4-4 x 2M)x4OR มีผลผลิตสูงสุด 3,468 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนพันธุ์ BC9(4-3 x 19H) BC9(4-4 x 4OR) BC11(4-4 x 4OR) 2M และ 19H9 เป็นพันธุ์แม่กับพันธุ์พ่อที่ให้ลูกผสมที่มีลักษณะทางพืชสวนที่ดีและมีน้ำหนักปลีที่เหมาะสมกับความต้องการของโรงงานแปรรูปผักกาดเขียวปลี

ผักกาดเขียวปลีลูกผสมชั่วที่ 1 ส่วนใหญ่มีความดีเด่นของลูกผสมระดับต่ำกว่าพ่อแม่ ยกเว้น ลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ BC9(4-4 x 2M)x4OR ที่ได้จากแม่พันธุ์ BC9(4-4 x 2M) ผสมกับพ่อพันธุ์ 4OR และ BC9(4-4 x 4OR) x 19H9 ที่ได้จาก แม่พันธุ์ BC9(4-4 x 4OR) ผสมกับพ่อพันธุ์ 19H9 แสดงความดีเด่นในด้านของน้ำหนักผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักปลีก่อนตัดแต่ง น้ำหนักปลีหลังตัดแต่ง เปอร์เซ็นต์การตัดแต่งและอัตราส่วนของลำต้นในทางลบ แต่ความแน่นของปลีแสดงออกในทางบวก ซึ่งทำให้ได้ขนาดน้ำหนักหัวหลังตัดแต่ง เปอร์เซ็นต์การตัดแต่ง ความ

แน่น ที่เหมาะสมกับความต้องการของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผักกาดดอง

เอกสารอ้างอิง

- กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2546. ปรับปรุงพันธุ์พืช : ความหลากหลายทางแนวคิด. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 228 หน้า.
- โชคชัย ไชยมงคล มณีฉัตร นิกรพันธุ์ และ ตระกูล ต้นสุวรรณ. 2540. การเปรียบเทียบพันธุ์ผักกาดเขียวปลี. วารสารเกษตร 13(1) : 38-42.
- นรินทร์ เสนาป่า โชคชัย ไชยมงคล ตระกูล ต้นสุวรรณ และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2545. การปรับปรุงพันธุ์ผักกาดเขียวปลีลูกผสมโดยอาศัยยีนเพศผู้เป็นหมันในไฮโดรพลาสซึม. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี 9: 283-288.
- มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2545. กะหล่ำ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 208 หน้า.
- วีรพันธ์ กันแก้ว. 2548. ความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของถั่วอะซูกิ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 98 หน้า.
- ดำเนิน กาละดี. 2545. เทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์พืช. โรงพิมพ์เมือง, เชียงใหม่. 256 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2553. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้า-ส่งออกเมล็ดพันธุ์. (ระบบออนไลน์) แหล่งที่มา <http://www.oae.go.th/ewtnews.php?nid=145&filename=index> (24 สิงหาคม 2554).
- Banga, S.S. 1998. Heterosis: an introduction. In S. S. Banga, and S. K. Banga. Hybrid Cultivar Development. New Delhi, India. pp 1-6.
- Dar, Z. A., A. Shafiq, M. Altaf, M. Gulzaffar, H. Khan, M. Habib, Z. Ahmed and A. Ishfaq. 2011. Heterosis and combining ability analysis for

- seed yield and its attributes in *Brassica rapa* ssp. brown sarson. Journal of Oilseed Brassica 2(1): 21-28.
- Liu, Y. H., G. F. Zhou, Y. H. Fau, H. Q. Lin and C. L. Chen. 2002. The heterosis of F1 hybrid between CMS lines and male parent lines in tumorous stem mustard (var. *tumida*). Southwest China Journal of Agricultural Science 15(3): 33-38.
- Priti, G., H. B. Chaudhery and S. K. Lal. 2010. Heterosis and combining ability analysis for yield and its components in Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern & Coss). Frontiers of Agriculture in China 2010, 4(3): 299-307.
- Purseglove, J. W. 1968. Tropical Crops Dicotyledons 1. Longmans Green & Co. Ltd, London. 332 p.
- Rao, G.U., V. Batra-Sarup, S. Prakash and K.R. Shivanna. 1994. Development of a new cytoplasmic male sterility system in *Brassica juncea* through wide hybridization. Plant Breeding 112(2): 171-174.
- Sabaghnia, N., H. Dehghani, B. Alizaden and M. Mohghaddam. 2010. Heterosis and combining ability analysis for oil yield and its components in rapeseed. Australian Journal Crop Science 4(6): 390-397.
- Szasz, A., M. Landgren, J. Fahleson and K. Glimelius. 1991. Characterization and transfer of the cytoplasmic male sterile Anand catoplasm from *Brassica juncea* to *Brassica napus* via protoplast fusion. Physiologia Plantarum 82(1): 29.
- Yamagishi, H. and T. Terachi. 1993. Molecular and biological studies on male-sterile cytoplasm in the Cruciferae. The origin and distribution of Ogura male-sterile cytoplasm in Japanese wild radishes (*Raphanus sativus* L.) revealed by PCR-aided assay of their mitochondrial DNAs. Molecular and Cellular Biology 8(4): 1474-1480.

การปรับตัวต่อสภาพแอโรบิกของ พันธุ์ข้าวไร่ และข้าวนาสวน

Adaptation to Aerobic Condition of Upland and Wetland Rice Varieties

พุทพวงค์ มะโนคำ^{1*} ณัฐฉิณี ภัทรกุล^{1/} ศันสนีย์ จำจด^{1/}
ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย^{1/} และ เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม^{1/}
Puthapong Manokam^{1}, Nattinee Phattarakul^{1/}, Sansanee Jamjod^{1/},
Chanakan Thebault Prom-u-thai^{1/} and Benjavan Rerkasem^{1/}*

Abstract: Root system of rice genotypes differ in their adaptation to aerobic condition, both in water and nutrient uptake. However, studies of root system are time consuming and labor intensive. In Experiment 1, two rice genotypes Buebang (upland rice) and KDML 105 (wetland rice) were tested in 8 treatments to identify suitable growing media for screening genotypes of rice root system. It was found that Sansai soil and black loam soil were suitable for rice root study and Sansai soil was used further in Experiment 2. In Experiment 2, three each of upland (BueBang (BB), R258 and Seiw Mae Jan (SMJ)) and wetland (SupanBuri1 (SPR 1), Chainat1 (CNT 1) and Pathumthani1 (PTT 1)) rice were grown in two growth conditions (aerobic and flooded). Under aerobic condition, total root dry weight of BB, CNT 1 and R 258 varieties were increased. Root distribution of all wetland rice decreased at 0-30 cm depth but those of upland rice increased at 15-30 cm compared to the flooded condition. For shoot growth, shoot dry weight and number of tillers of wetland rice varieties were increased but plant height was reduced while those of upland rice were the same as in flooded. Thus, the root / shoot ratio of all upland rice varieties in aerobic were increased and all wetland rice, except CNT 1, decreased. For nutrient accumulation, nitrogen was increased only in PTT 1. Phosphorus of upland rice was decreased and wetland rice was not changed. Potassium was increased in PTT 1 but decreased in SPR 1. Calcium was increased in CNT 1 and BB, and magnesium decreased only in SPR 1.

Keywords: Adaptation, aerobic, upland rice, wetland rice, screening method

^{1/} ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

* Corresponding author E-mail: bee_240@hotmail.com

บทคัดย่อ: ข้าวมีการปรับตัวของรากต่อสภาพแอโรบิกที่แตกต่างกันทั้งด้านการดูดน้ำและอาหาร ซึ่งการศึกษาระบบรากข้าวใช้เวลานานและลำบาก ดังนั้นการประเมินและคัดเลือกพันธุ์ที่มีการปรับตัวของรากจึงทำได้ยาก การศึกษานี้เริ่มจากเปรียบเทียบการเจริญของรากข้าว 2 พันธุ์คือ พันธุ์ป๊อบ้าง (ข้าวไร่) และข้าวดอกมะลิ 105 (ข้าวนาสวน) ในวัสดุปลูก 8 ชนิดในงานทดลองที่ 1 เพื่อหาวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการนำมาใช้ศึกษารากข้าวที่ง่ายและรวดเร็ว พบว่า ดินชุดสนทรายและดินดำเป็นวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการศึกษาระบบรากข้าว การทดลองที่ 2 ศึกษาการปรับตัวต่อสภาพปลูกแอโรบิกเทียบกับสภาพน้ำขังพันธุ์ข้าวนาสวน 3 พันธุ์ และข้าวไร่ 3 พันธุ์ พบว่า ข้าวพันธุ์ ป๊อบ้าง ชัยนาท 1 และ R 258 มีน้ำหนักรากเพิ่มขึ้นในสภาพแอโรบิก ส่วนการกระจายตัวของรากที่ความลึกได้ผิวดิน 0-15 เซนติเมตร ข้าวนาสวนมีน้ำหนักรากลดลงยกเว้นพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ความลึก 15-30 เซนติเมตร ข้าวไร่มีน้ำหนักรากเพิ่มขึ้นแต่ข้าวนาสวนลดลง และที่ความลึกมากกว่า 30 เซนติเมตร ข้าวทุกพันธุ์มีน้ำหนักรากเพิ่มขึ้น การเจริญทางลำต้นพบ น้ำหนักต้นและจำนวนหน่อของข้าวนาสวนเพิ่มขึ้น แต่ความสูงลดลง ส่วนข้าวไร่ไม่เปลี่ยนแปลง ทำให้ค่า root/shoot ratio ของข้าวไร่เพิ่มขึ้นในสภาพแอโรบิก แต่ในข้าวนาสวนลดลงยกเว้นพันธุ์ชัยนาท 1 สำหรับการสะสมธาตุอาหารไนโตรเจนพบเพียงพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่มีค่าเพิ่มขึ้นในสภาพแอโรบิก ฟอสฟอรัสของข้าวไร่ส่วนใหญ่ลดลงและข้าวนาสวนไม่เปลี่ยนแปลง โพแทสเซียมมีเพียงปทุมธานี 1 เพิ่มขึ้นและสุพรรณบุรี 1 ลดลง แคลเซียมเพิ่มขึ้นในพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์ป๊อบ้าง และการสะสมแมกนีเซียมพบว่ามีเพียงข้าวสุพรรณบุรี 1 เท่านั้นที่ลดลงในสภาพแอโรบิกในขณะที่พันธุ์อื่นไม่มีการเปลี่ยนแปลง

คำสำคัญ: การปรับตัว แอโรบิก ข้าวไร่ ข้าวนาสวน วิธีการประเมิน

คำนำ

ข้าวเป็นพืชอาหารที่สำคัญ โดยพบว่าประชากรร้อยละ 50 ของโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก (Kundu and Ladha, 1997) โดยเฉพาะในภูมิภาคเอเชียที่ประชากรส่วนมากบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ทำให้ในภูมิภาคนี้มีพื้นที่ปลูกข้าวถึงร้อยละ 90 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด (IRRI, 2005) แต่อย่างไรก็ตามพื้นที่ปลูกข้าวก็ยังมิอยู่อย่างจำกัด ไม่เพียงพอต่อการบริโภคของประชากรโลกที่เพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ที่การปลูกข้าวถูกจำกัดด้วยปริมาณน้ำในการเพาะปลูก ดังเช่นประเทศไทย ที่พบว่าพื้นที่ปลูกข้าวส่วนใหญ่เป็นน่าน้ำฝน เกษตรกรไม่สามารถควบคุมน้ำให้ขังอยู่ในดินได้ตามความต้องการของข้าวนาสวนที่จำเป็นต้องมีการขังน้ำในกระถางตลอดฤดูปลูก ซึ่งพื้นที่ปลูกข้าวนาสวนในเขตชลประทานมีเพียงร้อยละ 24 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ ส่วนที่เหลือเป็นพื้นที่ที่การปลูกข้าวต้องอาศัยน้ำฝน ดังนั้นการจัดการน้ำในแปลงให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวจะเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยพัฒนาการผลิตข้าวของไทยได้

การปลูกข้าวแอโรบิก เป็นวิธีการปลูกข้าวที่ใช้น้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสภาพแอโรบิกมีการไหลเวียนของออกซิเจนอยู่บริเวณรากข้าวทำให้มีการหายใจบริเวณรากมากกว่าในสภาพน้ำขังโดยการปลูกข้าวแอโรบิกแตกต่างจากการทำนาสวน เพราะข้าวแอโรบิกไม่มีการทำเทือกไม่มีการขังน้ำแต่ให้ปริมาณน้ำในแปลงข้าวอย่างเพียงพอเหมือนพืชไร่ชนิดอื่น ๆ โดยมีการรักษาความชื้นในดินให้สูงกว่าจุดเหี่ยวถาวร แต่ไม่ได้ขังน้ำไว้ในกระถางเหมือนการปลูกข้าวนาสวนโดยทั่วไป (George et al., 2002) โดยพบว่า การปลูกข้าวในระบบแอโรบิกใช้น้ำเพียงสามในห้าส่วนของการปลูกข้าวแบบน่าน้ำขัง (IRRI, 2005) การปลูกข้าวแอโรบิกนอกจากจะช่วยประหยัดน้ำแล้วยังสามารถเพิ่มพื้นที่ปลูกให้มากขึ้นด้วย ถ้าคำนวณปริมาณน้ำในการเพาะปลูกเปรียบเทียบกับ การปลูกแบบขังน้ำ โดยน้ำชลประทานที่ใช้ทำนาสวน 1 ไร่ จะพอเพียงปลูกข้าวแอโรบิกได้ 3-5 ไร่ในฤดูนาปี และ 2-3 ไร่ ในฤดูนาปรัง (เบญจวรรณ, 2552) แต่นอกจากความแตกต่างในเรื่องจัดการน้ำแล้ว การปลูกข้าวแอโรบิกยังเป็นระบบปลูกข้าวที่มีการจัดการอย่างอื่นต่างจากการปลูกแบบขังน้ำ เช่น การจัดการวัชพืช การจัดการปุ๋ยและ

ธาตุอาหารในดิน และการใช้พันธุ์ข้าวที่เหมาะสมต่อสภาพแอโรบิก เป็นต้น

การคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ปรับตัวและให้ผลผลิตดีนับเป็นปัจจัยหลักในการปรับเปลี่ยนระบบการปลูกข้าวจากน้ำขังไปเป็นระบบแอโรบิก เนื่องจากพันธุ์ข้าวนาสวนใหญ่มักปรับตัวได้ไม่ดีและมีผลผลิตลดลงเมื่อปลูกในสภาพแอโรบิก โดยจากการทดลองเบื้องต้นพบว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ ชัยนาท 1 มีการสร้างน้ำหนักแห้งลดลงร้อยละ 53.8 และ 67.9 ตามลำดับ เมื่อปลูกในสภาพแอโรบิก (สุวรรณี และคณะ, 2550) แต่พันธุ์ข้าวไร่อย่างพันธุ์ป๊อบัง และพันธุ์ชีวแม่จัน ผลผลิตกลับไม่มีการลดลง ทั้งนี้เนื่องจากข้าวนาสวนพันธุ์ปรับปรุงเช่น สุพรรณบุรี 1 ชัยนาท 1 และขาวดอกมะลิ 105 มีระบบรากที่สั้นเมื่อเทียบกับข้าวไร่อย่างเช่นพันธุ์ป๊อบังที่มีระบบรากยาว เมื่อปลูกในสภาพแอโรบิกทำให้สามารถหาน้ำและอาหารได้มากกว่าและนอกจากนั้นข้าวไร่พันธุ์ป๊อบัง ชีวแม่จัน และอาร์258 ยังสามารถทนต่อสภาพความเป็นกรดจากอลูมิเนียมได้ดีด้วย (Phattarakul, 2008) ดังนั้น การคัดเลือกจากลักษณะรากที่มีระบบรากลึกและปริมาณรากหนาแน่นมากกว่าจะช่วยให้มีประสิทธิภาพในการดูดน้ำและธาตุอาหารสูงกว่าด้วย ซึ่งปัจจัยดังกล่าวน่าจะสามารถนำมาใช้เป็นปัจจัยหลักในการประเมินและการคัดเลือกพันธุ์ให้เหมาะกับการปลูกในสภาพแอโรบิกได้เป็นอย่างดี ซึ่งการพัฒนาวิธีการศึกษารากเพื่อให้ง่ายและรวดเร็วมีความสำคัญต่อการพัฒนาและคัดเลือกพันธุ์เป็นอย่างมากโดย Girdthai *et al.*, (2010) พบว่าการศึกษารากด้วยวิธีสแกนสารละลายสูตร Hoagland solution สามารถใช้แทนการปลูกในดินได้และ Lay Heng (2012) ก็สามารถปลูกข้าวโพดในท่อ PVC เพื่อเปรียบเทียบรากของข้าวโพดได้เนื่องจากรากมีการขาดไม่มาก และในข้าวก็เช่นเดียวกัน (Wang *et al.*, 2004)

การศึกษารากครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินวัสดุปลูกเพื่อคัดเลือกลักษณะรากข้าวที่ปรับตัวต่อสภาพแอโรบิกและนำมาใช้ในการศึกษาความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนโดยเปรียบเทียบลักษณะการเจริญของรากและลำต้นรวมถึงการดูดใช้ธาตุอาหารในดินในสภาพการปลูกแบบแอโรบิก

อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการทดลองที่คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่าง ปี พ.ศ. 2554-2555 แบ่งเป็น 2 การทดลองโดยการทดลองที่ 1 ประเมินวัสดุปลูกเพื่อศึกษาการกระจายตัวของรากข้าวและความสัมพันธ์ของรากกับการเจริญงอกงามโดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design โดยมี 2 ปัจจัย คือ 1) พันธุ์ข้าวมีจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวไร่พันธุ์ป๊อบัง (BB) และข้าวนาสวนพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) และ 2) วัสดุปลูก มีจำนวน 8 ทรีตเมนต์ ได้แก่ T1-ดินชุดสันทราย T2-ดินดำแม่หยวก (อ.เมือง จ.เชียงใหม่) T3-ดินดำแม่หยวกผสมทรายละเอียดในสัดส่วนโดยน้ำหนัก 1:1 T4-ดินดำแม่หยวกผสมทรายละเอียดในสัดส่วน 1:2 T5-ดินดำแม่หยวกผสมทรายหยาบในสัดส่วน 1:1 T6-ดินดำแม่หยวกผสมทรายหยาบในสัดส่วน (2:1) T7-สารละลายธาตุอาหารสูตรของ McDonald *et al.* (2001) ไม่ใส่ออกซิเจน และ T8-สารละลายธาตุสูตรของ McDonald *et al.* (2001) พร้อมใส่ออกซิเจน ปลูกข้าวในท่อ PVC (เส้นผ่าศูนย์กลาง 6.3 เซนติเมตร สูง 50 เซนติเมตร) โดยปลูก 2 ต้นต่อท่อใน T1 ถึง T6 ใส่ปุ๋ยรองพื้นเป็นไนโตรเจน 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจน ต่อกลีโกรัมดิน ฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส ต่อกลีโกรัมดิน และ โพแทสเซียม 40 มิลลิกรัม โพแทสเซียม ต่อกลีโกรัมดิน รดน้ำให้อยู่ที่ระดับความจุสนามตลอดเวลา ใน T7 และ T8 ใช้สูตรสารละลายธาตุอาหารของ McDonald *et al.* (2001) ปรับ pH อยู่ที่ 5.5-6.0 เปลี่ยนสารละลายทุก ๆ 7 วัน เดิมออกซิเจนใน T8 โดยการพ่นอากาศให้ที่ก้นภาชนะปลูกทดลองซ้ำ 4 ครั้ง บันทึกข้อมูลความสูงและจำนวนหน่อ ที่ระยะ 45 วัน หลังงอก นำดินมาตัดแยกเป็น 3 ระดับความลึก คือ 0-15, 15-30 และ 30-45 เซนติเมตร จากหน้าดินแยกล้างรากให้สะอาดแล้วชั่งน้ำหนักแห้งรากและส่วนเหนือดิน

การทดลองที่ 2 ศึกษาการกระจายตัวของราก การเจริญงอกงามและการใช้ธาตุอาหารของข้าว 6 พันธุ์ในสภาพแอโรบิกกับสภาพน้ำขัง โดยจัดวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design โดยมี 2 ปัจจัย คือ 1) สภาพปลูก จำนวน 2 ระบบ

ปลูกคือ ปลูกในสภาพน้ำขังและแอโรบิก และ 2) พันธุ์ข้าว จำนวน 6 พันธุ์ แบ่งเป็นข้าวนาสวน 3 พันธุ์ คือ สุพรรณบุรี 1 (SPR 1) ชัยนาท 1 (CNT 1) และปทุมธานี 1 (PTT 1) ข้าวไร่ 3 พันธุ์ คือ ป๊อบัง (BB), R258 และพันธุ์ข้าวแม่จัน (SMJ) ทดลองซ้ำ 3 ครั้งปลูกในท่อ PVC ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 นิ้ว ยาว 1 เมตร บรรจุวัสดุปลูกที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 โดยปลูกข้าวจำนวน 2 ต้น ต่อท่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน ฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน และโพแทสเซียม 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดิน โดยใช้ปุ๋ย Urea และ KH_2PO_4 เป็นปุ๋ยรองพื้น ซึ่งน้ำในระบบน้ำขังอยู่ตลอด ส่วนในระบบ แอโรบิกให้น้ำในระดับความจุสนามอยู่ตลอด บันทึก ข้อมูลความสูง และจำนวนหน่อ ที่ระยะ 60 วัน หลังออก หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างรากโดยแต่ละท่อนำดินมาตัดแยก เป็น 4 ระดับ คือ 0-15, 15-30 เซนติเมตร และลึกกว่า 30 เซนติเมตร จากนั้นนำดิน แยกล้างรากให้สะอาดแล้วชั่ง น้ำหนักแห้งรากและส่วนเหนือดินแล้วคำนวณหา root /shoot ratio หลังจากนั้นแยกส่วนลำต้นเหนือดินนำมา เเคราะห์ธาตุอาหารไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg)

ทั้งสองการทดลองวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีการ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ประเมินวัสดุปลูกเพื่อศึกษาการ กระจายตัวของรากข้าวและความสัมพันธ์ของรากกับการ เจริญทางลำต้น

การกระจายตัวของรากในแต่ละชั้นดินพบว่า ที่ ความลึกจากผิวดิน 0-15 เซนติเมตร ข้าวป๊อบังมีน้ำหนัก รากเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 การปลูกใน สารละลายแบบไม่ใสออกซิเจน (T7) มีน้ำหนักรากเฉลี่ยสูง ที่สุด รองลงมา คือ สารละลายที่ใสออกซิเจน (T8) ที่มี น้ำหนักรากเทียบเท่ากับการปลูกในดินชุดสนทราย (T1) ที่ คล้ายกับการทดลองของ Girdthai *et al.* (2010) ที่พบว่า การปลูกศึกษารากถั่วลิสงในสารละลายสูตร Hoagland

solution สามารถใช้แทนการปลูกในดินได้แต่ในข้าวยังไม่ สามารถชี้ชัดลงไปได้ว่าการใช้สารละลายสามารถแทนการ ปลูกในดินได้ ส่วนการปลูกในดินผสมทราย (T3-T6) มี น้ำหนักรากน้อยที่สุดเนื่องด้วยความสามารถในการยึด เกาะประจุของธาตุอาหารในทรายที่ต่ำกว่าในดิน (ตาราง ที่ 1.1) ที่ความลึก 15-30 เซนติเมตร พบว่าการปลูกใน สารละลาย (T7 และ T8) มีการสะสมน้ำหนักแห้งสูงที่สุด โดยพันธุ์ป๊อบังมีน้ำหนักแห้งมากกว่า ข้าวดอกมะลิ 105 ซึ่งให้ผลเหมือนกับการทดลองของ Phattarakul (2008) เนื่องจากพันธุ์ป๊อบังมีความสามารถในการสร้างรากที่ ดีกว่าและสามารถทนกรดได้ดี และการปลูกในดินทั้ง T1 และ T2 ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน คือ ป๊อบังมีการ สะสมน้ำหนักรากสูงกว่าพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 แต่ไม่พบ ความแตกต่างระหว่างพันธุ์เมื่อปลูกในดินผสมทราย (T4, T5 และ T6) และที่ความลึก 30-45 เซนติเมตร พบว่า ป๊อ บังก็ยังมีน้ำหนักรากสูงกว่าพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 เมื่อ ปลูกทดสอบในดิน (T1 และ T2) และให้ผลทำนอง เดียวกันที่ปลูกในดินผสมทราย (T3-T5) แต่ไม่มีการเจริญ ของรากที่ระดับนี้เมื่อปลูกทดสอบในสารละลายธาตุ อาหารที่ไม่ใสออกซิเจน (T7) เนื่องจากที่ระดับความลึกสูง ทำให้ขาดออกซิเจนกิจกรรม การ oxidation ของรากข้าว ในน้ำที่ต่ำกว่าในดินที่น้ำไม่ขังทำให้มีระบบรากในดินมี การหยั่งลึกมากกว่า (Zhang *et al.*, 2004) ชัดกับการ ทดลองของ Girdthai *et al.* (2010) ที่พบว่าการศึกษา รากถั่วลิสงในสารละลายสูตร Hoagland solution สามารถใช้แทนการปลูกในดินได้ (ตารางที่ 1.1)

เมื่อนำน้ำหนักรากทุกส่วนมารวมกันเป็นการ สะสมน้ำหนักแห้งรากรวม พบว่าพันธุ์ป๊อบังมีน้ำหนัก รากรวมสูงกว่าพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ทุกทรีตเมนต์ ยกเว้นใน T8 (สารละลายธาตุอาหารพร้อมใสออกซิเจน) ข้าวที่ปลูกในดินชุดสนทราย (T1) จะมีน้ำหนักแห้งราก มากกว่าที่ปลูกในชุดดินดำแม่หยวก (T2) แต่น้ำหนักราก จะลดลงอย่างชัดเจนเมื่อปลูกทดสอบในดินที่ผสมทราย (T3-T6) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายธาตุอาหารจะ พบว่า ทั้งสองพันธุ์มีน้ำหนักรากใกล้เคียงกับที่ปลูกในดิน (T1 และ T2) (ตารางที่ 1.2)

Table 1.1 Root dry weight (g/plant) of two rice varieties Bue Bang (BB) and KDML 105 in 8 treatments at 0-15 cm, 15-30 cm and 30-45 cm depth at 45 days after germination

Treatment	0-15 cm			15-30 cm		30-45 cm		
	BB	KDML 105	Mean	BB	KDML 105	BB	KDML 105	
T1	1.95	1.67	1.81 B	0.47 Ca	0.32 Cb	0.89 Aa	0.60 Ab	
T2	1.26	1.03	1.14 C	0.50 Ca	0.37 Cb	0.58 Ba	0.40 Bb	
T3	0.47	0.33	0.40 DE	0.16 Da	0.12 Da	0.27 Ca	0.13 CDb	
T4	0.54	0.44	0.49 D	0.21 Da	0.19 Da	0.22 Ca	0.12 CDa	
T5	0.45	0.21	0.30 DE	0.18 Da	0.10 Da	0.20 Ca	0.04 Db	
T6	0.27	0.29	0.28 E	0.17 Da	0.09 Da	0.22 Ca	0.12 CDa	
T7	2.60	2.44	2.52 A	0.77 Ba	0.52 Bb	0.00 Da	0.00 Da	
T8	1.74	2.01	1.87 B	0.92 Ab	1.17 Aa	0.25 Ca	0.23 Ca	
MEAN	1.16 a	1.06 b		0.42	0.36	0.33	0.21	
F-TEST	V*	T**	VxT ^{ns}	V*	T**	VxT**	V**	T**
LSD _{0.05}	0.1	0.19	-	0.04	0.08	0.12	0.06	0.12
CV (%)	17.06			20.89		19.18		

ns, * and **. non significant, significant at $P<0.05$ and significant at $P<0.01$. V,T and VxT indicated F- test for variety, growth condition and variety and growth condition interaction effects, respectively. The differencesbetween varieties in the same column indicated by lower case letters. The differencesbetween growth conditions in the same row indicated by upper case letters. T1) Sansai soil, T2) black loam soil, T3) black loam soil: silk (1:1), T4) black loam soil: sand (2:1), T5) black loam soil: sand (1:1), T6) black loam soil: sand (2:1), T7) nutrient solution, T8) nutrient solution + O₂

Table 1.2 Total root dry weight (g/plant), Shoot dry weight (g/plant) and root/shoot ratio of two rice varieties (BB and KDML 105) in 8 treatments at 45 days after germination

Treatment	Total root dry weight (g/plant)			Shoot dry weight (g/plant)			Root/Shoot ratio		
	BB	KDML 105		BB	KDML 105		BB	KDML 105	
T1	3.30Aa	2.59Cb		1.50Db	2.05Da		1.78Aa	1.09Ab	
T2	2.35Ca	1.80Db		2.12Cb	3.04Ca		1.17Ba	0.58Cb	
T3	0.90Da	0.58Fb		0.61Ea	0.80EFa		1.07Ca	0.71Bb	
T4	0.97Da	0.76Eb		1.20DEa	1.22Ea		0.88Da	0.60Cb	
T5	0.82Da	0.36Gb		0.52Ea	0.59Fa		1.11BCa	0.66BCb	
T6	0.65Ea	0.50Fb		0.83Ea	0.67Fa		0.68Ea	0.66BCa	
T7	3.37Aa	2.96Bb		8.57Ab	9.26Aa		0.38Ga	0.32Eb	
T8	2.91Bb	3.40Aa		5.39Bb	7.07Ba		0.60Fa	0.48Db	
F-test	V**	T**	VxT**	V**	T**	VxT**	V**	T**	VxT**
LSD _{0.05}	0.04	0.08	0.11	0.16	0.33	0.46	0.03	0.07	0.09
CV (%)	13.77			11.47			16.05		

ns, * and **. non significant, significant at $P<0.05$ and significant at $P<0.01$. V,T and VxT indicated F- test for variety, growth condition and variety and growth condition interaction effects, respectively. The differencesbetween varieties in the same column indicated by lower case letters. The differencesbetween growth conditions in the same row in indicated by upper case letters. T1) Sansai soil, T2) black loam soil, T3) black loam soil: silk (1:1), T4) black loam soil: sand (2:1), T5) black loam soil: sand (1:1), T6) black loam soil: sand (2:1), T7) nutrient solution, T8) nutrient solution + O₂

อย่างไรก็ตาม การเจริญเติบโตทางลำต้นไม่ได้ให้ผลไปในทิศทางเดียวกับการเจริญของรากเพราะข้าวแต่ละพันธุ์มีลักษณะการปรับตัวที่หลากหลายแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ซึ่งต่างจากคำกล่าวของ Kato *et al.* (2008) ที่บอกว่ารากข้าวที่มีน้ำหนักและความยาวของรากสูงกว่าจะดูดสารอาหารได้มากกว่าทำให้น้ำหนักแห้งของส่วนอื่นสูงขึ้น แต่ในการทดลองนี้พบว่าความสามารถในการสะสมอาหารของรากข้าวยังมีความแปรปรวนไปตามสายพันธุ์ด้วย โดยพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะมีน้ำหนักแห้งต้นสูงกว่าพันธุ์ป๊อบบ้างเมื่อปลูกทดสอบในดิน (T1 และ T2) และสารละลายธาตุอาหาร (T7 และ T8) และพบว่าการปลูกในดินผสมทรายไม่มีความแตกต่างกันของทั้งสองพันธุ์ ส่งผลให้ค่า root/shoot ratio ของข้าวพันธุ์ป๊อบบ้างสูงกว่าขาวดอกมะลิ 105 (ตารางที่ 1.2) เนื่องมาจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีการสร้างหน่อที่มากกว่าป๊อบบ้างแม้ว่าความสูงของทั้งสองพันธุ์จะไม่ต่างกัน (ตารางที่ 1.3) ดังนั้นวัสดุที่ดีที่สุดที่ควรนำมาศึกษาคือ T1-ดินชุด

สันทรายและT2-ดินดำแม่หยวกเพราะเป็นวัสดุที่สามารถเปรียบเทียบการกระจายตัวและการสร้างน้ำหนักแห้งรากได้ชัดเจนกว่าวัสดุอื่น และพบว่าการกระจายตัวของรากไม่มีความสัมพันธ์กับการเจริญทางลำต้น

การทดลองที่ 2 ศึกษาการกระจายตัวของราก การเจริญและการใช้ธาตุอาหารของข้าว 6 พันธุ์ ในสภาพแอโรบิก

พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างสภาพปลูก และพันธุ์ข้าวในการสะสมน้ำหนักแห้งรากรวมและในการกระจายตัวทุกระดับชั้นดินที่ศึกษา (ตารางที่ 2.1) โดยภาพรวมสามารถเห็นได้ว่าการสร้างน้ำหนักกรากรวมของข้าวแต่ละพันธุ์ มีการปรับตัวต่อสภาพแอโรบิกที่ต่างกันโดยข้าวนาสวนมีแนวโน้มลดลงยกเว้นพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ไม่แตกต่างกับการปลูกแบบน้ำขังแม้ว่าการสะสมน้ำหนักแห้งจะลดลงร้อยละ 67.9 (สุวรรณี และคณะ, 2550) แต่ในทางกลับกันข้าวไร่กลับเพิ่มขึ้นยกเว้นพันธุ์ชัยนาท 1

Table 1.3 Plant height (cm) and number of tiller (tillers/plant) of two rice varieties (BB and KDML 105) in 8 treatments at 45 days after germination

Treatment	Height (cm)			No. tillers/plant		
	BB	KDML 105	Mean	BB	KDML 105	
T1	56.88	63.25	60.06 D	4.3 CD _b	6.1 Ba	
T2	70.38	66.50	68.44 C	5.3 C _b	7.8 Ba	
T3	55.25	59.13	57.19 D	3.4 Da	3.8 Ca	
T4	67.13	71.63	69.38 C	4.5 CD _a	4.4 BC _a	
T5	53.25	62.88	58.06 D	3.3 Da	3.0 Ca	
T6	62.88	68.38	65.63 CD	3.5 Da	3.5 Ca	
T7	92.13	87.75	89.94 A	13.5 Ab	15.5A _a	
T8	84.25	84.13	84.19 B	9.0 B _b	15.5A _a	
F-test	V ^{ns}	T ^{**}	T*V ^{ns}	V ^{**}	T ^{**}	V*T ^{**}
LSD _{0.05}	-	5.73	-	0.6	1.2	1.7
CV (%)	13.38			18.20		

ns, * and **. non significant, significant at $P<0.05$ and significant at $P<0.01$. V,T and VxT indicated F- test for variety, growth condition and variety and growth condition interaction effects, respectively. The differences between varieties in the same column indicated by lower case letters. The differences between growth conditions in the same row indicated by upper case letters.

T1) Sansai soil, T2) black loam soil, T3) black loam soil: silk (1:1), T4) black loam soil: sand (2:1), T5) black loam soil: sand (1:1), T6) black loam soil: sand (2:1), T7) nutrient solution, T8) nutrient solution + O₂

(ภาพที่ 1a) เมื่อแยกประเมินการสะสมน้ำหนักรากในแต่ละชั้นดินพบว่า ที่ความลึกจากผิวดิน 0-15 เซนติเมตร พบเพียงพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และข้าวแม่จันที่มีการปรับตัวลดลงในสภาพแอโรบิก (ภาพที่ 1b) ที่ความลึก 15-30 เซนติเมตร พบว่า พันธุ์ข้าวไร่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในสภาพแอโรบิกแต่ในข้าวนาสวนกลับลดลงยกเว้นพันธุ์ชัยนาท 1 (ภาพที่ 1c) และที่ความลึกมากกว่า 30 เซนติเมตร พบว่า

ข้าวทุกพันธุ์มีการปรับตัวเพิ่มน้ำหนักแห้งรากขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพแอโรบิกสอดคล้องกับรายงานของ Insalud *et al.* (2006) ที่พบว่าในสภาพแอโรบิกรากข้าวมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างให้สามารถหาน้ำและธาตุอาหารได้มากขึ้น โดยมีการลดจำนวนรากให้น้อยลง แต่มีความยาวรากเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับรากข้าวที่อยู่ในสภาพน้ำขัง เว้นแต่พันธุ์สุพรรณบุรี 1 ที่ไม่มีการปรับตัว (ภาพที่ 1d)

Table 2.1 Analysis of variance results for root dry weight at 0-15 cm, 15-30 cm, >30 cm and total root dry weight of water condition (W), variety (V) and W x G interaction effects

Source	Root dry weight (g/pot) at			
	0-15	15-30	>30	Total
Watercondition (W)	**	**	ns	**
Variety(V)	**	**	**	**
Wx V	**	**	**	**
CV (%)	15.88	17.58	13.68	11.85

** F test significant difference at $P < 0.01$, ns not significant

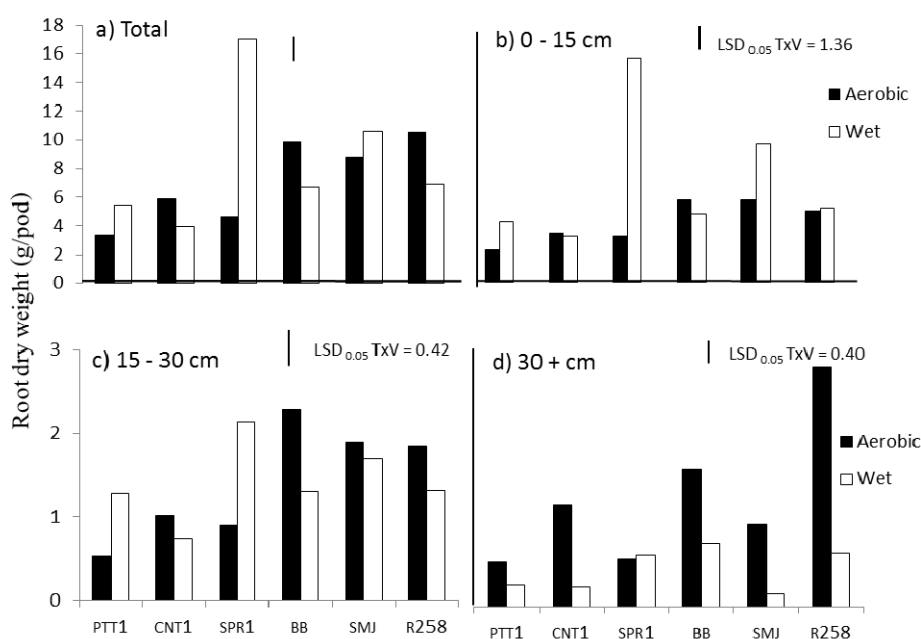


Figure 1 Total root dry weight of wetland (PTT 1, CNT 1 and SPR 1) and upland rice varieties (BB, SMJ and R 258), (a); root dry weight at depth 0-15 cm (b); 15-30 cm (c); and 30+ cm (d); in aerobic and flooded condition at 60 days after germination.

Table 2.2 Analysis of variance results for shoot dry weight, tillering, plant height and total root/shoot ratio of water condition (W), variety (V) and W x G interaction effects

Source	shoot dry weight (g/plant)	Tillering (tillers/plant)	Plant height (cm.)	Root/ shoot ratio
Water condition (W)	**	**	**	**
Variety (V)	**	**	**	**
W x V	**	ns	ns	**
CV (%)	18.86	20.58	10.20	12.01

** F test significant difference at $P < 0.01$, ns not significant

ในส่วนเหนือดิน พบอิทธิพลร่วมระหว่างสภาพปลูกกับพันธุ์ในลักษณะน้ำหนักแห้งต้น และ root/shoot ratio (ตารางที่ 2.2) โดยการเจริญเติบโตทางลำต้นไม่ได้ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับการเจริญของรากทั้งหมด แม้ว่าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และ ป๊อบังจะมีการสะสมน้ำหนักแห้งต้นสูงตามน้ำหนักราก แต่ในพันธุ์อื่นกลับพบว่าให้ผลในทางตรงกันข้ามกัน โดยพันธุ์ข้าวนาสวนมีการปรับตัวเพิ่มน้ำหนักแห้งต้นมากขึ้นในสภาพแอโรบิก ยกเว้นข้าวสุพรรณบุรี 1 และข้าวไร่ทุกพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันในส่วนของการน้ำหนักแห้งต้น ดังนั้นน้ำหนักแห้งรากรวมที่สูงกว่าไม่ได้ทำให้น้ำหนักแห้งต้นสูงตามไปด้วย เนื่องจากประสิทธิภาพการดูดใช้น้ำและธาตุอาหารขึ้นอยู่กับความสามารถของพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันด้วย (Kato *et al.*, 2000) (ภาพที่ 2a) ส่งผลให้ค่า root/shoot ratio มีความแปรปรวนไปตามพันธุ์ โดยพบว่าในข้าวนาสวนที่ปลูกแบบแอโรบิก จะมีค่า root/shoot ratio ลดลงยกเว้นพันธุ์ชัยนาท 1 แต่ข้าวไร่กลับพบว่าค่า root/shoot ratio สูงกว่าเมื่อปลูกในสภาพแอโรบิกยกเว้นพันธุ์ชีวมังจัน (ภาพที่ 2d) และพบว่าจำนวนหน่อของทั้งข้าวนาสวนและข้าวไร่ มีแนวโน้มสูงขึ้นในสภาพแอโรบิกยกเว้นในข้าวสุพรรณบุรี 1 (ภาพที่ 2b) ส่วนลักษณะความสูงพบว่าพันธุ์ข้าวไร่ไม่มีการปรับตัวเนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกให้ปลูกในสภาพน้ำไม่ขังหรือสภาพไร่อยู่แล้วจึงสามารถปรับตัวอยู่รอดในสภาพแอโรบิกได้ดี แต่ในข้าวนาสวนลดลงเมื่อปลูกในสภาพแอโรบิกเนื่องจากต้องมีการปรับตัวในสภาพที่แตกต่างไป (ภาพที่ 2c)

การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช

พบอิทธิพลร่วมระหว่างสภาพปลูก และพันธุ์ข้าวในการสะสมธาตุอาหารในต้นข้าวที่วัด โดยการสะสมไนโตรเจนพบว่าในพันธุ์ข้าวไร่ เมื่อปลูกในสภาพแอโรบิก จะทำให้การสะสมไนโตรเจนรวมในต้นพืชลดลงซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Kundu and Ladha (1997) ที่ให้เหตุผลว่าในสภาพน้ำขังมีแบคทีเรียที่สามารถช่วยตรึงไนโตรเจนได้จึงสูงกว่าในสภาพแอโรบิกยกเว้นพันธุ์ชีวมังจันที่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการปลูกในสภาพแอโรบิกและสภาพน้ำขัง ส่วนในพันธุ์ข้าวนาสวนพบว่าข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 มีการปรับตัวเพิ่มการสะสมไนโตรเจนสูงขึ้นในสภาพแอโรบิกไม่พบความแตกต่างในพันธุ์ชัยนาท 1 และพันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีการปรับตัวลดลงในสภาพแอโรบิก (ตารางที่ 2.3)

การสะสมฟอสฟอรัสในพันธุ์ข้าวไร่ที่ปลูกในสภาพแอโรบิกลดลงเมื่อเทียบกับการปลูกในสภาพน้ำขัง โดยให้ผลคล้ายกับการทดลองของ สุวรรณี และคณะ (2550) ที่รายงานว่า การสะสมฟอสฟอรัสในสภาพน้ำขังสูงกว่าในสภาพไม่ขังน้ำ และมีประสิทธิภาพการดูดฟอสฟอรัสในสภาพไร่ออกซิเจนก็สูงกว่าในสภาพที่มีออกซิเจนด้วย (เจนจิรา, 2551) ยกเว้นพันธุ์ R 258 ส่วนพันธุ์ข้าวนาสวนไม่พบความแตกต่างระหว่างสภาพปลูก ยกเว้นพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ที่ลดการสะสมฟอสฟอรัสลงในสภาพแอโรบิก (ตารางที่ 2.3) และการวิเคราะห์โพแทสเซียมพบว่า พันธุ์ปทุมธานี 1 มีการปรับตัวเพิ่มการสะสมโพแทสเซียมเมื่อปลูกในสภาพแอโรบิก เนื่องมาจากโพแทสเซียมมีหน้าที่ในการควบคุมประจุในเซลล์พืชที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ (Marschner, 1989) เมื่อข้าว

อยู่ในสภาพที่แอโรบิก (ไม่มีน้ำขัง) ที่บางครั้งอาจขาดน้ำ ทำให้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมสูงขึ้นและส่งผลให้เกิดการสะสมมากขึ้น โดยอาจเนื่องมาจากข้าวปทุมธานี 1 มีความสามารถทนกรดได้สูงจึงสามารถสะสมโพแทสเซียมได้สูงแต่ในพันธุ์สุพรรณบุรี 1 การปลูกในสภาพแอโรบิกมีการปรับตัวลดการสะสมโพแทสเซียมลง และพันธุ์ชัยนาท 1 ไม่มีการปรับตัวคล้ายกับข้าวไร่ทั้ง 3 พันธุ์ (ตารางที่ 2.3)

ในข้าวไร่ การสะสมแคลเซียมไม่มีความแตกต่างกันในสองสภาพปลูกยกเว้นพันธุ์ป้อบ้างที่มีการปรับตัวสูงขึ้นเช่นเดียวกับข้าวนาสวนอย่างพันธุ์ชัยนาท 1 โดยอาจเกิดจากความสามารถในการดูดใช้แคลเซียมที่สูงจน

ทำให้สมดุลธาตุอาหารในดินเปลี่ยนไป ส่งผลให้ข้าวที่ปลูกในสภาพไม่ขังน้ำมีสภาพเป็นกรดจนสมดุลธาตุอาหารเปลี่ยนไป (Phattarakul, 2008) แต่ในข้าวปทุมธานี 1 ไม่มีการปรับตัวและข้าวสุพรรณบุรี 1 มีการปรับตัวลดลงในสภาพแอโรบิก (ตารางที่ 2.3) ส่วนการวิเคราะห์แมกนีเซียมพบว่า ข้าวทุกพันธุ์มีการปรับตัวเพิ่มการสะสมแมกนีเซียมมากขึ้นเมื่อปลูกในสภาพแอโรบิกเพราะในสภาพที่ดินเป็นกรดทำให้การดูดใช้แมกนีเซียมเพิ่มขึ้น (สำนักงานวิจัยและพัฒนาข้าว, 2556) ยกเว้นพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ที่มีการปรับตัวลดลงเพียงพันธุ์เดียว (ตารางที่ 2.3)

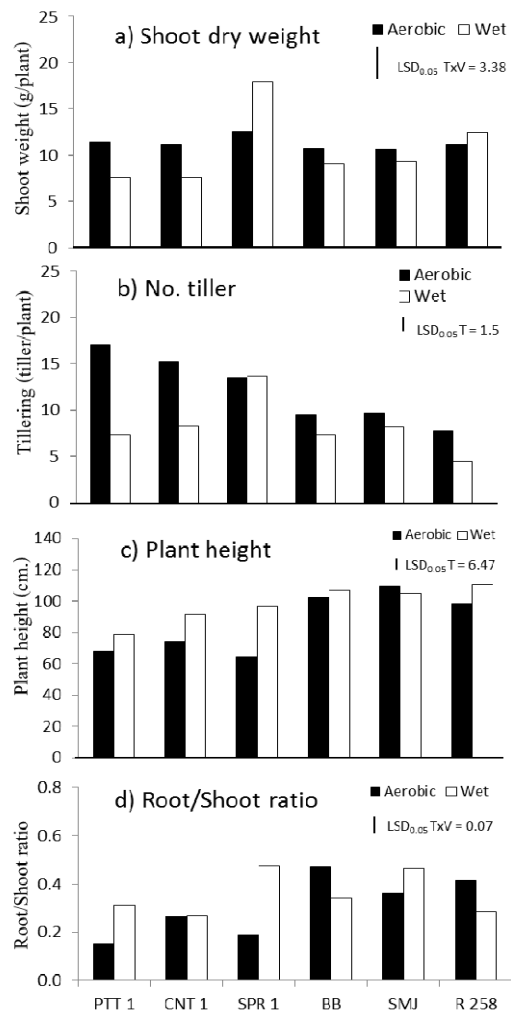


Figure 2 Shoot dry weight of wetland (PTT 1, CNT 1 and SPR 1) and upland rice varieties (BB, SMJ and R 258), (A); Tilling (B); Plant height (C); and root/Shoot ratio (D) in aerobic and flooded condition at 60 days after germination

Table 2.3 Nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium contents (mg/plant) in wetland (PTT 1, CNT 1 and SPR 1) and upland (BB, SMJ and R 258) rice varieties grown in aerobic and flooded conditions at 60 days after germination

Varieties	N (mg./plant)		P (mg./plant)		K (mg./plant)		Ca (mg./plant)		Mg (mg./plant)	
	Wet	Aerobic	Wet	Aerobic	Wet	Aerobic	Wet	Aerobic	Wet	Aerobic
PTT 1	234 Bc	585 Aa	82.9 Ad	86.7 Ac	427 Bc	704 Aab	101 Ac	102 Ab	34.6 Bbc	54.0 Ab
CNT 1	315 Ac	347 Ab	107 Ac	92.2 Bc	495 Abc	626 Ab	72.7 Bc	112 Ab	29.6 Bc	54.5 Ab
SPR 1	513 Aa	334 Bb	178 Aa	90.9 Bc	879 Aa	655 Bab	265 Aa	120 Bb	75.4 Aa	62.4 Bab
BB	422 Ab	309 Bb	167 Aa	143 Bab	603 Bb	779 Aa	134 Bb	170 Aa	36.7 Bbc	65.2 Aab
SMJ	362Abc	331 Ab	171 Aa	148 Ba	518 Bbc	713 Aab	164 Ab	147 Aa	43.3 Bb	72.8 Aa
R258	443 Ab	366 Bb	149 Ab	133 Bb	485 Bbc	720 Aba	134 Ab	152 Aab	32.1 Bbc	64.9 Aab
F- test	V ^{''}	T ^{ns}	V ^{''}	V ^{''}	T ^{''}	V ^{''}	T ^{''}	V ^{''}	T ^{ns}	V ^{''}
LSD _{0.05}	48.1	-	48.1	13	7.6	18.5	95.7	55.2	135	23.2
CV (%)	10.61		11.6		12.7		13.9		13.6	

ns, * and **. non significant, significant at $P<0.05$ and significant at $P<0.01$. V,T and VxT indicated F-test for variety, growth condition and variety and growth condition interaction effects, respectively. The deference between varieties in the same column in indicated by lower case letters. The deference between growth conditions in the same row in indicated by upper case letters.

สรุป

การทดลองที่ 1 ประเมินวัสดุปลูกเพื่อศึกษาการกระจายตัวของรากข้าวและความสัมพันธ์ของรากกับการเจริญทางลำต้น

ดินชุดสันทราย (T1) (มีค่า pH 5.0-7.0 มีอินทรีย์วัตถุต่ำ ความอุดมสมบูรณ์และธาตุอาหารฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมค่อนข้างต่ำ เหมาะกับการปลูกพืชไร่) และดินดำแม่หยวก (T2) (มีค่า pH 6.0-7.0 มีอินทรีย์วัตถุสูง ความอุดมสมบูรณ์และธาตุอาหารฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมค่อนข้างสูง) (ดิน..ของประเทศไทย, 2556) เป็นวัสดุปลูกที่ใช้ในการศึกษาระบบรากข้าวในสภาพดินไม่ขังน้ำได้ดี เพราะสามารถเปรียบเทียบความแตกต่างของรากข้าวทั้งสองพันธุ์ได้อย่างชัดเจนในทุกระดับความลึกทั้งที่ความลึก 0-15, 15-30 และ 30-45 เซนติเมตร แต่อย่างไรก็ตามความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวในการสร้างรากในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ได้รับออกซิเจน น่าจะได้รับการศึกษาต่อไปเพราะเป็นระบบสำหรับศึกษาระบบรากข้าวได้ง่ายและสะดวก เหมาะสำหรับการคัดกรองสายพันธุ์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์

การทดลองที่ 2 ศึกษาการกระจายตัวของราก การเจริญและการใช้ธาตุอาหารของข้าว 6 พันธุ์ ในสภาพแอโรบิก

การทดลองนี้พบว่าในสภาพแอโรบิกรากข้าวทุกพันธุ์สามารถสร้างรากได้ยาวกว่าในสภาพน้ำขังเมื่อดูจากการสะสมน้ำหนักแห้งรากในชั้นที่ลึกที่สุดแต่สำหรับการสะสมน้ำหนักแห้งของรากทั้งหมดในงานทดลองนี้พบว่ามี ความแปรปรวนระหว่างพันธุ์ โดยข้าวไรมีแนวโน้มการสร้างน้ำหนักแห้งรากได้สูงกว่าข้าวนาสวนทั้งในสองสภาพ แต่การสร้างส่วนลำต้น การสร้างหน่อ และความสูงของข้าวกลับไม่ได้สูงตามน้ำหนักรากที่มากขึ้น ส่วนของการสะสมธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมมีความแปรปรวนไปตามสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (สกอ.) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

- เจนจิรา หม่องอ้น. 2551. การปรับตัวของพันธุ์ข้าวไทยต่อสภาพดินน้ำขัง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 138 หน้า.
- ดิน..ของประเทศไทย (ออนไลน์). 2556. สืบค้นจาก: http://www.1dd.go.th/thaisoils_museum/IND-EX.HTM (2 มกราคม 2557).
- เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม. 2552. การปลูกข้าวประหยัดน้ำด้วยวิธีปลูกแบบแอโรบิก. นิตยสารเทคโนโลยีชาวบ้าน 20(423): 63-64.
- สุวรรณี แล่น้อย คັນสนีย์ จำจด และ เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม. 2550. ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวไทยในการปรับตัวต่อสภาพดินไม่ขังน้ำ. วารสารเกษตร 23(ฉบับพิเศษ): 19-24.
- สำนักงานวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2556. องค์ความรู้เรื่องข้าว (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา <http://www.ricethailand.co.th> (24 เมษายน 2556).
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. ผลพยากรณ์เนื้อที่เพาะปลูกและผลผลิตข้าวไทย (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา: <http://www.thaiceeexporters.or.th/production.htm> (25 เมษายน 2555).
- Girdthai, T., S. Jogloy, T. Kesmala, N. Vorasoot, C. Akkasaeng, S. Wongkaew, C. C. Holbrook, and A. Patanothai. 2010. Relationship between root characteristic of peanut in hydroponic and pot. Crop Science 50: 159-167.
- George, T., R. Magbanua, P. G. Dennis, S. Brenda, A. Tuban, and J. Quiton. 2002. Rice rapid yield loss of rice cropped successively in aerobic soil. Agronomy Journal 94: 981-989.
- Insalud, N., R. W. Bell, T. D. Calmer and B. Rerkasem. 2006. Morphological and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) to limited phosphorus supply in aerated and stagnant solution culture. Annals of Botany 98: 995-1004.
- International Rice Research Institute (IRRI). 2005. Ann. Report. Los Banos, Philippines.
- Kamoshita, A. R., N. Chandra Babub, B. Manikanda Boopathi and C. Shu Fukai. 2008. Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. Field Crops Research 109: 1-23.
- Kato, Y., A. Kamoshita and J. Yamagishi. 2008. Pre-flowering abortion reduces spikelet number in upland rice (*Oryza sativa* L.) under water stress. Crop Science 48: 2389-2395.
- Kundu, D. K. and J. K. Ladha. 1997. Effect of growing rice on nitrogen mineralization in flooded soil. Soil Science Society of America Journal 61: 839-845.
- Lay Heng, S. 2010. Drought tolerance and nutrient uptake efficiency in maize. M. S. Thesis, Graduate School, Chiang Mai University, Thailand
- Marschner, H., M. Treeby and V. Römheld. 1989. Mobilization of iron and other micronutrient ations from a calcareous soil by plant-borne, microbial, and synthetic metal chelators. Plant and soil 114: 217-226.
- McDonald, A. E., B. R. Grant and W. C. Plaxton. 2001. Phosphite (phosphorous acid): Its relevance in the environment and agriculture, and influence on the plant phosphate starvation response. Journal of Plant Nutrition 24: 1505-1519.
- Phattarakul, N. 2008. Genotypic variation in tolerance to soil in local upland rice

- varieties. Ph.D. Thesis, Graduate School, Chiang Mai University, Thailand.
- Wang, H., B. A. M. Bouman, D. Zhao, C. Wang and P. F. Moya. 2004. Aerobic rice in northern China. pp. 143-154. in Water-wise rice production, International Rice Research Institute, Los Banos, The Philippines.
- Zhang, H., Y. Xue, Z. Wang, J. Yang and J. Zhang. 2009. An alternate wetting and Moderate soil drying regime improves root and shoot growth in rice. Crop Science 49: 2246-2260.
-

การจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของข้าว ที่ปลูกในชุดดินสรพยา

Site-specific Fertilizer Management on Growth, Yield, and Agronomic Nitrogen Use Efficiency of Rice Grown in Sapphaya Soil Series

อุไรวรรณ ไอยสุวรรณ^{1/}
Auraiwan Isuwan^{1/}

Abstract: A field experiment was conducted in the farmer field on Sappaya Soil Series with the aim to determine growth characteristics, grain yields and agronomic fertilizer use efficiency of Pathum Thani rice variety. The experimental design was a randomized complete block design with six replications. Treatments were five fertilizer management practices: (1) no fertilization (control), (2) farmer practice's fertilization (F), (3) site-specific fertilization (SSF), (4) fertilization at two folds of SSF (2SSF) and (5) fertilization at three folds of SSF (3SSF). The results showed that the numbers of tillers per plant at 30 days after transplanting and the heights of plants at 50 days after transplanting of the F treatment were significantly highest ($P<0.05$). The numbers of tillers per plant of the 3SSF treatment at 50 days after transplanting was numerically greatest (14.25 tillers per plant) but did not significantly differ ($P>0.05$) from the F treatment (14.04 tillers per plant). However, both were significantly greater ($P<0.05$) than the others. Grains per spike (99.38 grains) and grain yields (1,195.25 kg/rai) of the rice were significantly highest ($P<0.05$) in the F treatment. However, with regards to agronomic nitrogen use efficiency and economic returns, the SSF treatment significantly outweighed ($P<0.05$) the other treatments. In conclusion, soils must be evaluated chemically before growing Pathum Thani rice on Sappaya Soil Series and with the SSF fertilizer practice, the rice can provide increased grain yields and subsequently economic returns.

Keywords: Rice, Sappaya Soil Series, site-specific fertilizer management

^{1/} คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี 76120

^{1/} Faculty of Animal Science and Agricultural Technology, Silpakorn University, Petchaburi Campus, Cha-Am, Petchaburi, Thailand 76120

บทคัดย่อ: ดำเนินการทดลองที่มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินต่อการเจริญเติบโต การให้ผลผลิต และประสิทธิภาพการผลิตข้าวพันธุ์ปทุมธานี วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (randomized complete block designs, RCBD) มี 6 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ไม่มีการใส่ปุ๋ยเคมี (control) กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยตามวิธีการของเกษตรกร (farmer, F) กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยเคมีที่สอดคล้องกับการจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (site-specific fertilizer management, SSF) และ กรรมวิธีที่ 4 และ 5 การใส่ปุ๋ยเคมีเป็น 2 และ 3 เท่าของค่าการใช้ปุ๋ยเฉพาะพื้นที่ (2SSF และ 3SSF ตามลำดับ) ผลการทดลอง พบว่า จำนวนต้นตอกที่อายุ 30 วันและความสูงที่อายุ 50 วัน ของข้าวที่ได้รับปุ๋ยตามวิธีของเกษตรกรให้ค่าเฉลี่ยสูงสุด ($P < 0.05$) สำหรับที่อายุ 50 วัน ต้นข้าวในกรรมวิธี 3SSF มีค่าเฉลี่ยจำนวนต้นตอกสูงที่สุดเป็น 14.25 ต้นตอกอกล ไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) กับกรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยตามวิธีของเกษตรกรซึ่งมีค่าเป็น 14.03 ต้นตอกอกล แต่ทั้งสองกรรมวิธีให้ค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยอัตรา SSF และ 2SSF ส่วนจำนวนเมล็ดต่อรวง และผลผลิตข้าว กรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยอัตรา F ให้ค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเป็น 99.38 เมล็ดต่อรวง และ 1,195.25 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม SSF, 2SSF และ 3SSF การใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา SSF ให้ค่าประสิทธิภาพการผลิตข้าว และรายได้หลังหักค่าปุ๋ยสูงที่สุด ดังนั้น ในการปลูกข้าวปทุมธานีในชุดดินสรรพยาควรมีการตรวจวิเคราะห์ดินและใส่ปุ๋ยในอัตราตามค่าวิเคราะห์ดินซึ่งจะทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: ข้าว ชุดดินสรรพยา การจัดการธาตุปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน

คำนำ

ปุ๋ยเคมีเป็นปัจจัยการผลิตพืชที่มีความสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต ในแต่ละปีมีการใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิตพืชเป็นปริมาณมากและเนื่องจากปุ๋ยเคมีที่มีราคาแพงจึงมีผลทำให้การผลิตพืชมีต้นทุนสูงขึ้น การใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมีประสิทธิภาพโดยพิจารณาจากปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยและปรับปริมาณการใช้ให้เหมาะสมกับความต้องการธาตุอาหารของพืชและสอดคล้องกับค่าการวิเคราะห์ดินเป็นหลักสำคัญในการผลิตพืช ดินในแต่ละพื้นที่หรือแต่ละชุดดินมีสมบัติทางเคมีและกายภาพ ตลอดจนความอุดมสมบูรณ์แตกต่างกัน นอกจากนี้ การใช้ประโยชน์และการเขตกรรมที่แตกต่างกันก็ส่งผลให้ดินแต่ละชุดดินหรือแม้แต่ชุดดินเดียวกันมีความอุดมสมบูรณ์แตกต่างกันได้เช่นกัน ดังนั้น การวิเคราะห์ดินก่อนการปลูกพืชจะช่วยให้สามารถประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินได้ และช่วยให้สามารถกำหนดการจัดการดินและจัดการปุ๋ยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

องค์ความรู้และเทคโนโลยีที่สามารถช่วยเสริมสร้างขีดความสามารถของเกษตรกร ทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนกระบวนทัศน์และยกระดับความรู้พื้นฐาน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยและการจัดการดินที่สามารถนำไปใช้ปฏิบัติได้จริงเป็นรากฐานสำคัญยิ่งในการพัฒนาการผลิตข้าวของไทยให้มีความยั่งยืน เทคโนโลยีการจัดการธาตุอาหารเฉพาะพื้นที่ (ปุ๋ยสั่งตัด) หรือการจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในข้าวช่วยให้การใช้ปุ๋ยเคมีมีประสิทธิภาพมากขึ้นและสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ ไพลิน และคณะ (2550) รายงานว่า การจัดการธาตุอาหารเฉพาะพื้นที่มีผลตอบแทนคุ้มค่ากว่าการจัดการปุ๋ยตามกรรมวิธีของเกษตรกร นอกจากนี้ นันทนา และคณะ (2553) พบว่า กรรมวิธีการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมการข้าวให้ผลผลิตข้าวพันธุ์ กข 31 รายได้ของผลผลิตและรายได้สุทธิสูงกว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราอื่น ๆ ดังนั้น การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้เทคโนโลยีการจัดการธาตุอาหารเฉพาะพื้นที่ ในชุดดินที่สำคัญในจังหวัดเพชรบุรี ที่มีผลต่อการให้ผลผลิต ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากปุ๋ย และลักษณะทางเศรษฐศาสตร์ที่สำคัญ

อุปกรณ์และวิธีการ

สถานที่ทดลอง และลักษณะดิน

ดำเนินการทดลองในพื้นที่ปลูกข้าวของเกษตรกรตำบลไร่มะขาม อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี ซึ่งเป็นชุดดินสรวยา (Fine-Loamy, mixed, active, nonacid, isohyperthermic aquic ustifluvents) จัดว่าเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2548) และจากการตรวจประเมินคุณภาพของดินก่อนการทดลองโดยใช้ชุดตรวจสอบดินอย่างง่าย (test kit) ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พบว่า ดินมีไนโตรเจน (N) ต่ำ มีฟอสฟอรัส (P) ปานกลาง มีโพแทสเซียม (K) สูง และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เป็นกรดอ่อน มีค่าเท่ากับ 6.5

แผนการทดลองและกรรมวิธีในการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (randomized complete block designs, RCBD) มี 6 ซ้ำ และ 5 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ไม่มีการใส่ปุ๋ยเคมี (control) กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยตามวิธีปฏิบัติของเกษตรกร (farmer, F) อัตรา 31-9-4 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยเคมีที่สอดคล้องกับการจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (site-specific fertilizer management, SSF) อัตรา 5-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยเคมีเป็น 2 เท่าของการจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (2SSF) อัตรา 10-6-6 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยเคมีเป็น 3 เท่าของการจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน (3SSF) อัตรา 15-9-9 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ซึ่งการใส่ปุ๋ยเคมีตามการจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินนั้นทำได้โดยเติมส่วนที่ขาดให้สอดคล้องกับความต้องการธาตุอาหารของต้นข้าวโดยใช้โปรแกรม SimRice (http://oss101.1dd.go.th/web_soil_clinic/care/care2-3-fert.htm)

การปลูกและการดูแลข้าว

การทดลองนี้ใช้พื้นที่แปลงนาชุดดินสรวยาของเกษตรกร ทำการไถ และทำแปลงย่อยขนาด 5 × 4 เมตร ทำคันดินรอบแปลงเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของปุ๋ย

ระหว่างแปลงย่อย ใช้ข้าวพันธุ์ปทุมธานี ปลูกโดยการย้ายกล้าที่มีอายุได้ 20 วัน ปลูกช่วงเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2555 ปักดำกละละ 3 ต้น แต่ละกอห่างกัน 20 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีที่วางไว้โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ใส่เมื่อข้าวอายุ 30 วัน โดยกรรมวิธี F ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ กรรมวิธี SSF, 2SSF และ 3SSF ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 21, 42 และ 63 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ครั้งที่ 2 ใส่ระยะข้าวแตกกอ หรือต้นข้าวอายุประมาณ 50 วัน โดยกรรมวิธี F ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนกรรมวิธี SSF, 2SSF และ 3SSF ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 4, 8 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

การวัดผลผลิต การเก็บตัวอย่าง และการวิเคราะห์ทางเคมี

สุ่มเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลอง จากนั้นวิเคราะห์ดินก่อนปลูกโดยใช้ชุดตรวจสอบดินอย่างง่าย คำนวณการใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำการจัดการปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยใช้โปรแกรม SimRice วัดความสูง และจำนวนต้นต่อกอของข้าว เมื่อข้าวอายุ 30 และ 50 วัน จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวที่อายุ 120 วัน ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร ศึกษาองค์ประกอบของผลผลิตข้าว ได้แก่ จำนวนเมล็ดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดดี 100 เมล็ด ร้อยละของเมล็ดลีบ และน้ำหนักผลผลิต

การคำนวณและวิเคราะห์ทางสถิติ

1. คำนวณผลผลิตข้าวที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์
2. คำนวณประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนตามวิธีที่แนะนำโดย Ladha *et al.* (2005) ได้แก่

ประสิทธิภาพการผลิตพืช (ธาตุไนโตรเจน) (agronomic nitrogen use efficiency, ANUE) = $(Y_T - Y_0)/F_N$

โดยที่ Y_T หมายถึง ปริมาณผลผลิตเมล็ดข้าว (กิโลกรัมต่อไร่) หรือไนโตรเจนจากผลผลิตเมล็ดข้าว (กิโลกรัมต่อไร่) จากกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนระดับต่าง ๆ

Y_0 หมายถึง ปริมาณผลผลิตเมล็ดข้าว (กิโลกรัมต่อไร่) หรือไนโตรเจนจากผลผลิตเมล็ดข้าว (กิโลกรัมต่อไร่) จากกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน

F_N หมายถึง อัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (กิโลกรัมต่อไร่)

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

ผลและวิจารณ์

1. ความสูงและจำนวนต้นตอของข้าว

การใส่ปุ๋ยอัตราต่างกันในการปลูกข้าวในดินชุดสรวยา ซึ่งมีปริมาณไนโตรเจนในระดับต่ำ ฟอสฟอรัสปานกลาง และโพแทสเซียมสูง มีผลต่อการแตกกอและความสูงของข้าวพันธุ์ปทุมธานีอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1) การใส่ปุ๋ยตามอัตราของเกษตรกร (31-9-4 กิโลกรัม $N-P_2O_5-K_2O$ ต่อไร่) ทำให้ข้าวมีการแตกกอที่ระยะ 30 วัน และมีความสูงที่ระยะ 50 วัน สูงที่สุด ($P<0.05$) แม้ว่าที่ระยะ 30 วัน ข้าวที่ได้รับปุ๋ยอัตรา 3SSF มีการแตกกอน้อย

กว่าอัตราของเกษตรกร ($P<0.05$) แต่เมื่ออายุข้าว 50 วัน กลับทำให้ข้าวแตกกอมากที่สุดและไม่แตกต่างจากอัตราของเกษตรกร อย่างไรก็ตาม ในแง่ของผลต่อความสูงอัตรา 3SSF ก็ไม่แตกต่างจากอัตรา SSF และ 2SSF ยกเว้นความสูงที่ระยะ 50 วัน ซึ่งอัตรา 3SSF ให้ผลดีกว่า สำหรับการใส่ปุ๋ยอัตรา SSF มีผลส่งเสริมการแตกกออย่างมีนัยสำคัญเฉพาะระยะ 50 วันหลังจากการปักดำเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่ปุ๋ย เนื่องจากดินที่ใช้ทดลองเป็นดินที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ มีฟอสฟอรัสปานกลาง และมีโพแทสเซียมสูง ดังนั้น ไนโตรเจนจึงน่าจะเป็นธาตุอาหารที่จำกัดการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของข้าวที่ปลูกในการทดลองมากกว่าฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เพราะไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อการสร้างใบ ส่งเสริมการแตกกอ เพิ่มความสูง และการเจริญเติบโตของข้าว (สถาบันวิจัยข้าว, 2545) นอกจากนี้การทดลองนี้พบว่า การใส่ปุ๋ยที่มีอัตราไนโตรเจน และฟอสฟอรัสสูง เช่นอัตราของเกษตรกร และอัตรา 3SSF มีผลดีต่อการแตกกอมากกว่าการใส่ปุ๋ยอัตรา SSF และ 2SSF ซึ่งมีอัตราการใช้ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำกว่า สอดคล้องกับการรายงานของ นันทนา และคณะ (2553) ที่พบว่า การเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมีผลทำให้ข้าวมีจำนวนหน่อตอกอเพิ่มขึ้น

Table 1 Effects of fertilization regimes on height and tiller numbers of rice plant at 30 days and 50 days after transplanting

treatment	At 30 days after transplanting		At 50 days after transplanting	
	Plant height (cm)	Tiller number (tillers per plant)	Plant height (cm)	Tiller number (tillers per plant)
control	57.82	11.58 ^c	71.63 ^c	12.95 ^c
F	57.82	13.83 ^a	81.66 ^a	14.03 ^a
SSF	58.36	12.18 ^c	74.31 ^{bc}	13.23 ^b
2SSF	56.63	11.60 ^c	76.07 ^b	13.13 ^b
3SSF	57.75	12.60 ^b	74.79 ^b	14.25 ^a
%CV	8.33	25.79	8.12	13.15

Values followed by the same letter in the same column did not significantly differ between the treatments at the 5% significant level

2. องค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตของข้าว

องค์ประกอบและผลผลิตของข้าวแสดงในตารางที่ 2 ข้าวในกรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยตามกรรมวิธีต่าง ๆ ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดดี 100 เมล็ด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ นิตยา (2550) ซึ่งพบว่าการใส่ปุ๋ยอัตราต่าง ๆ ไม่มีผลต่อน้ำหนักเมล็ดดี สำหรับจำนวนเมล็ดต่อรวง และผลผลิตข้าว พบว่า ข้าวในกรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยตามวิธีของเกษตรกรให้ค่าเฉลี่ยสูงสุดคือ 99.38 เมล็ดต่อรวง และ 1,195.25 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยและกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินอัตราต่าง ๆ สำหรับอัตรา 3SSF ก็ทำให้ข้าวมีจำนวนเมล็ดต่อรวงสูงกว่าอัตรา SSF และ 2SSF เช่นกัน ($P<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้าวในกรรมวิธีดังกล่าวได้รับธาตุอาหารจากปุ๋ยสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ธาตุไนโตรเจนซึ่งมีศักยภาพทำให้ต้นข้าวมีความอุดมสมบูรณ์ของช่อดอกและความยาวของช่อดอกมากขึ้น (ยงยุทธ และคณะ, 2551) ผลของการใส่ปุ๋ยต่อผลผลิตข้าวที่ได้จากการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ นิตยา และคณะ (2551) ที่พบว่า การเพิ่มปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ข้าวมีผลผลิตสูงขึ้น

สำหรับการทดลองนี้ การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์อัตราต่าง ๆ ไม่มีผลทำให้ผลผลิตข้าวแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับปรีชา และคณะ (2544) ที่รายงานว่า การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินโดยการเพิ่มหรือลดอัตราไม่มีผลทำให้ข้าวมีผลผลิตแตกต่างกัน แต่ทำให้มีต้นทุนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ อรรถนพ (2541) ยังพบว่า การเพิ่มหรือ

ลดปริมาณปุ๋ยจากบ่อแก๊สชีวภาพในทุกอัตราให้ผลผลิตข้าวพันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 ไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาในส่วนของการเก็บเกี่ยวเมล็ดดี พบว่า ข้าวในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยตามวิธีของเกษตรกรมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีที่สูงที่สุดเป็น 17.17 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นไปได้ว่าการใส่ปุ๋ยที่มีปริมาณธาตุไนโตรเจนมากเกินไปอาจทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวสูง มีการเจริญเติบโตทางลำต้นเกินสมดุล ทำให้เกิดการบังแสง ลำต้นอ่อน ล้มง่าย เมล็ดดีน้อยและผลผลิตต่ำได้ (ยงยุทธ และคณะ, 2551) สอดคล้องกับ Rao and Prasad (1980) และ อรพิน และ ผ่องพรรณ (2545) ซึ่งพบว่า เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีของข้าวเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระดับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน

3. ประสิทธิภาพในการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน

ประสิทธิภาพการผลิตพืชของข้าวแสดงในตารางที่ 3 ข้าวในกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา SSF มีประสิทธิภาพการผลิตข้าวสูงที่สุด ($P<0.05$) คิดเป็น 66.69 กิโลกรัมผลผลิตต่อกิโลกรัมไนโตรเจน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยอัตรา F, 2SSF และ 3SSF โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา F นั้นมีค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการผลิตพืชต่ำที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 13.34 กิโลกรัมผลผลิตต่อกิโลกรัมไนโตรเจน ประสิทธิภาพการผลิตพืชสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยอัตราต่ำ แต่เมื่อเพิ่มอัตราปุ๋ยให้สูงขึ้นเรื่อย ๆ ประสิทธิภาพของการผลิตพืชมีค่าลดลงตามลำดับ (ยงยุทธ และคณะ, 2551) ซึ่งการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา F นั้นเป็นอัตราที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับทุกกรรมวิธีในการทดลอง จึงทำให้มีประสิทธิภาพการผลิตพืชสอดคล้องกับการศึกษาของ

Table 2 Effects of fertilization regimes on grain yield and yield components of rice

Treatments	Grain number (seeds per spike)	100-grain weight (g)	Infertile grains (%)	Grain yield (kg/rai)
Control	76.58 ^d	2.53 ^b	16.92 ^a	784.50 ^c
F	99.38 ^a	2.64 ^a	17.17 ^a	1,195.25 ^a
SSF	93.78 ^c	2.72 ^a	14.33 ^b	1,117.75 ^b
2SSF	93.95 ^c	2.73 ^a	15.42 ^{ab}	1,127.25 ^b
3SSF	96.38 ^b	2.75 ^a	16.33 ^a	1,116.25 ^b
%CV	3.23	4.79	13.41	3.75

Values followed by the same letter in the same column do not differ significantly between the treatments at the 5% significant level

Table 3 Effects of fertilizer regimes on agronomic fertilizer use efficiency (ANUE) of rice

Treatments	ANUE (kg rice grain/kg N)
F	13.34 ^d
SSF	66.69 ^a
2SSF	33.97 ^b
3SSF	22.19 ^c
%CV	15.09

Values followed by the same letter in the same column do not differ significantly between the treatments at the 5% significant level

อุไรวรรณ และคณะ (2554) ที่รายงานว่า การเพิ่มอัตราการใช้ปุ๋ยในโตรเจนให้แก่หญ้าที่มีผลทำให้ประสิทธิภาพการผลิตพืชลดลง

และโพแทสเซียมในดินมาใช้ตามโปรแกรมการจัดการดิน และปุ๋ยรายแปลง ให้กำไรสุทธิสูงกว่าการใช้ปุ๋ยด้วยวิธีการอื่น ๆ สามารถลดต้นทุนด้านการใช้ปุ๋ยได้ 380 บาทต่อไร่

4. ต้นทุนในการใช้และรายได้

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิต ต้นทุนในการใช้ปุ๋ย รายได้ของผลผลิต และรายได้สุทธิของการใส่ปุ๋ยกรรมวิธีต่าง ๆ (ตารางที่ 4) พบว่า การใส่ปุ๋ยอัตรา F มีต้นทุนในการใช้ปุ๋ยสูงที่สุด (1,784 บาทต่อไร่) ทั้งนี้เนื่องจากการใส่ปุ๋ยในปริมาณมากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ และการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา SSF มีต้นทุนค่าปุ๋ยต่ำที่สุด (450 บาทต่อไร่) เมื่อคิดผลตอบแทนหลังหักค่าใช้จ่ายจากการซื้อปุ๋ย พบว่า การใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา SSF มีค่าสูงที่สุด โดยคิดเป็น 11,845 บาทต่อไร่ สอดคล้องกับ กิ่งแก้ว และคณะ (2552) ที่ศึกษาศักยภาพการผลิตข้าวในจังหวัดปทุมธานี พบว่า การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินโดยนำค่าอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส

สรุป

จากการศึกษาการเจริญเติบโต ผลผลิต และประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยของข้าวในชุดดินสรวพยา สรุปได้ว่าการปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานีในชุดดินสรวพยาควรมีการตรวจวิเคราะห์ดินและกำหนดอัตราการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยใช้อัตราปุ๋ย 5-3-3 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ แบ่งใส่ 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ใช้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 21 กิโลกรัมต่อไร่ และครั้งที่ 2 ใช้ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 4 กิโลกรัมต่อไร่ เป็นกรรมวิธีที่แนะนำ เนื่องจากการใส่ปุ๋ยอัตราดังกล่าวให้ผลผลิตดีกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย มีค่าประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยในโตรเจนดีที่สุด และทำให้เกษตรกรมีรายได้หลังหักค่าใช้จ่ายจากปุ๋ยสูงที่สุด

Table 4 Effects of fertilizer regimes on agronomic fertilizer use efficiency (ANUE) of rice

treatments	Fertilizer cost (Baht/rai)	Income (Baht/rai)	Income after correcting fertilizer cost (Baht/rai)
control	-	8,629	8,629
F	1,784	13,147	11,363
SSF	450	12,295	11,845
2SSF	900	12,399	11,499
3SSF	1,350	12,278	10,928

Provided: Fertilizer 15-15-15 = 17.96 Baht/kg

Fertilizer 16-20-0 = 16.96 Baht/kg

Fertilizer 46-0-0 = 18.22 Baht/kg

Grain price = 11 Baht/kg

คำขอบคุณ

การทดลองนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) ปีงบประมาณ 2554 ครั้งที่ 2 ขอขอบคุณ นางอุไร กาล-ปักษ์ เกษตรอำเภอบ้านแหลม นางสาวจิราภรณ์ พุทธิมี-ผล และ นางสาวศิริวิภา ทรัพย์ศิลป์ นักศึกษาสาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ช่วยเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าว

เอกสารอ้างอิง

กิ่งแก้ว คุณเขต ลำราญ อินแถลง สมโรจน์ ประกอบบุญ นิตยา รื่นสุข อดุลย์ ฤทธะดี ประนอม มงคล-บรรจง วาสนา อินแถลง ชินัญชา บุคคาบุญ อมรรัตน์ อินทร์มัน เฉลิมชาติ ฤาไชยคาม สุรพล จัตุพร และ โอบาส วรราช. 2552 การเพิ่มผลผลิตข้าวภาคกลางจากการจัดเขตศักยภาพของพื้นที่. ประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2552 ณ โรงแรม ซิปรีท จอมเทียน พัทยา จ.ชลบุรี. หน้า 82-98.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2548. ชุดดินสรวทยา. หน้า. 37 ใน: เอกสารวิชาการ ลักษณะและสมบัติของชุดดินในภาคกลางของประเทศไทย.

นิตยา รื่นสุข ประนอม มงคลบรรจง และ วาสนา อินแถลง. 2551. การจัดการเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตข้าวลูกผสมสายพันธุ์ PTT06001H. ประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ปี 2551 ณ โรงแรม ชลจันทร์ รีสอร์ท พัทยา จ.ชลบุรี. หน้า 74-90.

นันทนา ชื่นอิม วิวัฒน์ อิงคะประดิษฐ์ สมชาย กริทธา-ภิรมย์ และ นุชรา สีนบัวทอง. 2553. การใช้ปุ๋ยเคมีในนาข้าวตามค่าการวิเคราะห์ดิน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48, 3-5 กุมภาพันธ์ 2010, กรุงเทพมหานคร

ปรีชา พราหมณ์ชัย ประจักษ์ ประเสริฐศักดิ์ และ จักรินทร์ ศรัทธาพร. 2544. การทดสอบการใช้ปุ๋ยเคมีในอ้อยตามค่าวิเคราะห์ดิน. หน้า. 1-28 ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2544. ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร.

ไพลิน รัตนจันทร์ อานัน ผลวัฒน์ ทศนีย์ อุตตะนันท์ และ นิวัติ เจริญศิลป์. 2550. การจัดการธาตุอาหารเฉพาะพื้นที่เพื่อการผลิตข้าวในพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา. ประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2550 วันที่ 19-20 กุมภาพันธ์ 2550. ปทุมธานี 314 หน้า.

ยงยุทธ ไสยสกลา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชวลิต สงประยูร. 2551. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 55-72.

สถาบันวิจัยข้าว. 2545. เทคโนโลยีการผลิตข้าวพันธุ์ดี. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อรพิน เกิดชูชื่น และ ผ่องพรรณ พุทธาโร. 2545. อิทธิพลของปุ๋ยยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟตต่อ growth rate, leaf area index และ net assimilation rate ของข้าวเจ้าหอมพันธุ์ปทุมธานี 1. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 25: 233-243.

อรรถพ คณะเจริญพงษ์. 2541. ผลกระทบของปุ๋ยจากบ่อแก๊สชีวภาพ และอัตราเมล็ดพันธุ์ของข้าวหอมมะลิ 105 ในนาหว่านน้ำตม. วารสารเกษตร 14: 270-278.

อุไรวรรณ ไอยสุวรรณ จีระศักดิ์ ขอบแต่ง และ สมศักดิ์ ภาทอง. 2554. ผลผลิต องค์ประกอบทางเคมี และประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของหน้ารูซี่ที่ได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในระดับต่าง ๆ. ประชุมวิชาการครั้งที่ 8 วันที่ 8-9 ธันวาคม 2554 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. หน้า 77-83.

Ladha, J. K., H. Pathak, T. Krupnik, J. Six, and C. van Kessel. 2005. Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: retrospects and prospects. Advance Agronomy 87: 85-156.

Rao, E. V. S. P. and R. Prasad. 1980. Nitrogen leaching losses from conventional and new nitrogenous fertilizers in lowland rice culture. Plant and Soil 57: 383-392.

การใช้เชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ชักนำให้เกิดความ ต้านทานโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รีด้วยเทคนิคการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Using Endophytic Actinomycetes to Induce Leaf Disease Resistance of Strawberry by Tissue Culture Techniques

ศิริมาศ ชัยชม^{1/} และ เกวลิน คุณาศักดากุล^{1/}
SirimasChaichom^{1/} and Kaewalin Kunasakdakul^{1/}

Abstract: Diagnosis of strawberry leaf diseases, leaf spot and leaf blight were caused by *Colletotrichum* sp. and *Pestalotia* sp., respectively. Antagonistic endophytic actinomycetes were studied for controlling the pathogens. A total of 102 isolates were obtained from herbs and Rosaceae after isolations on IMA-2 medium. All of the isolates were used to determine efficiency in controlling of the pathogens using Dual Culture method. Six isolates were selected including ERY2, MET4, POL4, DUC2, PRU2 and ROS7 which showed highly inhibitory effects more than 70% of Percent Inhibition of Radial Growth (PIRG) on both pathogens. The highest percentages inhibition against *Colletotrichum* sp. and *Pestalotia* sp. at 92.50% and 87.50% were obtained from the testing with isolates MET4 and PRU2, respectively. Colonization tests in strawberry tissue culture plantlets of the selected isolates were performed in order to induce the leaf diseases resistance of the strawberry tissue culture plantlets. The endophytic actinomycete cell suspensions were inoculated by dropping on the strawberry tissue culture plantlets. Re-isolation for the ability to colonize in strawberry tissue culture plantlets of each selected isolate was done after incubated for 14 days. Percentage of recovery for each isolate from the inoculated plant parts were 96, 56, 70, 100, 100 and 93 percents, respectively. The majority was colonized in leaves. Induction of leaf diseases resistances *in vitro* were evaluated. The plantlets was colonized with the endophytic actinomycete for a certain period of 21 days before the pathogens were separately inoculated. Disease severity levels were scored comparing with the control treatments, pathogen treated plantlets with non-colonization of the antagonistic isolate. The results revealed that, the antagonistic colonized trials reduced average disease severity levels between 0.44-1.88 which statistically different from control treatment which were 3.78 to 4.00 of disease severity level. The best induced resistance isolate was MET4 for both pathogenic fungi.

Keywords: Endopytic actinomycetes, strawberry leaf diseases, induce resistance, tissue culture

^{1/} ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

บทคัดย่อ: จากการวินิจฉัยโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี พบอาการใบจุดและอาการใบไหม้ มีเชื้อ *Colletotrichum* sp. และเชื้อ *Pestalotia* sp. เป็นสาเหตุตามลำดับ และจากศึกษาเชื้อปฏิบัติการณ์ในกลุ่มแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุทั้ง 2 ชนิด โดยการแยกเชื้อจากพืชสมุนไพรและพืชวงศ์กุหลาบ (Rosaceae) บนอาหาร IMA-2 พบว่าสามารถแยกเชื้อได้จำนวน 102 ไอโซเลต เมื่อนำมาคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคทางใบ ด้วยวิธี Dual Culture บนอาหาร IMA-2 พบ เชื้อจำนวน 6 ไอโซเลต คือ ERY2, MET4, POL4, DUC2, PRU2 และ ROS7 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวได้ในระดับสูง โดยมีการยับยั้งมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลต MET4 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. มากที่สุดเท่ากับ 92.50 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลต PRU2 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อ *Pestalotia* sp. มากที่สุดเท่ากับ 87.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ทั้ง 6 ไอโซเลต ที่คัดเลือกได้ไปทดสอบการเข้าอยู่อาศัยในเนื้อเยื่อของต้นกุหลาบสตรอว์เบอร์รีที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อชักนำให้เกิดการต้านทานต่อการเกิดโรคทางใบ โดยหยดเซลล์แขวนลอยของเชื้อแต่ละไอโซเลต ลงบริเวณโคนต้นกุหลาบสตรอว์เบอร์รีที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 14 วัน เมื่อนำขึ้นพืชมาทดสอบการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อแต่ละไอโซเลตโดยวิธีแยกเชื้อกลับ พบว่า เชื้อ 6 ไอโซเลตดังกล่าวข้างต้น มีเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับได้ เท่ากับ 96, 56, 70, 100, 100 และ 93 ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่สามารถแยกเชื้อกลับได้จากส่วนใบของต้นกุหลาบสตรอว์เบอร์รีในทุกไอโซเลต และจากการทดสอบการชักนำให้เกิดความต้านทานโรคทางใบในสภาพปลอดเชื้อของต้นกุหลาบสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลต เป็นเวลา 21 วัน พบว่า ต้นกุหลาบที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลตมีระดับความรุนแรงของโรค ระหว่าง 0.44-1.88 ซึ่งน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีค่าระหว่าง 3.78-4.00 โดยไอโซเลต MET4 สามารถชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคทางใบทั้ง 2 ชนิดได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: แอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ โรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี การชักนำให้เกิดความต้านทาน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

คำนำ

สตรอว์เบอร์รีเป็นผลไม้ชนิดแรก ๆ ที่มูลนิธิโครงการหลวงมีการนำเข้ามาขยายพันธุ์เพื่อปลูกทดลองและส่งเสริมให้ชาวไทยภูเขาปลูกเพื่อเป็นพืชทดแทนการปลูกฝิ่นและแก้ปัญหาการทำไร่เลื่อนลอยบนพื้นที่สูงตามแนวพระราชดำริของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว จนปัจจุบันสตรอว์เบอร์รีกลายเป็นพืชที่ปลูกเพื่อการค้ามีตลาดรับซื้อขนาดใหญ่ (ณรงค์ชัย, 2553) ซึ่งมูลนิธิโครงการหลวงเน้นส่งเสริมการปลูกพันธุ์ที่มีคุณภาพในการรับประทานสด ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน 80 ซึ่งมีลักษณะเด่นกว่าพันธุ์อื่น ๆ คือ เมื่อสุกมีกลิ่นหอมรสหวานและเนื้อผลแน่นสีแดงสดแต่เนื่องจากสตรอว์เบอร์รีเป็นพืชที่มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541) โรคสำคัญที่เป็นอุปสรรคต่อการผลิตสตรอว์เบอร์รี ได้แก่ โรคใบไหม้ใบจุด และโรคแอนแทรกคโนส (ปริญญา, 2546) ซึ่งเกิดจากเชื้อ

Ramulariastulasnei, *Pestalotiopsis* sp. และ *Colletotrichumfragariae* ตามลำดับ (งานพัฒนาและส่งเสริมไม้ผลขนาดเล็ก, ไม่ระบุปีที่พิมพ์) นอกจากนั้นปัจจัยสำคัญในการผลิตสตรอว์เบอร์รีให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดี คือ การปลูกโดยใช้ต้นไหลที่มีความแข็งแรง ปราศจากโรค ปัจจุบันการขยายพันธุ์สตรอว์เบอร์รีโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าสามารถเพิ่มจำนวนต้นสตรอว์เบอร์รีที่แข็งแรงและปลอดโรคได้ดีและสามารถใช้เป็นการค้าได้ (ณรงค์ชัย และ คณะ, 2556)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อสาเหตุโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี

เก็บตัวอย่างสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทานเบอร์ 80 ที่แสดงอาการของโรคทางใบจากพื้นที่เพาะปลูกสถานีเกษตรหลวงอินทนนท์มูลนิธิโครงการหลวงจังหวัด

เลี้ยงใหม่ บันทึกรูปร่างของโรคและแยกเชื้อสาเหตุ ด้วยวิธี Tissue Transplant โดยการตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณที่เป็นโรคให้มีขนาดประมาณ 3×3 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้ววางชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) จากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Hyphal Tip Isolation และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค โดยวิธีพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุบนต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทานเบอร์ 80 อายุ 1 เดือน เป็นเวลา 7 วัน สังเกตและบันทึกอาการของโรค

2. การแยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากพืชกุหลาบและพืชสมุนไพร

แยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากพืชวงศ์กุหลาบจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สตรอว์เบอร์รีป่า (*Duchesnea indica* Focke), สตรอว์เบอร์รี (*Fragaria ananassa* (Duchesne)), กุหลาบ (*Rosa* sp.) และนางพญาเสือโคร่ง (*Prunus cerasoides*) และพืชสมุนไพรจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ โสม (*Panax ginseng* C. A. Meyer), สะระแหน่ (*Methacordifolia* Opiz.), ตะไคร้ต้น (*Litsea cubeba* Per.), อบเชย (*Cinnamomum verum* J. Presl), การบูร (*Cinnamomum camphora* (L.) J. S. Presl), ดอกไม้เงิน (*Hemerocallis fulva* Linn.), หม่อน (*Morus alba* L.), ผักไผ่ (*Polygonum odoratum* Lour.), กาแฟ (*Coffea arabica* L.) และผักชีฝรั่ง (*Eryngium foetidum* L.) โดยคัดเลือกพืชที่ไม่มีการเข้าทำลายของโรคหรือแมลง นำมาทำความสะอาดชิ้นพืชด้วยการล้างผ่านน้ำไหล เป็นเวลา 30 นาที ซับให้แห้ง แล้วตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยม ขนาดประมาณ 1×1 เซนติเมตร จากนั้นฆ่าเชื้อที่ผิว ด้วยการแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วยแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และสารฆ่าเชื้อราคาร์เบนดาซิมความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที ตากชิ้นพืชให้แห้ง ก่อนนำไปวางบนอาหาร inhibitory mold agar-2 (IMA-2) จำนวน 10 ชิ้นต่อจาน บ่มไว้ในที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 เดือน เมื่อเชื้อเจริญออกจากชิ้น

พืช ใช้เข็มเย็บเย้ายายเชื้อลงบนแผ่นกรองเซลลูโลส (cellulose membrane) ขนาดรูพรุนเท่ากับ 0.22 ไมโครเมตร ที่วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 บ่มเชื้อเป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นนำแผ่นกรองเซลลูโลสออก นำเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์บริสุทธิ์ที่เจริญบนผิวหน้าอาหารทุกไอโซเลตไปเพิ่มจำนวนบนอาหาร IMA-2 เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไปโดยเชื้อไอโซเลตตั้งตามชื่อวิทยาศาสตร์ส่วนตัวแรกของพืชอาศัย

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์

ทดสอบความสามารถของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ทุกไอโซเลตในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้จากการทดลองที่ 1 ด้วยวิธี Dual Culture วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยการฉีดเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลตให้มีความยาว 4 เซนติเมตร บนอาหาร IMA-2 และห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร บ่มไว้ในที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคที่มีอายุ 5-7 วัน วางห่างจากเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลตที่ฉีดไว้ก่อนแล้วประมาณ 3 เซนติเมตร บ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน ทำการทดลองไอโซเลตละ 4 ซ้ำ โดยชุดควบคุมที่วางเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว ชีดด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุมเจริญถึงจุดที่ชิดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ตรวจผลโดยวัดขนาดรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคในชุดควบคุมและชุดทดสอบ จากนั้นคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญจากสูตรการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Percent Inhibition of Radial Growth: PIRG) ดังนี้

$$PIRG = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100$$

R1

R1 คือ รัศมีเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารชุดควบคุม

R2 คือ รัศมีเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารชุดทดสอบ

โดยประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งจากค่า PIRG ดังนี้

>75	เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับสูงมาก
61-75	เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับสูง
51-60	เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับปานกลาง
<50	เปอร์เซ็นต์	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับต่ำ

คัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งระดับสูงตั้งแต่ 70 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4. การศึกษาการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อพืชของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์

นำเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ในการทดลองที่ 3 มาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว IMB-2 โดยใช้ culture disc ของเชื้อจำนวน 3 ชิ้นต่ออาหาร 30 มิลลิลิตร บรรจุใน flask ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหยดเซลล์แขวนลอยของเชื้อความเข้มข้นประมาณ 10^5 cfu/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงบริเวณโคนต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทานเบอร์ 80 อายุ 20 วัน ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่มีฮอร์โมนจำนวน 10 ต้น (0.1 มิลลิลิตร ต่อต้น) อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากนั้นเลี้ยงต้นกล้าไว้ในสภาพปลอดเชื้อต่อไปอีกเป็นเวลา 14 วัน ตรวจสอบการเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ ด้วยการสุ่มส่วนของใบ ก้านใบ และราก ของต้นกล้า มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวเช่นเดียวกับการแยกเชื้อในการทดลองที่ 2 โดยวางชิ้นพืชแต่ละส่วน ๆ ละ 10 ชิ้น บนอาหาร IMA-2 บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สังเกตเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ที่เจริญออกจากชิ้นส่วนของพืชหลังการแยกเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลที่ได้โดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ตามวิธีการของ Maguro *et al.* (2004) ดังนี้

สูตร คำนวณเปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์

$$\frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชที่เชื้อเจริญออกมา} \times 100}{\text{จำนวนชิ้นพืชทั้งหมด (10 ชิ้น)}} = \text{เปอร์เซ็นต์การเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีส}$$

5. การทดสอบความต้านทานโรคของต้นพันธุ์สตรอว์เบอร์รีในสภาพปลอดเชื้อ

ปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลตที่คัดเลือกได้ในการทดลองที่ 4 ลงบนต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทานเบอร์ 80 ในสภาพปลอดเชื้อตามวิธีการทดลองที่ 3 เป็นเวลา 21 วันนำต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีออกจากขวดล้างอาหารวุ้นออกด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วจุ่มต้นสตรอว์เบอร์รีในเซลล์แขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้จากการทดลองที่ 1 ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที และย้ายพืชลงปลูกในขวดแก้วที่มี vermiculite 15 กรัม ผสมอาหารเหลว MS ไม่มีฮอร์โมน 3 มิลลิลิตรผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ไอโซเลตละ 9 ต้น เพาะเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน สังเกตการเกิดโรคและบันทึกผลระดับความรุนแรงของการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้เกณฑ์การประเมินความรุนแรงของโรคจากเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของพื้นที่ใบทั้งหมดของต้นกล้า แบ่งเป็น 5 ระดับ จากนั้นนำค่าที่ได้คิดค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนักของระดับความรุนแรงการเกิดโรค (Symptom category) ดังนี้

ระดับความรุนแรงการเกิดโรค 5 ระดับ

- ระดับ 0 ต้นกล้าไม่เกิดโรค
- ระดับ 1 ต้นกล้าแสดงอาการใบจุดหรือใบไหม้ 1-25%
- ระดับ 2 ต้นกล้าแสดงอาการใบจุดหรือใบไหม้ 25-50%
- ระดับ 3 ต้นกล้าแสดงอาการใบจุดหรือใบไหม้ 50-75%
- ระดับ 4 ต้นกล้าแสดงอาการใบจุดหรือใบไหม้ 75% และต้นตาย

ผลและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อสาเหตุโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี

จากการศึกษาอาการและวินิจฉัยโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี พบลักษณะอาการโรคและเชื้อราสาเหตุโรค 2 ลักษณะ ได้แก่

1.1) โรคใบจุด

อาการโรคใบจุดมีลักษณะบนใบเป็นแผลจุดกลมสีม่วงขอบแผลมีสีม่วงอมแดง ตรงกลางแผลเนื้อเยื่อใบจะแห้งตาย ซึ่งลักษณะแผลอาจมีความใกล้เคียงกับโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Ramulariatulasnei* ที่มีลักษณะบนใบเป็นสีม่วงแต่ขอบแผลไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ยอดชาย, 2544) เมื่อนำตัวอย่างโรคมาแยกเชื้อและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและโคนินเดีย (conidia) ได้กล้องจุลทรรศน์ พบโคโลนีที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาวอมชมพู มีการสร้างโคนินเดีย รูปทรงกระบอก ด้านหนึ่งมนและอีกด้านหนึ่งแหลม ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *Colletotrichum* sp. (ภาพที่1a) สอดคล้องกับการศึกษาของ Verma and Shrama (1999), บริจิตร (2549) และศรัญญา (2544)

1.2) โรคใบไหม้

อาการโรคใบไหม้ มีลักษณะเป็นแผลสีน้ำตาลบริเวณขอบใบ รูปร่างของแผลไม่แน่นอน เมื่อนำตัวอย่างโรคมาแยกเชื้อ และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยและโคนินเดีย ได้กล้องจุลทรรศน์พบโคโลนีที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาวครีม สร้าง fruiting bodies มองเห็นเป็นจุดสีดำเล็กๆ มีการสร้างโคนินเดียหลายเซลล์โดยแต่ละเซลล์มีผนังกัน โคนินเดียมีสี่เหลี่ยมซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *Pestalotia* sp. (ภาพที่1b) สอดคล้องกับรายงานของ Barnett and Hunter (1987) และ Verma and Shrama (1999)

จากการนำเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้ทั้ง 2 ชนิด มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคพบว่า

เชื้อเหี่ยวใบแสดงอาการใบจุดสีม่วงอมแดง และเชื้อ *Pestalotia* sp. สามารถทำให้ต้นกล้าแสดงอาการใบไหม้ โดยเกิดเป็นแผลยาวขอบแผลไม่แน่นอนโดยเชื้อราสาเหตุเชื้อราทั้ง 2 ที่แยกได้จากการทดลองที่ 1 สามารถทำให้เกิดโรคได้ โดยเชื้อ *Colletotrichum* sp. สามารถทำให้ทั้ง 2 ชนิด แสดงอาการหลังการพ่นสปอร์ของเชื้อราเป็นเวลา 7 วัน

2. การแยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากพืชวงศ์กุหลาบและพืชสมุนไพร

จากการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากพืชวงศ์กุหลาบ 4 ชนิด และพืชสมุนไพร 10 ชนิด บนอาหาร IMA-2 และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 เดือน พบโคโลนีเจริญบริเวณผิวหน้าของชิ้นพืช และสามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ได้รวมทั้งหมด 102 ไอโซเลต โดยส่วนมากตรวจพบจากส่วนของใบของพืชทุกชนิดสำหรับการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ได้จำนวนมากหรือน้อยนั้นมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง อาทิเช่น ขั้นตอนการฆ่าเชื้อที่ผิวพืช ซึ่งต้องแน่ใจว่าสามารถฆ่าเชื้อที่ผิวได้หมดเพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ทำให้เชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไม่สามารถเจริญออกมาได้ (Shimizu *et al.*, 2000) นอกจากนี้ชนิดของพืชและพื้นที่เพาะปลูกสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศ รวมถึงอายุพืช ระยะการเจริญเติบโต ชนิดของดินที่เพาะปลูกและฤดูกาลล้วนแต่เป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนและปริมาณของเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์เช่นกัน (Sardi *et al.*, 1992)



Figure 1 Conidia of *Colletotrichum* sp. (a) and *Pestalotia* sp. (b) which were isolated from infected strawberry leaves, leaf spot (c) and leaf blight (d), respectively after culturing on PDA for 7 days

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์

จากการนำเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชวงศ์กุหลาบและพืชสมุนไพรทั้งหมด 102 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี ด้วยวิธี Dual Culture บนอาหาร IMA-2 พบว่า เชื้อไอโซเลต MET4 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. ได้มากที่สุดมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 92.50 และ ไอโซเลต PRU2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Pestalotia* sp. ได้มากที่สุดมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 87.50 สอดคล้องกับรายงานของ Sardi *et al.* (1992) ที่รายงานว่าเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์บางชนิดจะสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ 1-2 ชนิดเท่านั้น จัดเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะพวก narrow antimicrobial spectrum ซึ่งมักพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยการทดลองครั้งนี้ได้คัดเลือกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทางใบ

ของสตรอว์เบอร์รีทั้ง 2 ชนิด ได้ดีโดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมด 6 ไอโซเลต ซึ่งได้แก่ ERY2 (ผักชีฝรั่ง), MET4 (สะระแหน่), POL4 (ผักไผ่), DUC2 (สตรอว์เบอร์รีป่า), PRU2 (นางพญาเสือโคร่ง) และ ROS7 (กุหลาบ) (ภาพที่ 2, ตารางที่ 1) มาใช้ในการทดสอบต่อไป

4. การศึกษาการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อพืชของเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์

เมื่อนำเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ทั้ง 6 ไอโซเลต ที่คัดเลือกได้ ไปทดสอบการเข้าอยู่อาศัยในเนื้อเยื่อพืชของต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีพันธุ์พระราชทานเบอร์ 80 อายุ 20 วันที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยหยดเซลล์แขวนลอยของเชื้อแต่ละไอโซเลต ลงบริเวณโคนต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 14 วัน แล้วแยกเชื้อกลับ (re-isolation) สามารถตรวจพบโคโลนีของเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์เจริญออกจากชิ้นส่วนของพืช โดย DUC2 และ

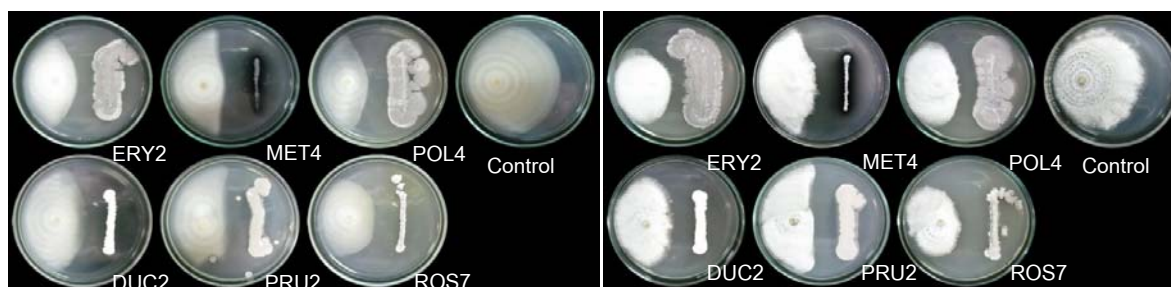


Figure 2 Growth inhibitions of *Colletotrichum* sp. (a) and *Pestalotia* sp. (b) after dual cultured with 6 isolates of endophytic actinomycetes on IMA-2 medium for 7 days

Table 1 Inhibitory percentages of *Colletotrichum* sp. and *Pestalotia* sp. after dual cultured with 6 isolates of endophytic actinomycetes on IMA-2 medium for 7 days

Isolates	Inhibition percentage (%) ¹	
	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Pestalotia</i> sp.
ERY2	80.00	80.00
MET4	92.50	82.50
POL4	82.50	82.50
DUC2	82.50	77.50
PRU2	73.75	87.50
ROS7	77.50	82.50

¹ Average of 4 replicates

PRU 2 เป็นไอโซเลตที่สามารถสร้าง aerial mycelium ออกจากทุกชิ้นส่วนของพืชที่แยกเชื้อและแยกเชื้อกลับได้ เท่ากับ 100 เปอร์เซนต์ รองลงมาคือ ERY2, ROS7, POL4 และ MET4 ซึ่งให้ค่าเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับ เท่ากับ 96, 93, 70 และ 56 ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่ สามารถแยกเชื้อกลับได้จากส่วนของใบ (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับการรายงานของ Shimizu *et al.* (2001) ที่ สามารถแยกเชื้อกลับ หลังการปลูกเชื้อ *Streptomyces* R-5 ในต้นกล้า rhododendron ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอด เชื้อเป็นเวลา 14 วัน เช่นเดียวกับรายงานของ Meguro *et al.* (2004) หลังการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. AOK-30 ในต้นกล้า mountain laurel ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอด เชื้อ เป็นเวลา 10 วัน พบว่า เชื้อสามารถเข้าอาศัยใน เนื้อเยื่อพืชได้ และสามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. AOK-30 ได้จากส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้า

5. การทดสอบความต้านทานโรคของต้นพันธุ์ สตรอว์เบอร์รีในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์แต่ละ ไอโซเลต ที่คัดเลือกได้จำนวน 6 ไอโซเลต จากการทดลอง ที่ 4 ปลูกเชื้อบริเวณโคนต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีเป็นเวลา 21 วัน จากนั้นนำมาปลูกเชื้อสาเหตุโรค เป็นเวลา 10 วัน เมื่อประเมินความรุนแรงของโรคที่ระดับ 0-4 และนำค่าที่ได้ คิดค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงการเกิดโรค ให้ผล ดังนี้

1) การต้านทานโรคจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. พบว่า ต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลต MET4 สามารถต้านทานการเกิดโรคได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนักของระดับความรุนแรงการเกิดโรคเท่ากับ 0.44 รองลงมาคือเชื้อไอโซเลต DUC2, POL4, PRU2, ERY2 และ ROS7 โดยมีค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนักของระดับความรุนแรงการเกิดโรคเท่ากับ 0.77, 0.89, 1.00, 1.11 และ 1.67 ตามลำดับ แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการ ปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ โดยมีค่าเฉลี่ยถ่วง น้ำหนักของระดับความรุนแรงการเกิดโรคเท่ากับ 3.78 (ตารางที่ 3)

2) การต้านทานโรคจากเชื้อ *Pestalotia* sp. พบว่า ต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลต MET4 สามารถต้านทานการเกิดโรคได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนักของระดับความรุนแรง การเกิดโรคเท่ากับ 0.44 รองลงมาคือเชื้อไอโซเลต POL4, DUC2, PRU2, ROS7 และ ERY2 โดยมีค่าเฉลี่ยถ่วง น้ำหนักของระดับความรุนแรงการเกิดโรคเท่ากับ 0.66, 0.88, 1.11, 1.33 และ 1.88 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ แอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ซึ่งมีค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนักของ ระดับความรุนแรงการเกิดโรคเท่ากับ 4.00 (ตารางที่ 4) การทดสอบการต้านทานโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รีใน สภาพปลอดเชื้อผลที่ได้ พบว่า ต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีที่

Table 2 Percentage of recovery for endophytic actinomycetes 6 isolates from the segments of inoculated tissue culture strawberry

Isolates	Part of tissue (pieces) ^{1/}			Re-isolation (%)
	Leaf	Stem	Root	
control	0	0	0	0
ERY2	9	10	10	96
MET4	9	7	1	56
POL4	10	10	1	70
DUC2	10	10	10	100
PRU2	10	10	10	100
ROS7	9	10	9	93

^{1/} Average of 10 replicates (pieces)

ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์สามารถต้านทานต่อการเกิดโรคของเชื้อราสาเหตุทั้ง 2 ชนิด สอดคล้องกับ Shimizu *et al.* (2009) ซึ่งรายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. MBCu-56 ที่แยกได้จากแตงกวาและฟักทอง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum orbiculare* สาเหตุโรคแอนแทรกในสของ

พืชตระกูลแตง โดยนำ cotyledons ของแตงกวาแช่ในเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *Streptomyces* sp. MBCu-56 เป็นเวลา 1 วัน ก่อนนำมาวางบนอาหาร IMA-2 จากนั้นปลูกเชื้อ *C. orbiculare* บน cotyledons ของแตงกวาพบว่า สามารถลดการเกิดบาดแผลจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Table 3 Disease severity level of strawberry tissue culture plantlets which were colonized by endophytic actinomycete isolates before inoculation with *Colletotrichum* sp., leaf spot disease

Isolates	Symptom category ¹					the average disease severity level
	0	1	2	3	4	
Control ²	0	0	0	2	7	3.78 ^{a3}
ERY2	3	3	2	1	0	1.11 ^{bc}
MET4	5	4	0	0	0	0.44 ^c
POL4	2	6	1	0	0	0.89 ^{bc}
DUC2	4	3	2	0	0	0.77 ^{bc}
PRU2	2	5	2	0	0	1.00 ^{bc}
ROS7	2	3	3	1	0	1.67 ^b
LSD _{0.05}						0.2516
%CV						23.38

^{1/} Average of 9 replicates

^{2/} Control: untreated with endophyticactinomycete

^{3/} Values with different letters within a column were significantly ($p < 0.05$) different according to the Least-significant difference (LSD)

Table 4 Disease severity level of strawberry tissue culture plantlets which colonized by each isolated of endophytic actinomycete before inoculation of leaf blight disease

Isolates	Symptom category					the average disease severity level
	0	1	2	3	4	
control ¹	0	0	0	0	9	4.00 ^{a3}
ERY2	0	4	3	1	1	1.88 ^b
MET4	5	4	0	0	0	0.44 ^e
POL4	4	4	1	0	0	0.66 ^{de}
DUC2	4	3	1	1	0	0.88 ^{cde}
PRU2	3	2	4	0	0	1.11 ^{cd}
ROS7	3	2	2	2	0	1.33 ^{bc}
LSD _{0.05}						0.2792
%CV						23.18

^{1/} Control: untreated with endophyticactinomycete

^{2/} Average of 9 replicates

^{3/} Values with different letters within a column were significantly ($p < 0.05$) different according to the Least-significant difference (LSD)

สรุป

จากการเก็บตัวอย่างโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี พบอาการของโรค 2 ลักษณะ ได้แก่ แผลจุดกลมสีม่วงอมแดง ตรงกลางแผลเนื้อเยื่อใบจะแห้งตาย ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. และลักษณะอาการใบไหม้หรือเกิดเป็นแผลสีน้ำตาลบนใบขอบแผลไม่แน่นอน ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Pestalotia* sp. จากการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากพืชวงศ์กุหลาบ และพืชสมุนไพร บนอาหาร IMA-2 สามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ได้รวมทั้งหมด 102 ไอโซเลต โดยส่วนมากแยกได้จากส่วนของใบ และเมื่อนำเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ที่แยกได้ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รีได้แก่เชื้อ *Colletotrichum* sp. และ เชื้อ *Pestalotia* sp. พบว่า เชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลต MET4 และ ไอโซเลต PRU2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราดังกล่าวได้ดีที่สุดตามลำดับโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราข้างต้นเท่ากับ 000000 ตามลำดับ โดยคัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ จำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ ERY2, MET4, POL4, DUC2, PRU2 และ ROS7 ในการทดสอบความต้านโรคของต้นกล้าสตรอว์เบอร์รี หลังการปลูกเชื้อแต่ละไอโซเลตเป็นเวลา 21 วัน ในสภาพปลอดเชื้อพบว่า ต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อไอโซเลต MET4 สามารถต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อ *Colletotrichum* sp. และ เชื้อ *Pestalotia* sp. ได้ดีที่สุด โดยแตกต่างจากชุดควบคุม ที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมูลนิธิโครงการหลวง ปีงบประมาณ 2556-2557

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2541. สตรอว์เบอร์รี. เอกสารแนะนำที่ 106 ฝ่ายเอกสารแนะนำ กองเกษตรสัมพันธ์

กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ. 36 หน้า.

ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์. 2553. สตรอว์เบอร์รี พันธุ์พระราชทาน 80 ความหวานที่ไม่ช่อนเปรี้ยว. (ระบบออนไลน์) แหล่งข้อมูล : <http://www.kehakaset.com> (5 มกราคม 2555).

ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์ เวช เต๋จ๊ะ และ สมศักดิ์ รุ่งอรุณ. 2556. การผลิตต้นไหลสตรอว์เบอร์รีโดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Strawberry Runner Plant Production by Using Tissue Culture Technique. สถาบันค้นคว้าและพัฒนากระบวนการผลิตเกษตร, สถาบันวิจัยดอยปุย สถาบันค้นคว้าและพัฒนากระบวนการผลิตเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปรีฉัตร พละพิง. 2546. การปรับปรุงพันธุ์สตรอว์เบอร์รีต้านทานโรคแอนแทรกคโนส. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 105 หน้า.

ปริญญา จันทศรี. 2546. โรคแอนแทรกคโนสของสตรอว์เบอร์รี. หน่วยวิจัยการควบคุมโรคพืช. (ระบบออนไลน์) . แหล่งข้อมูล : <http://www.ist.cmu.ac.th/riseat/.php>. (6 มกราคม 2555).

ยอดชาย นิมรักษา. 2544. การควบคุมโรคใบจุดและโรคใบไหม้ของสตรอว์เบอร์รีโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 63 หน้า.

ศรัญญา ลิ้มไขแสง. 2544. ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Colletotrichum* จากการวิเคราะห์ลำดับเบสในตำแหน่งอินเทอร์นัลทรานสไคริปสเฟเซอร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Barnett, H. L. and B. B. Hunter. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Macmillan Publishing Company, New York. pp. 192-193.

- Meguro, A., S. Hasegawa, M. Shimizu, T. Nishimura and H. Kunoh. 2004. Induction of disease resistance in tissue-cultured seedlings of Mountain Laurel after treatment with *Streptomyces padanus* AOK-30. *Actinomycetologica* 18: 48-53.
- Sardi, P., M. Saraneehi, S. Quaroni, B. Peterolini, G. E. Borgonovi and S. Merli. 1992. Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-steriled roots. *Applied and Environmental Microbiology* 58(8): 2691-2693.
- Shimizu, M., Y. Nakagawa, Y. Sato, T. Furumai, Y. Igarashi, H. Onaka, R. Yoshida and H. Kunoh. 2000. Studies on endophytic actinomycetes (I) *Streptomyces* sp. isolated from *Rhododendron* and its antifungal activity *Journal of General Plant Pathology* 66: 360-366.
- himizu, M., N. Fujita, Y. Nakagawa, T. Nishimura, T. Furumai, Y. Igarashi, H. Onaka, R. Yoshida and H. Kunoh. 2001. Disease resistance of tissue-cultured seedlings of *Rhododendron* after treatment with *Streptomyces* sp. R-5. *Journal of General Plant Pathology* 67: 325-332.
- Shimizu, M., S. Yazawa and Y. Ushijima. 2009. A promising strain of endophytic *Streptomyces* sp. for biological control of cucumber anthracnose. *Journal of General Plant Pathology* 75: 27-36.
- Verma, L.R. and R.C. Shrama. 1999. Diseases of Horticultural Crops-Fruits. pp. 328. (ระบบออนไลน์) . แหล่งข้อมูล : <http://www.google.co.th/books> =diseases+of+horticultural+crops-fruits.
-

ปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4}
((อาบญา/ขาวดอกมะลิ 105) x ชัยนาท 1) กับแมลงบั่ว
ในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย

Reaction of BC_4F_{3-4} Backcross Rice Lines
((Abhaya/KDML 105) X Chai Nat 1) to Rice Gall Midge
in Lower Northern Thailand

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ^{1*} สมชาย ธนสินชัยกุล^{2/} สุรเดช ปาละวิสุทธิ์^{3/}
เจตน์ คชฤกษ์^{3/} และ คณิตา เกิดสุข^{3/}
Weerathep Pongprasert^{1*}, Somchai Tanasinchayakul^{2/}, Suradet Palawisut^{3/}
Jate Kotcharerk^{3/} and Kanitta Kertsuk^{3/}

Abstract: Host plant resistance is the preferred management strategy to control rice gall midge (*Orseolia oryzae*). The total of 7 BC_4F_3 backcross rice lines ((Abhaya/KDML 105) X Chai Nat 1), potentially resistant to rice gall midge, were evaluated their reactions on 5 rice gall midge populations collected from paddy field in lower northern Thailand as Phitsanulok, Phichit, Kamphaeng Phet, Tak and Phrae provinces, under greenhouse condition. All BC_4F_3 backcross rice lines, Muey Nawng 62 M, RD1, Abhaya and TN1 were planted in seedling box in insect cage and mated gall midge females were released. The reactions of rice (silver shoot) were determined and calculated at 30 days after planted based on standard evaluation system for rice from International Rice Research Institute (IRRI) and then elite lines were selected. The result revealed that the total of one backcrossed line, A12-26-201-436, was significantly high resistance to gall midge populations from Phitsanulok, Tak and Phrae, and no resistant lines was found in case of those from Phichit and Kamphaeng Phet.

Keywords: Rice gall midge, *Orseolia oryzae*, resistant rice, Abhaya, KDML 105, Chai Nat 1

^{1/} ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

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

^{2/} ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

^{2/} Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{3/} ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก

^{3/} Phitsanulok Rice Research Center, Wang Thong, Phitsanulok 65000, Thailand

* Corresponding author: Tel. 08-1917-9347, Fax. 0-5526-1986, E-mail address: weerathepp@nu.ac.th

บทคัดย่อ: พืชต้านทานเป็นวิธีทางที่มีความเหมาะสมสำหรับใช้เป็นกลยุทธ์ในการควบคุมแมลงบั่ว (*Orseolia oryzae*) จึงได้ทำการ ศึกษาถึง ปฏิกริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับระยะ BC₄F₃₋₄ (อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105 x ชัยนาท 1) ที่มีแนวโน้มต้านทานต่อแมลงบั่ว จำนวน 7 สายพันธุ์ ร่วมกับพันธุ์ข้าวมาตรฐานทดลอง 4 สายพันธุ์ โดยทดสอบกับประชากรแมลงบั่ว กับประชากรแมลงบั่วเก็บรวบรวมจากพื้นที่นาใน 5 จังหวัด ในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย คือ พิษณุโลก พิจิตร กำแพงเพชร ตาก และแพร่ ในสภาพโรงเรือนทดลอง ทำการปลูกข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ ทั้ง 7 สายพันธุ์ กับพันธุ์มาตรฐานทดลอง 4 สายพันธุ์ คือ ข้าวเหนียวแดง 62 เอ็ม, กข1, อาบาญา และ ไทฮุง เนทีฟ 1 ในกระเบาะเพาะ ภายใต้กรงเลี้ยง และปล่อยแมลงบั่วเพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้ว ในระยะต้นกล้า ทำการตรวจนับจำนวนหลอดบั่วที่เกิดขึ้นในพันธุ์ข้าวทดสอบแต่ละพันธุ์ เมื่อข้าวอายุ 30 วัน โดยใช้มาตรฐานตาม Standard Evaluation System for Rice ของ IRRI และคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ที่เหมาะสม พบว่า ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ที่แสดงปฏิกริยาต้านทานครอบคลุมแหล่งของประชากรแมลงบั่วในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก ตาก และแพร่มากที่สุด คือ A12-26-201-436 ในขณะที่ทุกสายพันธุ์ไม่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่วจากพื้นที่จังหวัดพิจิตร และกำแพงเพชร

คำสำคัญ: แมลงบั่ว อาบาญา ขาวดอกมะลิ 105 ชัยนาท 1 ข้าวต้านทานแมลง

คำนำ

แมลงบั่ว (Rice gall midge, RGM) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Orseolia oryzae* (Wood-Mason) จัดอยู่ในวงศ์ Cecidomyiidae อันดับ Diptera เป็นหนึ่งในแมลงศัตรูข้าวที่มีความสำคัญมากในเอเชีย ลงทำลายข้าว โดยตัวหนอนแมลงบั่ว เข้าไปอาศัยกัดกินที่จุดกำเนิดของหน่ออ่อน (growing point) ของข้าว ทำให้ยอดข้าวเจริญเติบโตผิดปกติกลายเป็นหลอด ที่เรียกว่า “หลอดบั่ว หลอดหอม หรือหลอดรูป” ต้นข้าวและกอข้าวที่ถูกทำลายมีอาการแคระแกร็น เตี้ย ลำต้นกลม มีสีเขียวเข้ม ยอดที่ถูกทำลายไม่สามารถออกรวงได้ ทำให้ผลผลิตข้าวลดลงอย่างมาก ถึง 50-70 เปอร์เซ็นต์ (วีรฤทธิ, 2526) โดยทั่วไป พื้นที่การระบาดรุนแรงมักพบในช่วงฤดูฝน หรือช่วงฤดูนาปี คือ เดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม ในเขตภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากมีความชื้นสูงและสภาพอากาศเย็นเหมาะกับการเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ของแมลงบั่วมาก อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันกลับพบว่าพื้นที่การระบาดไม่ได้อยู่ในวงจำกัดเช่นเดิม แต่กลับขยายวงกว้างครอบคลุมพื้นที่ในภาคอื่น ๆ โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือตอนล่าง ภาคกลาง จนถึงภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่สำคัญการระบาดเกิดบ่อยครั้งมากขึ้น โดยไม่ได้จำกัดเฉพาะในฤดูฝนเท่านั้น และหลายพื้นที่ที่พบการระบาดไม่เคยมีประวัติการระบาดมาก่อน เช่น พื้นที่ปลูกข้าวใน

จังหวัดพิษณุโลก กำแพงเพชร สุโขทัย อุตรดิตถ์ นครสวรรค์ พิจิตร ฉะเชิงเทรา นครปฐม สุพรรณบุรี ปทุมธานี และเขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร การป้องกันและกำจัดเกษตรกรนิยมใช้สารฆ่าแมลงเป็นหลัก ทั้งชนิดหว่านและชนิดพ่น (สำนวน และวีรเทพ, 2548) ซึ่งสารเหล่านี้มีผลกระทบต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมเป็นอย่างมาก การควบคุมโดยใช้ข้าวพันธุ์ต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่วเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดที่มีศักยภาพ มีความเป็นไปได้ และปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม (ทัศนีย์, 2540)

ในประเทศไทย มีการค้นหาและพัฒนาข้าวต้านทานต่อแมลงอย่างต่อเนื่อง ข้าวหลักที่มีคุณสมบัติต้านทานในปัจจุบันคือเหนียวแดง 62 เอ็ม ซึ่งยังไม่ครอบคลุมความต้องการของเกษตรกรได้อย่างแท้จริง (พนินภา และคณะ, 2548) ดังนั้นการพัฒนาข้าวพันธุ์ต้านทานบั่วยังคงมีความจำเป็นอย่างมาก เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของเกษตรกรและทันต่อการเปลี่ยนแปลงและแพร่กระจายของบั่ว ในช่วงปี พ.ศ. 2548 ได้มีการนำข้าวพันธุ์อาบาญา ผสมกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และได้พัฒนาข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงจนกระทั่งถึง BC₄F₃ สำเร็จ (Jairin et al., 2007) ซึ่ง วีรเทพ และคณะ (2550) และ เจตน์ และคณะ (2552) ได้นำข้าวพันธุ์ปรับปรุงระหว่างข้าว ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) กับข้าวพันธุ์อาบาญา BC₄F₃ ผสมกับข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

และทำการผสมกลับร่วมกับการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงจนถึงระยะ BC_4F_3 ได้สำเร็จ จำนวน 6 สายพันธุ์ ซึ่งมีคุณลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงดังกล่าวมีแนวโน้มของการต้านทานต่อแมลงบั่วได้ และมีความเป็นไปได้ที่คุณลักษณะดังกล่าวเกี่ยวข้องกับยีนต้านทานแมลงบั่วชนิดใดชนิดหนึ่ง ประกอบกับในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา ยังไม่มีรายงานการทดสอบข้าวพันธุ์ อาบาญา หรือสายพันธุ์ปรับปรุง หรือลูกผสมที่เกี่ยวข้องกับข้าวพันธุ์นี้ กับแมลงบั่วในประเทศไทยเลย

ดังนั้นการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาถึงปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_3 (อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) X ชัยนาท 1 ต่อประชากรแมลงบั่วเก็บรวบรวมจากพื้นที่นาใน 5 จังหวัด คือ พิษณุโลก พิจิตร กำแพงเพชร ตาก และแพร่ และคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวลูกผสมกลับดังกล่าวที่สามารถต้านทานต่อแมลงบั่วสำหรับพัฒนาเป็นพันธุ์ข้าวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างแมลงเพื่อใช้ในการทดสอบ

เก็บรวบรวมประชากรแมลงบั่ว จำนวน 5 ประชากร จากพื้นที่นาชลประทานของพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก พิจิตร กำแพงเพชร ตาก และแพร่

ทำการเลี้ยงเพื่อคัดกรองแมลงบั่วที่ไม่สมบูรณ์ และขยายเพิ่มจำนวนแมลงบั่ว บนข้าวพันธุ์ไทซุง เนทีฟ 1 (TN1) ซึ่งอ่อนแอต่อแมลงบั่ว ในโรงเรือนทดลอง โดยทำการปล่อยแมลงบั่วตัวเต็มวัยลงไปเมื่อข้าวอายุ 15-20 วัน ให้ความชื้นกับต้นข้าวทุก ๆ 1-2 ชั่วโมง

การเตรียมสายพันธุ์ข้าวเพื่อใช้ในการทดสอบ

ทำการปลูกข้าวลูกผสม BC_4F_3 ของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง BC_4F_3 ((อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) X ชัยนาท 1) จำนวน 6 สายพันธุ์ โดยมีข้าวพันธุ์ เหมยนอง 62 เอ็ม เป็นพันธุ์มาตรฐานต้านทาน (resistant check) และพันธุ์ TN1 เป็นพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน (susceptible check) ในกระเบาะเพาะ ในสภาพทรงเลี้ยงแมลง ภายในโรงเรือน ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 5 ซ้ำ ข้าวที่ใช้ในการทดสอบมีอายุ 15-20 วัน

ทดสอบและคัดเลือกข้าวต้านทานจากข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4}

ทำการปล่อยประชากรของแมลงบั่วจากแหล่งปลูกของจังหวัดพิษณุโลก ในระยะตัวเต็มวัยเพศเมียที่กำลังท้อง ให้เข้าวางไข่บนข้าวทดสอบ ภายในกรงเพาะเลี้ยงต้นข้าวทดสอบแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 10 ตัว ต่อกรง หรือเฉลี่ย 1 ตัวต่อข้าว 5 ต้น เมื่อข้าวอายุ 30 วัน ทำการตรวจนับจำนวนหลอดบั่วที่เกิดขึ้นในพันธุ์ข้าวทดสอบแต่ละพันธุ์ โดยใช้มาตรฐานตาม Standard Evaluation System for Rice ของ IRRI (IRRI, 1988)

ดำเนินการซ้ำ แต่ใช้ประชากรแมลงบั่วจากพื้นที่อื่น ๆ จนครบทั้ง 5 จังหวัด รวบรวมผลและวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อจัดคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ที่ความเหมาะสมกับสภาพความต้านทานของแมลงบั่วในแต่ละพื้นที่นาในเขตภาคเหนือตอนล่าง

ผลการทดลอง

ผลการทดสอบปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) x ชัยนาท 1) จำนวน 7 สายพันธุ์ ร่วมกับ พันธุ์ข้าวมาตรฐานทดสอบ จำนวน 4 พันธุ์ โดยใช้กลุ่มประชากรแมลงบั่วจำนวน 5 พื้นที่ ภายหลังจากปล่อยแมลงบั่วลงทำลายพบว่า

ปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ต่อประชากรแมลงบั่ว จากพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก มีระดับความต้านทานจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีระดับความต้านทานระดับปานกลาง (MR) เทียบเท่ากับพันธุ์มาตรฐานต้านทานเปรียบเทียบ อาบาญา และพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอ คือ กข1 และ TN1 มีจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ A12-11-171-402 และ A12-26-201-436 มีความเสียหายจากการลงทำลายของแมลงบั่วคิดเป็นร้อยละ 9.54 และ 10.00 ตามลำดับ กลุ่มที่สอง คือ กลุ่มที่มีความอ่อนแอระดับปานกลาง (MS) มีจำนวน 5 สายพันธุ์ ประกอบด้วย A12-11-165-359, A12-11-170-381, A12-11-171-401, A12-26-201-428 และ A15-107-383-723 มีความเสียหายจากการลงทำลาย คิดเป็นร้อยละ 11.25, 10.91, 10.50, 14.12 และ 11.25 ตามลำดับ แต่อย่างไรก็

ตาม ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ทุกสายพันธุ์มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่วต่ำกว่าพันธุ์มาตรฐานต้านทาน เหมยนอง 62 เอ็ม ที่มีระดับความต้านทานที่สูง (R) (ตารางที่ 1)

ปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ต่อประชากรแมลงบั่ว จากพื้นที่จังหวัดพิจิตร จังหวัด

กำแพงเพชร ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ทุกสายพันธุ์ รวมทั้ง พันธุ์มาตรฐานต้านทาน และพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอเปรียบเทียบ มีความต้านทานแมลงบั่วอยู่ในระดับต่ำถึงต่ำมาก (S-HS) โดยพบความเสียหายจากการลงทำลายข้าวอยู่ในช่วงร้อยละ 92.66-100.00 และ 32.14-100.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ 3)

Table 1 Reactions of 7 ((Abhaya/KDML 105) X Chai Nat 1)) backcross lines and 4 standard rice varieties responded to rice gall midge (RGM) collected from Phitsanulok at 30 days after RGM released

Rice varieties	Silver shoot (%)	Damage rating	Reaction scale
A12-11-165-359	11.25	5	MS
A12-11-170-381	10.91	5	MS
A12-11-171-401	10.50	5	MS
A12-11-171-402	9.54	3	MR
A12-26-201-428	14.12	5	MS
A12-26-201-436	10.00	3	MR
A15-107-383-723	11.25	5	MS
RD1	10.50	5	MS
Abhaya	6.67	3	MR
TN1	9.17	3	MR
Muey Nawng 62 M	3.95	1	R

R=resistance, MR=mild resistance, MS=mild susceptible

Table 2 Reactions of 7 ((Abhaya/KDML 105) X Chai Nat 1)) backcross lines and 4 standard rice varieties responded to rice gall midge (RGM) collected from Phichit at 30 days after RGM released

Rice varieties	Silver shoot (%)	Damage rating	Reaction scale
A12-11-165-359	100.00	9	HS
A12-11-170-381	100.00	9	HS
A12-11-171-401	100.00	9	HS
A12-11-171-402	94.44	9	HS
A12-26-201-428	93.33	9	HS
A12-26-201-436	100.00	9	HS
A15-107-383-723	95.65	9	HS
RD1	100.00	9	HS
Abhaya	100.00	9	HS
TN1	92.66	9	HS
Muey Nawng 62 M	93.33	9	HS

HS=high susceptible

Table 3 Reactions of 7 ((Abhaya/KDML 105) X Chai Nat 1)) backcross lines and 4 standard rice varieties responded to rice gall midge (RGM) collected from Kampangpet at 30 days after RGM released

Rice varieties	Silver shoot (%)	Damage rating	Reaction scale
A12-11-165-359	86.21	9	HS
A12-11-170-381	96.30	9	HS
A12-11-171-401	100.00	9	HS
A12-11-171-402	100.00	9	HS
A12-26-201-428	93.10	9	HS
A12-26-201-436	88.24	9	HS
A15-107-383-723	100.00	9	HS
RD1	93.33	9	HS
Abhaya	100.00	9	HS
TN1	32.14	7	S
Muey Nawng 62 M	100.00	9	HS

S=susceptible, HS=high susceptible

ปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ต่อประชากรแมลงบั่ว จากพื้นที่จังหวัดตาก ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ มีระดับความต้านทานจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีความต้านทานระดับสูง (R) เทียบเท่าพันธุ์มาตรฐานต้านทานเปรียบเทียบ คือพันธุ์อาบาญา มีจำนวน 3 สายพันธุ์ คือ A12-11-165-359, A12-11-171-401 และ A12-26-201-428 พบความเสียหายจากการลงทำลาย คิดเป็นร้อยละ 5.00, 4.44 และ 4.00 ตามลำดับ กลุ่มที่สอง คือ กลุ่มที่มีระดับความต้านทานระดับปานกลาง (MR) เทียบเท่ากับพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอเปรียบเทียบ TN1 มีจำนวน 3 สายพันธุ์ คือ A12-11-170-381, A12-26-201-436 และ A15-107-383-723 พบความเสียหายคิดเป็นร้อยละ 10.00, 8.33 และ 8.00 ตามลำดับ กลุ่มที่สาม คือ กลุ่มที่มีระดับความต้านทานระดับต่ำ (MS) คือ A12-11-171-402 พบความเสียหายคิดเป็นร้อยละ 10.91 ในการทดสอบปฏิกิริยากับประชากรบั่วจากจังหวัดตาก พบว่าข้าวพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอ กข1 มีปฏิกิริยาด้านทานในระดับสูง (R) เช่นเดียวกับกลุ่มแรก อย่างไรก็ตามข้าวทุกสายพันธุ์ รวมทั้งพันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบมีระดับความต้านทานต่ำกว่าพันธุ์ เหมยนอง 62 เอ็ม ที่มีระดับความต้านทานสูงมาก (HR) (ตารางที่ 4)

ปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ต่อประชากรแมลงบั่ว จากพื้นที่จังหวัดแพร่ ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ มีระดับความต้านทานจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีระดับความต้านทานระดับปานกลาง (MR) เทียบเท่ากับพันธุ์มาตรฐานต้านทานเปรียบเทียบ คือ พันธุ์อาบาญา มีจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ A12-11-170-381 และ A12-26-201-436 พบความเสียหายคิดเป็นร้อยละ 5.95 และ 6.67 กลุ่มที่สอง คือ กลุ่มที่มีความอ่อนแอระดับปานกลาง (MS) เทียบเท่ากับพันธุ์มาตรฐานต้านทานเปรียบเทียบ พันธุ์ เหมยนอง 62 เอ็ม มีจำนวน 1 สายพันธุ์ คือ A15-107-383-723 ความเสียหายคิดเป็นร้อยละ 15.49 กลุ่มที่สาม คือ กลุ่มที่มีความอ่อนแอระดับสูง (S) มีจำนวน 3 สายพันธุ์ ประกอบด้วย A12-11-165-359, A12-11-171-401, A12-11-171-402 และ A12-26-201-428 พบความเสียหาย คิดเป็นร้อยละ 31.91, 26.32, 42.15 และ 28.57ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าข้าวพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอเปรียบเทียบ กข1 และ TN1 แสดงปฏิกิริยาด้านทานต่อแมลงบั่วจากจังหวัดแพร่ในระดับสูง (R) (ตารางที่ 5)

Table 4 Reactions of 7 ((Abhaya/KDML 105) X Chai Nat 1)) backcross lines and 4 standard rice varieties responded to rice gall midge (RGM) collected from Tak at 30 days after RGM released

Rice varieties	Silver shoot (%)	Damage rating	Reaction scale
A12-11-165-359	5	1	R
A12-11-170-381	10	3	MR
A12-11-171-401	4.44	1	R
A12-11-171-402	10.91	5	MS
A12-26-201-428	4	1	R
A12-26-201-436	8.33	3	MR
A15-107-383-723	8	3	MR
RD1	4	1	R
Abhaya	1.82	1	R
TN1	7.48	3	MR
Muey Nawng 62 M	0	0	HR

R=resistance, MR=mild resistance, MS=mild susceptible, HR=high resistance

Table 5 Reactions of 7 ((Abhaya/KDML 105) X Chai Nat 1)) backcross lines and 4 standard rice varieties responded to rice gall midge (RGM) collected from Phrae at 30 days after RGM released

Rice varieties	Silver shoot (%)	Damage rating	Reaction scale
A12-11-165-359	31.91	7	S
A12-11-170-381	5.95	3	MR
A12-11-171-401	26.32	7	S
A12-11-171-402	42.15	7	S
A12-26-201-428	28.57	7	S
A12-26-201-436	6.67	3	MR
A15-107-383-723	15.49	5	MS
RD1	10.39	3	MR
Abhaya	6.41	3	MR
TN1	9.88	3	MR
Muey Nawng 62 M	15.00	5	MS

MR=mild resistance, MS=mild susceptible, S=susceptible

วิจารณ์

ปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับและข้าวพันธุ์เปรียบเทียบที่ตอบโต้ต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่วมีความแตกต่างไปตามแหล่งที่มาของประชากรบั่วเป็น

อย่างมาก ปฏิกิริยาของพันธุ์ลูกผสมกลับ ส่วนใหญ่พบการตอบสนองต่อประชากรแมลงบั่วในพื้นที่ต่าง ๆ สอดคล้องกับปฏิกิริยาของข้าวพันธุ์อาญาามากที่สุด โดยสายพันธุ์ข้าวที่มีแนวโน้มต้านทานได้ดีแตกต่างไปตามพื้นที่กล่าวคือ ในจังหวัดพิษณุโลกพบว่าข้าวสาย

พันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ที่เหมาะสม คือ A12-11-171-402 และ A12-26-201-436 ในขณะที่จังหวัดแพร่ คือ A12-11-170-381 และ A12-26-201-436 ส่วนในพื้นที่จังหวัดตาก คือ A12-11-165-359, A12-11-170-381, A12-11-171-401, A12-26-201-428, A12-26-201-436 และ A15-107-383-723 ส่วนในจังหวัดพิจิตรและกำแพงเพชรพบว่าทุกสายพันธุ์ลูกผสมกลับแสดงปฏิกิริยาไม่ต้านทานต่อประชากรแมลงบั่วจากพื้นที่ดังกล่าวได้นอกจากนี้ พบว่าพันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบต่าง ๆ ที่มีรายงานว่าต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่วในปัจจุบันคือ เหมยนอง 62 เอ็ม (พันธุ์นา และคณะ, 2548) และพันธุ์อาบาญา (Shrivastava *et al.*, 1994; Nanda *et al.*, 2010) กลับมีปฏิกิริยาได้ตอบในระดับอ่อนแอกับประชากรบั่วในหลายพื้นที่ ในขณะที่พันธุ์ที่มีรายงานว่าอ่อนแอต่อประชากรแมลงบั่วในปัจจุบัน คือ กข1 (พันธุ์นา และคณะ, 2548; กุลธนา และคณะ, 2550) และพันธุ์ TN1 (Nanda *et al.*, 2010; Sama *et al.*, 2012) กลับแสดงผลต้านทานในระดับ R-MR ในหลายพื้นที่เช่นกัน ผลการศึกษาแสดงถึงความหลากหลายของประชากรแมลงบั่วแตกต่างกันไปตามพื้นที่อย่างชัดเจน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ รัตติยา (2549) พันธุ์นาและคณะ (2548), ปริดา และพันธุ์นา (2552) และ Katiyar *et al.* (2001) ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวมีแนวโน้มของการเกิดลักษณะของชีวชนิดขึ้นได้ในอนาคตดังที่พบรายงานรายงานในอินเดีย (Vijayalakshmi *et al.*, 2006) โดยลักษณะของชีวชนิดเกิดจากปฏิกิริยาการตอบโต้ของแมลงบั่วต่อข้าวพันธุ์ต่าง ๆ แตกต่างกัน (Sardesai *et al.*, 2001) ซึ่งปัจจุบันการตรวจสอบชีวชนิดของแมลงบั่วด้วยพันธุ์ข้าวต่าง ๆ แล้ว การตรวจสอบด้วยดีเอ็นเอเครื่องหมายกำลังได้รับการพัฒนาขึ้นอย่างต่อเนื่อง (Behura *et al.*, 1999; Bentur *et al.*, 2011) ทำให้การตรวจสอบชีวชนิดของแมลงเป็นไปได้สะดวกและรวดเร็วขึ้น และช่วยให้สามารถเตรียมการป้องกันด้วยการคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ปลูกได้อย่างเหมาะสมรวดเร็ว สอดคล้องกับคุณลักษณะของประชากรบั่วในพื้นที่นั้น ๆ

อย่างไรก็ตาม การระบาดของแมลงบั่วที่พบในประเทศไทย ในปัจจุบันนั้นได้ขยายวงกว้างมากขึ้นจากเดิมจำกัดอยู่เพียงในพื้นที่ในเขตภาคเหนือและ

ตะวันออกเฉียงเหนือเท่านั้น แต่ขยายวงกว้างครอบคลุมพื้นที่ในภาคอื่น ๆ โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือตอนล่าง ภาคกลาง จนถึงภาคตะวันออก ตั้งแต่จังหวัดพิษณุโลก กำแพงเพชร สุโขทัย อุตรดิตถ์ นครสวรรค์ พิจิตร ฉะเชิงเทรา นครปฐม สุพรรณบุรี ปทุมธานี จนถึงเขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร ซึ่งในพื้นที่ที่พบการระบาดเพิ่มขึ้นดังกล่าวยังไม่มีพันธุ์ข้าวที่สามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่วเหล่านี้ได้อย่างชัดเจน ซึ่งในขณะนี้คณะผู้วิจัยกำลังเร่งค้นหาพันธุ์ต้านทานที่เหมาะสมสำหรับพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานเพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว รวมทั้งการศึกษาถึงความแตกต่างในระดับชีวชนิดของประชากรบั่วที่พบในเขตพื้นที่ต่าง ๆ อย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ในขณะที่พันธุ์ต้านทานแมลงบั่วยังอยู่ในขั้นตอนการพัฒนา การลดการเข้าทำลายของแมลงบั่วในพื้นที่ จำเป็นอย่างยิ่งต้องอาศัยการบูรณาการวิธีการควบคุมในรูปแบบต่าง ๆ ร่วมกันอย่างเหมาะสม เช่น การตรวจแมลงบั่วนาข้าวอย่างสม่ำเสมอ การปรับระยะเวลาปลูก ระยะเวลาปักดำ (จินตนาและคณะ, 2548) การปลูกพืชสลับ การใช้กับดักแสงไฟ รวมทั้งการเสริมสร้างความรู้ความเข้าใจแก่เกษตรกรอย่างต่อเนื่อง (บุญรัตน์และคณะ, 2550) เป็นต้น

สรุป

ในการศึกษาปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ทั้ง 7 สายพันธุ์ ร่วมกับพันธุ์ข้าวมาตรฐาน 4 สายพันธุ์ โดยใช้กลุ่มประชากรแมลงบั่ว จากพื้นที่ 5 จังหวัด คือ พิษณุโลก พิจิตร กำแพงเพชร ตาก และแพร่ พบว่าข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ทั้ง 7 สายพันธุ์ มีปฏิกิริยาต้านทานต่อการเข้าทำลายของกลุ่มประชากรแมลงบั่วจากพื้นที่ต่าง ๆ ในภาคเหนือตอนล่างแตกต่างกัน โดยที่ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ที่เหมาะสมกับพื้นที่ พิษณุโลก แพร่ และตาก มีจำนวน 2, 2 และ 6 สายพันธุ์ ตามลำดับ ส่วนในพื้นที่จังหวัดพิจิตร และกำแพงเพชร พบว่าทุกสายพันธุ์ไม่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่ว ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ที่แสดงปฏิกิริยาต้านทานครอบคลุมแหล่งของประชากรแมลงบั่วในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลกและแพร่มากที่สุด คือ

A12-26-201-436 ส่วนในพื้นที่จังหวัดตากพบว่า ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ทุกสายพันธุ์ยกเว้น A12-11-171-402 แสดงความต้านทานต่อประชากรแมลงบั่ว

เอกสารอ้างอิง

กุลชญา เกศสุวรรณ ปริดา เสี่ยงใหญ่ พจน์ วัจนะภูมิ พันนิภา ยาใจ สุเทพ วงษ์ใน กาญจนา พิบูลย์ บุญรัตน์ จงดี และจินตนา ทยาธรรม. 2550. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานแมลงบั่ว. หน้า 134-143. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2550. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 19-20 กุมภาพันธ์ 2550. ณ ห้องประชุมพิพิธภัณฑการเกษตรเฉลิมพระเกียรติฯ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี.

จินตนา ทยาธรรม เรวัต ภัทรสุทธิ วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ และสมใจ สาลีโท. 2548. อิทธิพลของระยะเวลาปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ระยะปักดำต่างกันต่อการทำลายของแมลงบั่ว. หน้า 87-91. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ ข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2548. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 7-8 มีนาคม 2548 ณ โรงแรม รอยัลฮิลล์ รีสอร์ท จ.นครนายก.

เจตน์ ศฤกษ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สุรเดช ปาละวิสุทธิ์ และศิริพร กออินทร์ศักดิ์. 2552. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวปรับปรุง BC₄F₁ ด้วยยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Qbph6 และ Qbph 12) โดยเทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย. วารสารสิ่งแวดล้อมและสุขภาพ 2(1): 37-51.

ทัศนีย์ สงวนสัจ. 2540. บทบาทของพันธุ์กรรมต้านทานโรคและแมลงกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวไทย. เอกสารวิชาการศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 173 หน้า.

บุญรัตน์ จงดี จินตนา ทยาธรรม วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ ปริดา เสี่ยงใหญ่ กาญจนา พิบูลย์ กุลชญา เกศ

สุวรรณ และพันนิภา ยาใจ. 2550. การมีส่วนร่วมของเกษตรกรในการป้องกันกำจัดแมลงบั่ว: กรณีศึกษาที่จังหวัดน่าน. หน้า 231-236. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2550. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 19-20 กุมภาพันธ์ 2550. ณ ห้องประชุมพิพิธภัณฑการเกษตรเฉลิมพระเกียรติฯ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี.

ปริดา เสี่ยงใหญ่ และพันนิภา ยาใจ. 2552. การวิจัยและพัฒนาการจัดการแมลงบั่ว. หน้า 255-266. ใน: เอกสารประกอบการประชุมข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2552. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 9-11 มิถุนายน 2552 ณ โรงแรมซีพีริช จอมเทียน พัทยา จ.ชลบุรี.

พันนิภา ยาใจ จินตนา ทยาธรรม ปริดา เสี่ยงใหญ่ และสุเทพ วงษ์ใน. 2548. ปฏิกริยาของพันธุ์ข้าวต่อการทำลายของแมลงบั่วภาคเหนือตอนบนในสภาพโรงเรือนปฏิบัติการ. หน้า 84-86. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ ข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2548. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 7-8 มีนาคม 2548 ณ โรงแรม รอยัลฮิลล์ รีสอร์ท จ.นครนายก.

รัตติยา ชราพก. 2549. ความหลากหลายทางสายพันธุ์ของประชากรแมลงบั่วในภาคเหนือของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สุรเดช ปาละวิสุทธิ์ ศิริพร กออินทร์ศักดิ์ และธานี ศรีวงศ์ชัย. 2550. การคัดเลือกดีเอ็นเอเครื่องหมายแบบ SSR ของยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål); Delphacidae, Homoptera) ชนิด Qbph6 และ Qbph12 จากข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง Abhaya และพันธุ์ชัยนาท 1. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 25(1): 47-55.

- วีรฤติ กตัญญกุล. 2526. การบริหารแมลงศัตรูข้าว. กอง
กึ่งและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.,
กรุงเทพฯ. 119 หน้า.
- สำนวน ฉิมพกา และวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2548. ปัจจัยที่
มีผลต่อการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าว
ของเกษตรกร อำเภอตะพานหิน จังหวัดพิจิตร.
วารสารเกษตรนเรศวร 8(1): 77-94.
- Behura, S. K., S. C. Sahu, S. Rajamani, A. Devi, R.
Mago, S. Nair and M. Mohan. 1999.
Differentiation of Asian rice gall midge,
Orseolia oryzae (Wood-Mason), biotypes
by sequence characterized amplified
regions (SCARs). Insect Molecular Biology
8: 391-397.
- Bentur, J. S., D. K. Sinha, C. H. Padmavathy, C.
Revathy, M. Muthulakshmi and J. Nagaraju.
2011. Isolation and characterization of
microsatellite loci in the Asian rice gall
midge (*Orseolia oryzae*) (Diptera:
Cecidomyiidae). International Journal of
Molecular Sciences 12: 755-772.
- IRRI. 1988. Standard Evaluation System for Rice.
International Rice Research Institute, Los
Banos, Philippines. 54 pp.
- Jairin, J., K. Phengrat, S. teangdeerith, A. Vanavichit
and T. Toojinda. 2007. Mapping of a broad-
spectrum brown planthopper resistance
gene, *Bph3*, on rice chromosome 6.
Molecular Breeding 19: 35-44.
- Katiyar, S. K., Y. Tan, B. Huang, G. Chandel, Y. Xu,
Y. Zhang, Z. Xie and J. Bennett. 2001.
Molecular mapping of gene *Gm-6(t)* which
confers resistance against four biotypes of
Asian rice gall midge in China. Theoretical
and Applied Genetics 103: 953-61.
- Nanda, A., S. K. Mohanty, R. S. Panda, L. Behera, A.
Prakash and S. C. Sahu. 2010. Flanking
microsatellite markers for breeding varieties
against Asian rice gall midge. Tropical Plant
Biology 3: 219-226.
- Sama, V. S. A. K., K. Himabindu, S. Bhaskar Naik, R.
M. Sundaram, B. C. Viraktamath and J. S.
Bentur. 2012. Mapping and marker-assisted
breeding of a gene allelic to the major Asian
rice gall midge resistance gene *Gm8*.
Euphytica 187: 393-400.
- Sardesai, N., K. R. Rajyashri, S. K. Behura, S. Nair
and M. Mohan. 2001. Genetic, physiological
and molecular interactions of rice and its
major dipteran pest, gall midge. Plant Cell
Tissue and Organ Culture 64: 115-131.
- Shrivastava, M. N., A. Kumar, S. K. Shrivastava and
R. K. Sahu. 1994. A new gene for resistance
to gall midge in rice variety Abhaya. Rice
Genetics Newsletter 10: 79-80.
- Vijayalakshmi, P., S. Amudhan, K. Himabindu, C.
Cheralu and J. S. Bentur. 2006. A new
biotype of the Asian rice gall midge
Orseolia oryzae (Diptera: Cecidomyiidae)
characterized from the Warangal population
in Andhra Pradesh, India. International
Journal of Tropical Insect Science 26: 207-
211.

การสำรวจเพลี้ยไฟหม่อนและเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

Survey of Mulberry Thrips and Their Entomopathogenic Fungi

ณัฐกานต์ งามแสงฤทธิ^{1/} จิราพร กุลสาริน^{1*} สิริญา คัมภีโร^{1/}
และ เสาวณีย์ อภิญญาวัฒน์^{2/}
Nuttagan Ngamsaengrit^{1/}, Jiraporn Kulsarin^{1*}, Siriya Kumpiro^{1/}
and Saowanee Apinyanuwat^{2/}

Abstract: The survey and collection of thrips infested on mulberry tree were conducted in 7 mulberry plantation areas in Chiang Mai province. The most outbreak thrips was *Pseudodendrothrips* sp. and found 30 thrips per mulberry shoot in Fang district. The monthly thrips survey was conducted in mulberry fields at Queen Sirikit Sericulture Center, Chiang Mai (Maejo) from October 2013 to February 2014. The heavy thrip infestation was found in February as 64.06 thrips per mulberry shoot which caused serious losses to mulberry leaves. Currently, many high effective microorganisms have been used to control the sucking insect pest and safe to environment. The entomopathogenic fungi infected on thrips found in mulberry tree were collected and isolated. The totals of four isolates of *Verticillium lecanii* and three isolates of *Isaria fumosorosea* were detected from thrips cadavers and their growth was compared. The results showed that the growth of three *I. fumosorosea* was greater than those in *V. lecanii* at 25 ±2°C and room temperature (30 ±0.84°C). The highest growth of fungal colonies was found in *I. fumosorosea* isolate CMU-IsFa 2 at both 25°C and room temperature at the average of 7.58 and 7.47 centimeter, respectively.

Keywords: Entomopathogenic fungi, mulberry tree, Thrips (*Pseudodendrothrips* sp.)

^{1/} สาขาวิชากีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

^{2/} ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ เชียงใหม่ 399 หมู่ 12 ต.หนองควาย อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 50230

^{2/} The Queen Sirikit Sericulture Center (Chiang Mai) 399, Moo 12, Tambon Nong Kwai, Amphoe Hang Dong, Chiang Mai 50230

* Corresponding author: Tel. 081-8836800, Fax: 053-944666, Email: jiraporn.k@cmu.ac.th

บทคัดย่อ: การสำรวจและรวบรวมเพลี้ยไฟในแปลงหม่อนจังหวัดเชียงใหม่ 7 แห่ง พบการระบาดของเพลี้ยไฟในแปลงหม่อนของเกษตรกร อำเภอฝางมากที่สุด เพลี้ยไฟที่เข้าทำลายต้นหม่อนคือเพลี้ยไฟหม่อน *Pseudodendrothrips* sp. มีจำนวนเฉลี่ย 30 ตัวต่อยอด และเมื่อทำการสำรวจเพลี้ยไฟที่ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ เชียงใหม่ (ส่วนแยกแม่ใจ) ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557 พบว่าในเดือนกุมภาพันธ์ มีการระบาดของเพลี้ยไฟในปริมาณมาก เฉลี่ย 64.06 ตัวต่อยอด ซึ่งการระบาดของเพลี้ยไฟสร้างความเสียหายต่อใบหม่อน ปัจจุบันมีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดแมลงประเภทปากดูดโดยไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จากการศึกษากำหนดรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคแมลงของเพลี้ยไฟบนต้นหม่อนสามารถจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงได้ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *Verticillium lecanii* จำนวน 4 ไอโซเลท และเชื้อรา *Isaria fumosorosea* จำนวน 3 ไอโซเลท เมื่อทำการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง พบว่า *I. fumosorosea* ทั้ง 3 ไอโซเลทมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า *V. Lecanii* ทั้งที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 0.84 องศาเซลเซียส) โดย *I. fumosorosea* ไอโซเลท CMU-IsFa 2 มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีกว้างที่สุดทั้งที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.58 และ 7.47 เซนติเมตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: เชื้อราสาเหตุโรคแมลง ต้นหม่อน เพลี้ยไฟ (*Pseudodendrothrips* sp.)

คำนำ

หม่อนเป็นไม้ยืนต้นจำพวกไม้พุ่มใบมีลักษณะรูปร่างหลายแบบ เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียเป็นส่วนใหญ่ เป็นพืชกึ่งร้อน สามารถปลูกขยายพันธุ์ได้ดีทั่วไปในประเทศไทย และดูแลง่าย (ไชยา, 2532) ในประเทศไทยมีแมลงหลายชนิดที่เป็นศัตรูที่สำคัญของหม่อน การเข้าทำลายของแมลงศัตรูต้นหม่อนส่วนมากเป็นแมลงประเภทปากกัด และปากดูด แมลงประเภทปากกัด ได้แก่ ตัวงเจาะลำต้น หนอนกระทู้หม่อน และปลวก ส่วนแมลงประเภทปากดูด ได้แก่ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอยดำ เพลี้ยหอยนิ่ม เพลี้ยจักจั่น แมลงหวี่ขาว เพลี้ยไฟ และไร (ปรีชา, 2550) เพลี้ยไฟหม่อน (*Pseudodendrothrips* sp.) เป็นเพลี้ยไฟขนาดเล็ก มีสีเหลืองอ่อน ปีกมีสีน้ำตาล ในประเทศไทยพบเพียงชนิดเดียว มีลักษณะเด่นที่หนวดปล้องที่ 1-2 มีสีน้ำตาลเข้มกว่าปล้องอื่น ๆ ส่วนหัวบริเวณระหว่างฐานของหนวดสีน้ำตาล และบริเวณอกปล้องแรกมีรอยแต้มสีน้ำตาล 2 จุด ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยสามารถสร้างความเสียหายให้แก่พืชได้ โดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืชในส่วนของยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอก และผล ทำให้เกิดรอยด่าง สีขีด ขอบใบแห้ง ตาอ่อนชะงักการเจริญเติบโต นอกจากนี้ความเสียหายจากเพลี้ยไฟยังเกิดจากสิ่งขับถ่ายที่เพลี้ยไฟถ่ายออกมา มีลักษณะเป็นหยด

น้ำเล็ก ๆ ติดอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ของพืช เมื่อหยดน้ำที่ขับถ่ายออกมาแห้งทำให้เกิดเป็นจุดสีดำนบนพืช (ศิริณี, 2544) การทำลายของเพลี้ยไฟหม่อน ไม่ทำลายผลหม่อนโดยตรง แต่ดูดกินน้ำเลี้ยงจากยอดและใบของหม่อน และพบการระบาดของแมลงตั้งแต่เดือนมิถุนายนจนถึงเดือนมกราคม (เบญจวรรณ, 2546)

การใช้เชื้อราแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการควบคุมโดยชีววิธีที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติ (natural biological control) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ หรือใช้ประโยชน์จากเชื้อโรคของแมลงชนิดต่าง ๆ เพื่อการควบคุมหรือจัดการกับแมลงศัตรูพืชได้อีกหลายทาง โดยเชื้อราที่เข้าก่อโรคกับแมลงมีหลายชนิดที่เป็นแบบ obligate parasite คือเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่แท้จริง สามารถเจริญเติบโตเฉพาะในตัวแมลงเท่านั้น ส่วนแบบ semi parasite สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในตัวแมลง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และแบบ saprophyte สามารถเจริญเติบโตโดยอาศัยบนซากพืช ซากสัตว์ และในอินทรีย์วัตถุที่เชื้อราใช้เป็นอาหาร (มาลี, 2551) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณลักษณะของเชื้อราที่เจาะจงกับชนิดแมลง และรูปแบบของการควบคุมจุลินทรีย์ หรือเชื้อโรคที่ทำให้เกิดโรคแมลงที่ได้มีการใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย รา โปรโตซัว และไส้เดือนฝอย การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงมีความเหมาะสม

มากกว่าการใช้เชื้อโรคแมลงชนิดอื่นเพราะเชื้อโรคชนิดอื่นแมลงต้องกินเข้าไปในร่างกายถึงสามารถก่อโรคกับแมลงได้ เชื้อราสาเหตุโรคแมลงถูกพบมากกว่า 700 ชนิด แต่มีไม่กี่ชนิดที่พบได้บ่อย และมีความสำคัญทางการเกษตร ได้แก่ *Beauveria* sp., *Metarhizium* sp., *Isaria* sp. (= *Paecilomyces* sp.), *Aschersonia* sp., *Verticillium* sp. และ *Entomophthora* sp. เป็นต้น (Moore-Landecker, 1996; Deshpande, 1999; Hywel-Jones, 2002) ซึ่งมีความสำคัญในการควบคุมประชากรของแมลงทางธรรมชาติ แต่ในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติไม่ได้มีการเกิดขึ้นอย่างรุนแรง อาจเกิดในช่วงที่เหมาะสม เช่น ฤดูฝน ที่มีความชื้นในบรรยากาศที่เอื้ออำนวยต่อการเกิดโรคจากเชื้อรา ทำให้ปริมาณของแมลงศัตรูพืชลดลงในช่วงเวลาหนึ่ง การคัดเลือกเชื้อราเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญต่อแมลงชนิดนั้น ๆ การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชประสบความสำเร็จในห้วงปฏิบัติการในปี ค.ศ.1990 โดยนำเชื้อรา *Aschersonia* sp. ควบคุม citrus whitefly (Elander and Lower, 1992) การศึกษาของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่เข้าทำลายก่อโรคกับเพลี้ยไฟ ได้แก่ *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *I. fumosorosea* และ *V. lecanii* (Lacey and Goettel, 1995) พบว่าเพลี้ยไฟ *Thrips tabaci* อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *V. lecanii*, *B. bassiana*, *M. anisopliae* และ *I. fumosorosea* (Gillespie, 1986; Fransen, 1990) แต่เพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *V. lecanii*, *B. bassiana* และ *M. anisopliae* มากกว่า *I. fumosorosea* (Brownbridge, 1995; Vestergaard et al., 1995) ส่วนในสภาพโรงเรือนการระบาดของเพลี้ยไฟพบว่าเชื้อรา *V. lecanii* สามารถควบคุมประชากรของเพลี้ยไฟที่ระบาดในโรงเรือนได้สำเร็จ (Helyer et al., 1992) นอกจากนี้ในต่างประเทศมีการผลิต และจำหน่ายเชื้อรา *I. fumosoroseus* Apopka Strain 97 เป็นสารชีวภัณฑ์สำหรับควบคุมเพลี้ยไฟ และแมลงศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ ที่ปลูกในสภาพโรงเรือน (Weeden et al., 2009) ในการศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นการศึกษาเพลี้ยไฟ และเชื้อราสาเหตุโรคของเพลี้ยไฟที่เข้าทำลายต้นหม่อน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ และเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟและตัวอย่างดิน

เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เป็นโรคตาย และตัวอย่างดินในแปลงปลูกหม่อน จำนวน 7 แห่ง ในจังหวัดเชียงใหม่ พร้อมทั้งสำรวจปริมาณเพลี้ยไฟที่ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ เชียงใหม่ (ส่วนแยกแม่ใจ) โดยตัวอย่างแมลงที่เก็บได้นำมาใส่กล่องพลาสติกกรองด้วยกระดาษกรอง และหยดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเพื่อให้ความชื้นแก่ตัวอย่างแมลง ส่วนการเก็บตัวอย่างดินบริเวณที่พบแมลงตาย ทำการเก็บตัวอย่างดินลึกจากผิวหน้าดิน 10 เซนติเมตร ประมาณ 0.5 กิโลกรัม บรรจุถุงพลาสติก ตัวอย่างที่เก็บได้ทั้งหมดทำการบันทึกข้อมูลของสถานที่ วัน เดือน ปี และรหัสหมายเลขตัวอย่างทำการศึกษาแยกเชื้อราบนตัวแมลง และแยกเชื้อราจากตัวอย่างดินในห้องปฏิบัติการ ส่วนตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เข้าทำลายต้นหม่อน นำมาทำสไลด์ และจำแนกชนิด ตามวิธีการของศิริณี (2554)

2. การจำแนกชนิด วิเคราะห์ และเพาะเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเก็บรวบรวม

2.1 การแยกเชื้อราจากแมลง โดยการนำแมลงที่มีเส้นใยปกคลุมมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ซึ่งเติม lactic acid เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย ทำการแยกเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนส่วนของเชื้อรา นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่เขี่ยเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีกครั้ง เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ นำเชื้อราที่แยกได้มาทำการจำแนกชนิดโดยนำมาเลี้ยงโดยวิธี slide culture เป็นเวลา 5-7 วัน จำแนกชนิดของเชื้อราที่เจริญบนสไลด์ โดยตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะของโคโลนี ก้านชูสปอร์ (conidiophores) และ โคนิเดีย

2.2 การแยกเชื้อราจากตัวอย่างดิน โดยวิธี Dilution pour plate นำตัวอย่างดินที่เก็บมาจากแปลงปลูกหม่อนปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ผสมกับ

น้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้ดินกระจายตัวประมาณ 10-20 นาที ใช้ปิเปตดูดสารแขวนลอยดินปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนาน 1 นาที จากนั้นดูดสารแขวนลอยดินจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุ่น (ประมาณ 42-45 องศาเซลเซียส) โดยผสมให้สารแขวนลอยดินและอาหารเข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 5 วัน เมื่อกลุ่มเชื้อราเจริญบนผิวหน้าของอาหาร ทำการแยกเชื้อในตู้เขี่ยเชื้อ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนส่วนของเชื้อรา นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่แล้ว เชี่ยเชื้อไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีกครั้ง เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น นำเชื้อราที่แยกได้มาทำการจำแนกชนิด เช่นเดียวกับการจำแนกชนิดเชื้อราจากตัวแมลง

3. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง

เมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่สามารถแยกได้จากตัวอย่างเพลี้ยไฟ และจากตัวอย่างดินเตรียมเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเพาะเลี้ยงบนจานเลี้ยงเชื้อ ในตู้เขี่ยเชื้อโดยใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนส่วนของเชื้อรา นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีอาหาร PDA ทำการเก็บรักษาเชื้อราที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเชื้อราที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อรา ตามระยะเวลาที่กำหนด คำนวณหาค่าเฉลี่ย วัดขนาดโคโลนีเชื้อราในแต่ละชนิด เปรียบเทียบระหว่างการเก็บรักษาที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

ผลและวิจารณ์

1. การสำรวจ และเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟและตัวอย่างดิน

การเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟ และตัวอย่างดินในแปลงหม่อน จำนวน 7 แห่ง ในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่า แปลงหม่อนของเกษตรกร อำเภอฝาง มีพื้นที่ปลูก

หม่อน 10 ไร่ พบการระบาดของเพลี้ยไฟบนใบหม่อนมากที่สุด จำนวนเฉลี่ย 30 ตัวต่อยอด รองลงมาได้แก่ ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ เชียงใหม่ (ส่วนแยกแม่ใจ) มีพื้นที่ปลูกหม่อน 14 ไร่ พบการระบาดของเพลี้ยไฟบนใบหม่อนจำนวนเฉลี่ย 20 ตัวต่อยอด ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ เชียงใหม่ พื้นที่ปลูกหม่อน 4 ไร่ สถานีวิจัยศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิยะ มีพื้นที่ปลูกหม่อน 1 ไร่ แปลงหม่อนของเกษตรกร อำเภอฝางมีพื้นที่ปลูกหม่อน 1.5 ไร่ และแปลงหม่อนของเกษตรกร อำเภอแม่แตง มีพื้นที่ปลูกหม่อน 1 ไร่ ตามลำดับ จากการสุ่มนับจำนวนเพลี้ยไฟทั้ง 5 แห่ง พบว่ามีจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 10 ตัวต่อยอด มีการระบาดของเพลี้ยไฟค่อนข้างน้อย เนื่องจากแปลงหม่อนมีพื้นที่ไม่มากนักทำให้มีการดูแลได้อย่างทั่วถึง โดยมีการตัดแต่งกิ่งหม่อนตลอดทั้งปี มีการให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ และการตัดแต่งกิ่ง การทำให้แปลงปลูกหม่อนขึ้น หรือให้ระบบน้ำแบบสปริงเกอร์จะทำให้ปริมาณเพลี้ยไฟลดลง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2550)

การสำรวจเพลี้ยไฟที่ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ เชียงใหม่ (ส่วนแยกแม่ใจ) ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557 พบว่า ในช่วงเดือนมกราคม และเดือนกุมภาพันธ์ เป็นช่วงที่ต้นหม่อนมีการแตกยอด และอากาศร้อนขึ้น จึงเริ่มมีการระบาดของเพลี้ยไฟ ทำให้พบเพลี้ยไฟในปริมาณมาก โดยพบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 35.03 และ 64.06 ตัวต่อยอด ตามลำดับ ส่วนเดือนตุลาคม พบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.06 ตัวต่อยอด ในเดือนพฤศจิกายนไม่พบเพลี้ยไฟ เนื่องจากเดือนตุลาคมมีฝนตกอย่างต่อเนื่อง และในเดือนพฤศจิกายนมีการตัดแต่งกิ่งหม่อนทำให้ไม่มีการระบาดของเพลี้ยไฟ (ภาพที่ 1) สอดคล้องกับการรายงานของวรลักษณ์ (2544) และ Talekar (1991) ที่พบว่าในประเทศไทยเพลี้ยไฟสามารถระบาดได้ตลอดปี โดยเฉพาะเมื่อมีอากาศร้อน แห้งแล้งถือเป็นช่วงที่มีการระบาดของเพลี้ยไฟ และแมลงศัตรูหม่อนมากที่สุด

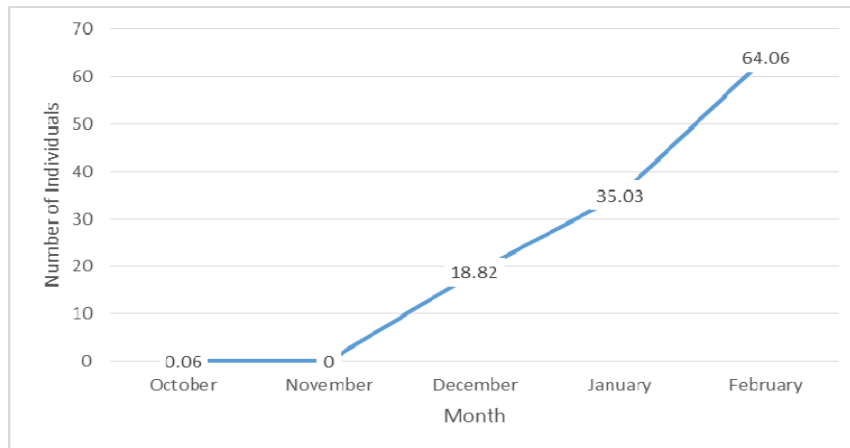


Figure 1 The average of thrips found on the shoot of mulberry trees at The Queen Sirikit Sericulture Center Chiang Mai (Maejo) from October 2556 to February 2557

จากการสำรวจแปลงหม่อนทั้ง 7 แห่ง ได้ทำการเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟมาทำสไลด์ และจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ พบว่า เป็นเพลี้ยไฟชนิดเดียวกันคือ เพลี้ยไฟหม่อน *Pseudodendrothrips* sp. อยู่ในอันดับย่อย Terebrantia วงศ์ Thripidae วงศ์ย่อย Thipinae สกุล *Pseudodendrothrips* เป็นเพลี้ยไฟขนาดเล็ก ลำตัวมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ปีกมีสีน้ำตาลใสมีเส้นขนบนปีก ซึ่งมีลักษณะเด่นที่หนวดปล้องที่ 1-2 มีสีน้ำตาลเข้มกว่าปล้องอื่น ๆ (ภาพที่ 2) เพลี้ยไฟชนิดนี้พบการเข้าทำลายยอดหรือใบอ่อนของหม่อน ยังไม่พบเข้าทำลายพืชอื่น (ศิริณี, 2544) สอดคล้องกับรายงานของ Talekar (1991) ที่พบว่าในประเทศไทย มีเพลี้ยไฟศัตรูหม่อน ได้แก่ *Pseudodendrothrips ornatissimus* และ *Pseudodendrothrips* sp.

2. การจำแนกชนิด วิเคราะห์ และเพาะเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเก็บรวบรวม

2.1 การแยกเชื้อราจากตัวอย่างแมลง

ทำการแยกเชื้อราจากตัวอย่างเพลี้ยไฟที่ตายจำนวน 40 ตัว โดยนำมาวางไว้ในกล่องให้ความชื้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเพลี้ยไฟที่ตายด้วยเชื้อรา มักปรากฏเส้นใยของเชื้อราซึ่งงอกออกมาจากตัวเพลี้ยไฟ จากนั้นนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 7 วัน เชื้อราที่ออกมาจากตัวอย่างเพลี้ยไฟเจริญบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อราที่ได้มีลักษณะของกลุ่มโคโคนีสีขาวอาจเป็นเชื้อราในสกุล *Verticillium* และเชื้อราที่ได้มีลักษณะของกลุ่มโคโคนีสีเทาและสีเทาอมม่วงอาจเป็นเชื้อราในสกุล *Isaria* สอดคล้องกับการรายงานของชฎารัตน์ และคณะ (2556) พบว่า



Figure 2 Adult of *Pseudodendrothrips* sp.

การเก็บและรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคของเพลี้ยไฟพริกหวานในจังหวัดเชียงใหม่สามารถพบเชื้อราสกุล *Isaria*

เมื่อได้เชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างเพลี้ยไฟที่บริสุทธิ์แล้ว ตรวจสอบลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่ากลุ่มของโคโคนีเดียมีลักษณะคล้ายผงแป้ง จำนวน 7 ตัวอย่าง จึงวินิจฉัยโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคแมลงตามที่กรมวิชาการเกษตร (2546) แนะนำ โดยได้กลุ่มโคโคนีเดียของเชื้อราที่มีสีขาว โคโลนีมีลักษณะเส้นใยคล้ายฟู ฟูขาว หรือสีครีม ลักษณะของ conidiophores เป็นเส้นเดี่ยว (ภาพที่ 3A) ปลายเส้นใยมี conidia เป็นแบบเชลล์เดี่ยวอยู่รวมกันเป็นกระจุก คล้ายดอกกุหลาบ (ภาพที่ 3B) ส่วนกลุ่มโคโคนีเดียของเชื้อราที่มีสีเทา หรือสีเทาอมม่วง โคโลนีมีลักษณะค่อนข้างกลม สีขาว เส้นใยจับตัวกันแน่น เมื่อสร้างสปอร์ผิวหน้าของโคโลนีฟูตรงกลาง สปอร์จะเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้น ลักษณะของ conidiophore เป็นก้านปลายเรียวเล็กส่วนโคนโป่งออกอยู่เรียงกันเป็นคู่และแตกแขนงออกเป็นคู่ (ภาพที่ 3C) ส่วนปลายมีโคโคนีเดียเรียงอยู่เป็นแถว หรือเดี่ยว ๆ conidia เป็นแบบเชลล์ มีรูปร่างเป็นวงรี (ภาพที่ 3D) (Domsch et al., 1993; Ray, 2001; Lubilosa, 2004) จากการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา พบว่า เชื้อราที่มีกลุ่มโคโคนีเดียของเชื้อราที่มีสีขาว คือเชื้อราในสกุล *Verticillium* *lecanii* ส่วนกลุ่มโคโคนีเดียของเชื้อราที่มีสีเทา หรือสีเทาอมม่วง คือเชื้อราในสกุล *Isaria fumosorosea* และสามารถจำแนกเชื้อรา *V. lecanii* ได้จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ CMU-VeFa 1, CMU-VeMh 1, CMU-VeMt 1 และ CMU-VeMt 2 และเชื้อรา *I. fumosorosea* จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ CMU-IsMj 1, CMU-IsFa 1 และ CMU-IsFa 2

2.2 การแยกเชื้อราจากตัวอย่างดิน

ทำการแยกเชื้อด้วยวิธี dilution pour plate พบว่า ลักษณะของโคโลนีเชื้อราที่ได้นั้น ลักษณะผิวหน้าของโคโลนีเรียบมัน บางตัวอย่างมีลักษณะฟู มีทั้งสีขาว สีครีม และสีส้ม จากนั้นนำมาทำการศึกษากำหนดชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคของแมลงซึ่งตรวจสอบลักษณะของโคโลนี ลักษณะโคโคนีเดีย และรูปร่างของสปอร์ พบว่าลักษณะที่กล่าวมานี้ไม่เป็นไปตามวินิจฉัยที่กรมวิชาการเกษตร (2546) แนะนำ คือไม่พบเชื้อราที่มีกลุ่มของสปอร์ลักษณะคล้ายผงแป้งโคโลนีของเชื้อราที่เป็นเชื้อราสาเหตุโรคแมลง ดังนั้นจึงวินิจฉัยได้ว่าการแยกเชื้อราจากตัวอย่างดิน ในพื้นที่แปลงปลูกหอมทั้ง 7 แห่ง ไม่พบเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคแมลง

3. การเจริญเติบโตเชื้อราสาเหตุโรคแมลงจากตัวอย่างเพลี้ยไฟ

จากการนำเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่จัดจำแนกได้จำนวน 2 สกุล คือ *Verticillium* และ *Isaria* รวมทั้งหมด 7 ไอโซเลต ตามหัวข้อที่ 2 มาทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในแต่ละไอโซเลต โดยเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิห้อง มีอุณหภูมิเฉลี่ย 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 71.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อรา และเชื้อราทั้ง 7 ไอโซเลตมีการเจริญเติบโตของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดย *I. fumosorosea* ทุกไอโซเลตมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่าง

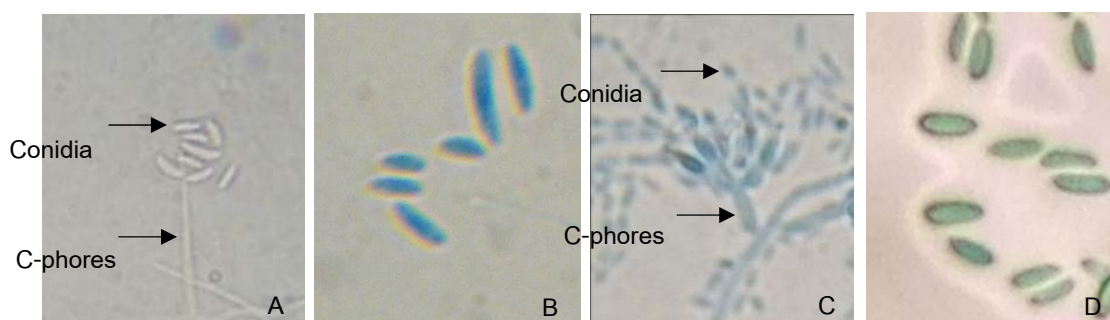


Figure 3 Characteristics of entomopathogenic fungi; (A) Conidiophores of *Verticillium*, (B) Conidia of *Verticillium*, (C) Conidiophores of *Isaria*, and (D) Conidia of *Isaria* (400X)

กัน และไม่แตกต่างจาก *V. lecanii* ไอโซเลท CMU-VeFa 1 และ CMU-VeMt 2 ซึ่ง *I. fumosorosea* ไอโซเลท CMU-IsFa 2 มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีกว้างที่สุดทั้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.58 และ 7.47 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท CMU-IsMj 1 และ CMU-IsFa 1 มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 7.33 และ 7.22 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง 6.82 และ 6.68 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วน *V. lecanii* ไอโซเลท CMU-VeFa 1 สามารถเจริญเติบโตได้ดี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 7.12 เซนติเมตร แต่ที่อุณหภูมิห้องมีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเพียง 5.17 เซนติเมตร รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท CMU-VeMt 2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 6.67 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง 6.05 เซนติเมตร ส่วนไอโซเลท CMU-VeMh 1 และ CMU-VeMt 1 มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 5.78 และ 5.55 เซนติเมตร ส่วนที่อุณหภูมิห้องมีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 5.23 และ 5.32 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับการรายงานของ Ray (2001) และ Tahira et al. (2013) ที่พบว่าการเก็บรักษาเชื้อราที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

ของ *Verticillium lecanii* และ *Isaria fumosorosea*

สรุป

การสำรวจและเก็บรวบรวมเพลี้ยไฟหม่อนในจังหวัดเชียงใหม่ 7 แห่ง พบการระบาดของเพลี้ยไฟในแปลงหม่อนของเกษตรกร อำเภอฝางมากที่สุด มีจำนวนเฉลี่ย 30 ตัวต่อยอด และเมื่อทำการสำรวจเพลี้ยไฟที่ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติฯ เชียงใหม่ (ส่วนแยกแม่ใจ) ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557 พบว่า ในเดือนกุมภาพันธ์ พบการระบาดของเพลี้ยไฟในปริมาณมาก มีจำนวนเฉลี่ย 64.06 ตัวต่อยอด โดยเพลี้ยไฟที่เข้าทำลายต้นหม่อน คือเพลี้ยไฟหม่อน *Pseudodendrothrips* sp. และจากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟที่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย สามารถจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคแมลงได้ 2 ชนิด คือ *Verticillium lecanii* จำนวน 4 ไอโซเลท และ *Isaria fumosorosea* จำนวน 3 ไอโซเลท ซึ่งการแยกเชื้อราจากตัวอย่างดินในพื้นที่แปลงปลูกหม่อนไม่พบเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคแมลง และเมื่อทำการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง พบว่า *I. fumosorosea* ทั้ง 3 ไอโซเลทมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า *V. lecanii* ทั้งในที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (30 ± 0.84 องศาเซลเซียส) โดย *I. fumosorosea* ไอโซเลท CMU-IsFa 2

Table 1 Comparison of entomopathogenic fungus growth on Potato Dextrose Agar (PDA) stored in incubator at 25°C and at room temperature

Isolate	Species	Periodic diameter growth of entomopathogenic fungi (centimeters) $\pm$ SD	
		25 $\pm$ 2°C	30 $\pm$ 0.84°C
CMU-VeFa 1	<i>V. lecanii</i>	7.12 $\pm$ 0.10 abc ¹	5.17 $\pm$ 2.27 f
CMU-VeMh 1	<i>V. lecanii</i>	5.78 $\pm$ 0.20 cdef	5.23 $\pm$ 1.55 f
CMU-VeMt 1	<i>V. lecanii</i>	5.55 $\pm$ 0.63 def	5.32 $\pm$ 0.43 ef
CMU-VeMt 2	<i>V. lecanii</i>	6.62 $\pm$ 0.32 abcde	6.05 $\pm$ 0.05 bcdef
CMU-IsMj 1	<i>I. fumosorosea</i>	7.33 $\pm$ 0.19 ab	6.82 $\pm$ 0.27 abcd
CMU-IsFa 1	<i>I. fumosorosea</i>	7.22 $\pm$ 0.26 ab	6.68 $\pm$ 0.38 abcd
CMU-IsFa 2	<i>I. fumosorosea</i>	7.58 $\pm$ 0.25 a	7.47 $\pm$ 0.31 a

¹Means within the column and row followed by the same letters are not significantly different according to LSD test ($P \leq 0.05$).

มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีกว้างที่สุดทั้งใน
ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และใน
อุณหภูมิห้อง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.58 และ 7.47
เซนติเมตร ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจาก
ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์
พระบรมราชินีนาถ เชียงใหม่ และบัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2546. โครงการเสริมสร้างความ
เข้มแข็งแก่เกษตรกรด้านการป้องกัน และกำจัด
ศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสานในพื้นที่ที่มีการใช้สาร
กำจัดศัตรูพืชปริมาณมาก: การเรียนรู้ศัตรู
ธรรมชาติ. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา:
[http://thailand.ipm-info.org/documents/
Understanding_Natural_Enemies_\(Thai\).pdf](http://thailand.ipm-info.org/documents/Understanding_Natural_Enemies_(Thai).pdf)
(5 มีนาคม 2556).
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2550. เพลี้ยไฟหม่อน. (ระบบ
ออนไลน์). แหล่งที่มา: [http://182.93.200.16/
244/media/din/agrilib/library/html/detail/mon
pes/mon18.htm](http://182.93.200.16/244/media/din/agrilib/library/html/detail/monpes/mon18.htm) (9 มกราคม 2556).
- ไชยา อภัยสูงเนิน. 2532. การปลูกหม่อนเลี้ยงไหมแผน
ใหม่. สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม, นนทบุรี. 63
หน้า.
- เบญจวรรณ สันธิ. 2546. แมลงศัตรูของหม่อนผลสดพันธุ์
เชียงใหม่. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชา
กีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 28 หน้า.
- ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์. 2550. การปลูกหม่อนและการ
เลี้ยงไหม. สำนักพิมพ์เพชรกระวี, กรุงเทพฯ.
128 หน้า.
- ภาณุวัฒน์ ยอดคำ. 2553. ประสิทธิภาพเชื้อรา
Paecilomyces tenuipes (Peck) และ

Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin
ในการควบคุมแมลงหวี่ขาวเกลียวบนใบหม่อน.
ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชากีฏวิทยาและ
โรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่, เชียงใหม่. 27 หน้า.

มาลี ตั้งระเบียบ. 2551. เชื้อรากำจัดแมลง. สถาบันวิจัย
และฝึกอบรมเกษตรล้าปาง มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง. 25 หน้า.

วรลักษณ์ อรุณวรรณศิริ. 2544. ชนิดของเพลี้ยไฟที่เข้า
ทำลายช่อดอกลำไยและผลกระทบต่อการติด
ผล. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต.
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
เชียงใหม่. 56 หน้า.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ (Terebrantia). กองกฏ
และสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
75 หน้า.

ชฎารัตน์ ชมภูพลอย จิราพร กุลสาริน ไสว บุณพานิช-
พันธุ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ และ สิริญา คัมภีโร.
2556. การเก็บรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคแมลง
ของเพลี้ยไฟพริกหวานในโรงเรือนใน จังหวัด
เชียงใหม่. วารสารเกษตร 29(1): 55-62.

Brownbridge, M. 1995. Prospects for
mycopathogens in thrips management. In:
B. L. Parker, M. Skinner and T. Lewis (eds.).
Thrips Biology and Management. University
of Vermont, Burlington, New York. pp. 281-
295.

Deshpande, M. V. 1999. Mycopesticide production
by fermentation: Potential and challenges.
Critical Reviews in Microbiology 25(3): 229-
243.

Domsch, K. H., W. Gams and G. Anderson. 1993.
Compendium of Soil Fungi. Volume 1, 2nd
edition. Academic Press, London. 860 p.

Elander, R. P. and A. D. Lower. 1992. Fungal
biotechnology. In: D. K. Arora, R. P. Elander
and K. G. Mukerji (eds.). Handbook of

- Applied Mycology: Fungal Biotechnology. Marcel Dekker Inc., New York. pp. 1-34.
- Fransen, J. J. 1990. Fungi on aphids, thrips and whitefly in the greenhouse environment. *In*: Proceedings of 5th International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control. Society for Invertebrate Pathology, Adelaide, Australia. pp. 376-380.
- Gillespie, A. T. 1986. The potential of entomogenous fungi as control agent for onion thrips, *Thrips tabaci*. *In*: P. R. Day, (ed.), Proceedings of Brighton Crop Protection Conference: Biotechnology and Crop Improvement and Protection. Brighton, UK. pp. 237-242.
- Helyer, N. L., G. Gill, A. Bywater and R. Chamber. 1992. Elevated humidities for control of Chrysanthemum pests with *Verticillium lecanii*. Pesticide Science 36: 373-378.
- Hywel-Jones, N. L. 2002. Whole ascospores and part-spores in the megagenus *Cordyceps*. Mycological Research 106: 2-3.
- Lacey, L. A. and M. S. Goettel. 1995. Current development in microbial control of insect pests and prospects for the early 21st century. Entomophaga 40(1): 3-27.
- Lubilosa. 2004. Collection of Insect Pathogens. (online). Available: <http://www.lubilosa.org/Engl02a.PDF>. (March 3, 2013).
- Moore-Landecker, E. 1996. Fundamentals of the Fungi. 4th edition. Prentice Hall International Inc., New Jersey. 574 p.
- Ray, C. 2001. The Entomopathogen *Verticillium lecanii* (Online). Available: <http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf612.html> (January 9, 2013).
- Tahira, R., W. Wakil, M. Yasin and Y. J. Kwon. 2013. Mixing of *Isaria fumosorosea* with enhanced diatomaceous earth and bitterbarkomycin for control of *Rhyzopertha dominica*. Entomological Research 43(4): 215-223.
- Talekar N. S. 1991. Thrips in Southeast Asia. (Online). Available: http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/pnabk805.pdf (January 29, 2013).
- Vestergaard, S., A. T. Gillespie, T. M. Butt, G. Schreiter and J. Eilenberg. 1995. Pathogenicity of the hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. Biocontrol Science and Technology 5: 185-192.
- Weeden, C.R., A. M. Shelton and M. P. Hoffman. 2009. Biological control: A guide to natural enemies in North America. (Online). Available: <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/fungi.html> (January 9, 2013).

ผลของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยโดยรวมจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมต่อ ค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและการใช้ประโยชน์ได้ของ โภชนะในอาหารไก่เนื้อ

Effects of Crude Fibrolytic Enzymes from *Pleurotus ostreatus* Spent Mushroom Substrate on the *In vitro* Digestibility and Nutrient Utilization of Broiler Diet

วรรณพร ทะพิงค์แก^{1/} สุรรัตน์ ถือแก้ว^{1/} และ มงคล ยะไชย^{2/}
Wanaporn Tapingkae^{1/}, Sureerat Thuekeaw^{1/} and Mongkol Yachai^{2/}

Abstract: *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) can grow on agricultural waste with their ability to produce the fibrolytic enzymes including cellulase, hemicellulase, and lignin-degrading enzymes. The objective of this project was to evaluate the effect of spent mushroom substrates (SMS) supplementation on the *in vitro* digestibility and nutrients utilization of broiler diet. The experimental diets were divided to 5 groups including basal diet (CON), basal diet supplemented with commercial fibrolytic enzymes 1 and 2 with endo-glucanase activity at 500 U per kg diet (CFE1 and CFE2) and basal diet supplemented with *Pleurotus ostreatus* spent mushroom substrate with endo-glucanase activity at 250, 500 and 1,000 U per kg diet (SMS 0.5×, SMS 1×, and SMS 2×, respectively). SMS contained various fibrolytic activities including cellulose (549.6 and 615.94 U/g for pH 3.0 and 6.8), xylanase (90.75 and 101.71 U/g for pH 3.0 and 6.8), and endo-glucanase (496.42 and 486.14 U/g for pH 3.0 and 6.8). Besides SMS also showed the laccase and protease activities higher than both commercial fibrolytic enzymes ($P < 0.05$). Fibrolytic enzymes supplementation improved *in vitro* digestibility and nutrients utilization compared with basal diet ($P < 0.05$). SMS 1× and SMS 2× showed higher *in vitro* digestibility and nutrients utilization compared with CFE1 and CFE2 ($P < 0.05$). It can be summarized that SMS of *P. ostreatus* have the potential for a source of enzyme supplement in animal feed.

Keywords: Crude fibrolytic, *Pleurotus ostreatus* spent, *in vitro* digestibility, *in vivo* digestibility, broiler

^{1/} ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chang Mai University, Chiang Mai 50200

^{2/} สาขาวิชาเทคโนโลยีและพัฒนากาเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50300

^{2/} Department of Agricultural Technology and Development, Faculty of Agricultural Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50300

บทคัดย่อ: เหน็ดสกุลนางรมสามารถเจริญได้ดีบนวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ด้วยความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเยื่อใยต่าง ๆ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเอนไซม์ย่อยลิกนิน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมวัสดุเหลือใช้จากการเพาะเห็ดนางรมต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารไก่เนื้อ อาหารทดลองแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม 1 อาหารพื้นฐาน (CON) กลุ่ม 2-3 อาหารพื้นฐานเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าชนิดที่ 1 และ 2 ที่ระดับกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสเท่ากับ 500 ยูนิตต่อกิโลกรัมอาหาร (CFE1 และ CFE2) กลุ่ม 4-6 อาหารพื้นฐานเสริมวัสดุเพาะเห็ดนางรมที่ระดับกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส 250, 500, และ 1,000 ยูนิตต่อเอนโดกลูคาเนสต่อกิโลกรัมอาหาร (SMS 0.5×, SMS 1×, และ SMS 2×) วัสดุเพาะเห็ดมีกิจกรรมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยหลายชนิด ได้แก่ เซลลูโลส (549.6 และ 615.94 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) ไสแลนเนส (90.75 และ 101.71 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) และ เอนโดกลูคาเนส (496.42 และ 486.14 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) อีกทั้งวัสดุเพาะเห็ดยังมีกิจกรรมของแลคเคสและโปรตีเอสมากกว่าเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ($P < 0.05$) การเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยปรับปรุงค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะเมื่อเทียบกับอาหารสูตรพื้นฐาน ($P < 0.05$) อาหารสูตร SMS 1× และ SMS 2× มีค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะสูงกว่าอาหารสูตร CFE1 และ CFE2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สามารถสรุปได้ว่าวัสดุเหลือใช้จากการเพาะเห็ดนางรมมีศักยภาพสำหรับเป็นแหล่งของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารสัตว์

คำสำคัญ: เอนไซม์ย่อยเยื่อใย วัสดุเพาะเห็ดนางรม ค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง ค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ ไก่เนื้อ

คำนำ

จากการขยายตัวของอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ ทำให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพิ่มขึ้น ซึ่งเห็นได้ชัดเจนจากพื้นที่ป่าที่ถูกเปิดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และข้าวโพดถนอมที่นำไปเป็นเมล็ดพันธุ์ ในอำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ มีพื้นที่เพาะปลูกกว่า 8 หมื่นไร่ ฤดูเพาะปลูกเริ่มตั้งแต่ต้นเดือนพฤษภาคมเป็นต้นไป ซึ่งเป็นช่วงต้นฤดูฝน และเก็บเกี่ยวตั้งแต่เดือนกันยายนเป็นต้นไป การเพาะปลูกต้องอาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติเพียงอย่างเดียว เนื่องจากพื้นที่ส่วนใหญ่มีสภาพลาดชันตามแนวภูเขา เกษตรกรจะนำฝักข้าวโพดที่เก็บได้ไปรวมกันที่จุดสำหรับการกะเทาะเมล็ดเปลือกและซังข้าวโพดที่เหลือถูกกองทิ้งไว้รวมกันและเผาทิ้งในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคมของทุกปี ส่วนต่อซังต้นข้าวโพดที่แห้งในแปลงถูกเผาส่งสำหรับการเตรียมพื้นที่เพาะปลูกในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน ซึ่งถือเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วและประหยัดต้นทุน (ศุทธิณี และ คณะ, 2554) อย่างไรก็ตาม การถนอมรักษาเกี่ยวกับปัญหาหมอกควันจากการเผา เกษตรกรบางส่วนเริ่มตระหนักถึงผลเสียจากการเผาและพยายามหลีกเลี่ยงมาก

ขึ้น แต่เนื่องจากการเผาเป็นวิธีชีวิต/วิถีปฏิบัติที่ดำเนินมาอย่างยาวนาน และปัญหาหมอกควันที่มีแนวโน้มรุนแรงมากขึ้น แม้ว่าหลายหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนดำเนินการแก้ปัญหาดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง เช่น การใช้วัสดุเศษเหลือทางการเกษตร โดยเฉพาะต้นและซังข้าวโพดในการเพิ่มมูลค่าเป็นอาหารสัตว์ และ/หรือนำไปแปรรูปเป็นปุ๋ยและเป็นพลังงานชีวมวล ต้นข้าวโพดหลังการเก็บเกี่ยวประกอบด้วยเถ้า เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 10.8, 61.2, 19.3, และ 6.9 ตามลำดับ หรือคิดเป็นน้ำตาลทั้งหมด คาร์บอนทั้งหมดและไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 0.22, 50.3, และ 1.05 ตามลำดับ (El-Tayeb *et al.*, 2012) ในการศึกษาครั้งนี้เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหา โดยการใช้วัสดุเศษเหลือของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นวัสดุสำหรับการเพาะเห็ด เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดการเผาวัสดุเศษเหลือ อีกทั้งยังช่วยให้เกษตรกรมีแหล่งอาหารภายในชุมชน อันจะส่งผลถึงการเป็นอยู่ที่ดีขึ้น เมื่อพิจารณาเห็ดชนิดต่าง ๆ ที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดแชมปิญอง เป็นต้น เห็ดสกุลนางรมจัดเป็นเห็ดที่นิยมรับประทานกันมาก เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง รสชาติหอมหวาน และเนื้อไม่เหนียว อีกทั้งเห็ด

สกุลนางรมยังถือเป็นกลุ่มเห็ดที่สามารถเจริญได้ดีบนวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร (Silvana *et al.*, 2006) ซึ่งสอดคล้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใย เช่น เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และเอนไซม์ย่อยลิคินิน (Kurt and Buyukalaca, 2010) นอกจากนี้ยังพบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยดังกล่าวในวัสดุเพาะเห็ดที่ใช้แล้วด้วย เนื่องจากสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเยื่อใยได้ จึงจำเป็นต้องเสริมเอนไซม์ดังกล่าวในอาหารเพื่อให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือแม้แต่ในสัตว์กระเพาะรวมการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยในอาหารหยาบสามารถช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตและคุณภาพผลิตภัณฑ์ของสัตว์ได้ (Beauchemin *et al.*, 2003) สุวีรัตน์ และคณะ (2556) ชี้ให้เห็นว่าสามารถใช้ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เก็บฝักเป็นวัสดุสำหรับการเพาะเห็ดนางรม อีกทั้งวัสดุเพาะเห็ดที่เหลือมีกิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มย่อยเยื่อใยในปริมาณที่สูง อย่างไรก็ตามการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสัตว์อื่น ๆ เช่น อะไมเลสและโปรตีเอสยังไม่ถูกศึกษา อีกทั้งควรศึกษาถึงประสิทธิภาพในการย่อยอาหารสัตว์เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้อาหารสัตว์ต่อไป งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยโดยรวมจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและค่าการย่อยได้ในไก่เนื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเพาะเห็ด

เตรียมวัสดุเพาะเห็ดโดยใช้ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เก็บฝักแล้ว ตามวิธีของ สุวีรัตน์ และคณะ (2556) หั่นต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ให้มีขนาด 2-3 นิ้ว หมักกับปุ๋ยยูเรีย (ปุ๋ยยูเรีย 10 กรัม ต่อ วัสดุเพาะเห็ด 100 กิโลกรัม) ให้มีความชื้นประมาณร้อยละ 60 หมักไว้เป็นระยะเวลา 1-2 วัน บรรจุใส่ถุงสำหรับเพาะเห็ด (ขนาด 7 × 11 นิ้ว) น้ำหนักประมาณ 800 กรัม สวมคอขวดและปิดจุกด้วยสำลี จากนั้นนำไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งเป็นระยะเวลา 3-4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาปล่อยให้เย็นก่อนวัสดุเพาะเห็ดลงที่อุณหภูมิห้อง เตรียมขยายเชื้อ โดยแช่เส้นใยเห็ดลงใน

ขวดเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปล่อยให้เส้นใยเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่าง (1-2 สัปดาห์) นำเชื้อขยายใส่ในถุงก้อนก่อนวัสดุเพาะเห็ด นำไปบ่มในโรงเพาะเห็ดเป็นเวลาประมาณ 25-30 วัน เมื่อเก็บเห็ดนางรมแล้ว นำวัสดุเพาะที่เหลือจากการเพาะเห็ดไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง บดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1 มิลลิเมตร และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การวัดกิจกรรมเอนไซม์โดยรวม

วัดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส เอนโดกลูคาเนส เบต้า-กลูคาเนส ไสแลนเนส อะไมเลส และโปรตีเอส ของตัวอย่างวัสดุเพาะ จำนวน 3 ซ้ำ ตามวิธีที่อ้างอิงใน Tapingkae *et al.* (2008) และแลคเคสตามวิธีของ Ardon *et al.* (1996) โดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.0 (กระเพาะอาหาร) และ 6.8 (ลำไส้เล็ก) อุณหภูมิ 39.5 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิร่างกายสัตว์)

การวัดค่าย่อยได้ในหลอดทดลอง

ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของอาหารไก่เนื้อ แบ่งอาหารทดลองออกเป็น 6 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 อาหารควบคุม ไม่เสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใย (Control; CON) สูตรที่ 2 และ 3 อาหารควบคุมเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าชนิดที่ 1 และ 2 ที่ระดับกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสเท่ากับ 500 ยูนิตต่อกิโลกรัมอาหาร (Commercial fibrolytic enzyme 1 และ 2; CFE1 และ CFE2) สูตรที่ 4, 5, และ 6 อาหารควบคุมเสริมวัสดุเพาะเห็ดนางรมที่ระดับ 250, 500, และ 1,000 ยูนิตต่อกิโลกรัมอาหาร (SMS 0.5×, SMS 1×, และ SMS 2×) สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีแสดงในตารางที่ 1

วัดค่าการย่อยได้ตามวิธีของ Boisen (1993) โดยจำลองสภาวะในการย่อยโภชนาในกระเพาะและลำไส้ โดยใช้ทริปซินและแพนครีเอตินตามลำดับ จากนั้นนำอาหารที่เหลือจากการย่อยไปวิเคราะห์ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม และเถ้า ของอาหารก่อนและหลังจากการวัดค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองโดยวิธีของ Association of Official Analytical

$$\text{Chemists (AOAC, 1995) ทำการวัดค่าการย่อยได้ของอาหารแต่ละสูตรจำนวน 5 ซ้ำ โดยคำนวณค่าการย่อยได้ดังสมการ}$$

$$\text{ค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง (\%)} = \frac{\text{โภชนะในอาหารก่อน - หลังจากการวัดค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง}}{\text{โภชนะในอาหารก่อนการวัดค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง}} \times 100$$

Table 1 Composition and chemical analysis of the diets for the *in vitro* and *in vivo* digestibilities experiment (as fed basis)^a

Ingredient	(g/kg)
Yellow corn Thai B	578.1
Spent malt	80.3
Acid soybean oil	40.0
Full fat soya	50.1
Argentine SBM (High)	190.3
Pork meal (50-55% CP)	40.0
Salt (dry)	1.6
Monocalcium phosphate (Biofoss P 21%)	5.9
Calcium carbonate	5.6
Betaine Hydrochloride 96%	1.0
DL-Methionine (Alimet 88%)	1.1
L-lysine 98.5%	0.7
Sodium bicarbonate	2.0
Mineral Complex (poultry)	0.6
Copper sulfate 25%	0.5
Vitamins (BT 1-1)	0.2
Choline chloride liquid	0.9
Monensin (Elancoban G200)	0.5
Antioxidants (Luctanok 2072-Z)	0.1
Antimold agent (Luctamold 1491 Z)	0.5
Analytical nutrient components (g/kg)	
Dry matter	892.6
Crude protein	190.0
Crude fibre	36.3
Ether extract	85.0
Ash	51.5
AME (MJ/kg)	20.4

^a SMS 250, 500, and 1,000 U of endo-glucanase/kg diet were added as each treatment

สัมประสิทธิ์ค่าการย่อยได้ปรากฏในสัตว์

ใช้ไก่เนื้อเพศผู้อายุ 21 วัน จำนวน 180 ตัว เลี้ยงในกรงสำหรับวัดเมแทบอลิซึม (metabolic cage) ขนาด $45 \times 70 \times 55$ เซนติเมตร ที่มีถาดสำหรับเก็บมูลด้านล่าง จำนวน 60 กรง ๆ ละ 3 ตัว สุ่มให้ไก่ได้รับอาหารทดลอง 6 สูตร เช่นเดียวกับการทดลองการวัดค่าย่อยได้ในหลอดทดลองสูตรละ 10 กรง ให้อาหารและน้ำอย่างไม่จำกัด (*ad libitum*) แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 (วันที่ 21-28) และช่วงที่ 2 (วันที่ 35-42) โดยแบ่งเป็นระยะปรับตัว 4 วัน (วันที่ 21-24 และ 35-38) และระยะเก็บตัวอย่าง 3 วัน (25-28 และ 39-42) เก็บมูลไก่ทั้งหมดของแต่ละช่วงที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการหมักของจุลินทรีย์จนกระทั่งทำการวิเคราะห์ ศึกษาค่าการย่อยได้ในสัตว์ 2 รุ่น

วิเคราะห์ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม เถ้า และพลังงาน ของอาหารและมูล โดยวิธีของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995) คำนวณสัมประสิทธิ์ค่าการย่อยได้ปรากฏในสัตว์ (Coefficient of total tract apparent digestibility; CTTAD) และ ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้โดยประมาณ ((apparent metabolizable energy; AME) ดังสมการ

$$\text{สัมประสิทธิ์ค่าการย่อยได้ปรากฏในสัตว์} = \frac{\text{โภชนะที่กิน} - \text{โภชนะที่ขับถ่าย}}{\text{โภชนะที่กิน}}$$

$$\text{ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้โดยประมาณ} = \left[\begin{array}{cc} \text{ปริมาณอาหารที่กิน} & \times & \text{พลังงานรวมในอาหาร} \\ \text{ปริมาณมูลและปัสสาวะ} & \times & \text{พลังงานรวมในมูลและปัสสาวะ} \end{array} \right] - \text{ปริมาณอาหารที่กิน}$$

การวิเคราะห์สถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะของอาหารไก่เนื้อที่วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ผลการทดลอง

กิจกรรมของเอนไซม์โดยรวม

กิจกรรมของเอนไซม์ต่าง ๆ ในวัสดุเพาะเห็ดนางรมเปรียบเทียบกับเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้า 2 ชนิด ที่ pH 3.0 และ 6.8 แสดงในภาพที่ 1 วัสดุเพาะเห็ดนางรมมีกิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มย่อยเยื่อใย (เซลลูเลส เอนโดกลูคาเนส เบต้า-กลูคาเนส และไซแลนเนส) น้อยกว่าเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตาม วัสดุเพาะเห็ดนางรมมีกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส (44.41 และ 47.85 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) มากกว่าเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ($P < 0.05$) อีกทั้งวัสดุเพาะเห็ดนางรมยังมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (526.75 และ 545.38 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) มากกว่าเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ($P < 0.05$)

การประเมินค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง

การเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทั้งจากทางการค้าและจากวัสดุเพาะเห็ดช่วยเพิ่มค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของโภชนะที่ศึกษาเมื่อเทียบกับอาหารกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของโปรตีน พบว่ากลุ่ม SMS 0.5× มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้นร้อยละ 70 เท่ากับกลุ่ม CFE1 และ CFE2 เมื่อเทียบกับกลุ่ม CON อีกทั้งกลุ่ม SMS 1× และ SMS 2× ยังมีค่าการย่อยได้ของโปรตีนสูงสุด ($P < 0.05$) เพิ่มขึ้นร้อยละ 100 เมื่อเทียบกับกลุ่ม CON นอกจากนี้กลุ่ม SMS 0.5× SMS 1× และ SMS 2× ยังมีค่าการย่อยได้ของเยื่อใยเพิ่มขึ้นร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับกลุ่ม CON

สัมประสิทธิ์ค่าการย่อยได้ปรากฏในสัตว์

การย่อยได้ของโภชนะในไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ทุกกลุ่ม มีค่าสูงกว่าไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุม (ไม่เสริมเอนไซม์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P < 0.05$) (ตารางที่ 3) การย่อยได้ของอาหารที่เสริมด้วยเอนไซม์ทางการค้าทั้ง 2 ชนิด มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่ไก่ที่ได้รับอาหาร

เสริมด้วยวัสดุเพาะเห็ดทั้ง 3 ระดับ มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม เถ้า และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ สูงกว่าไก่ที่ได้รับอาหาร

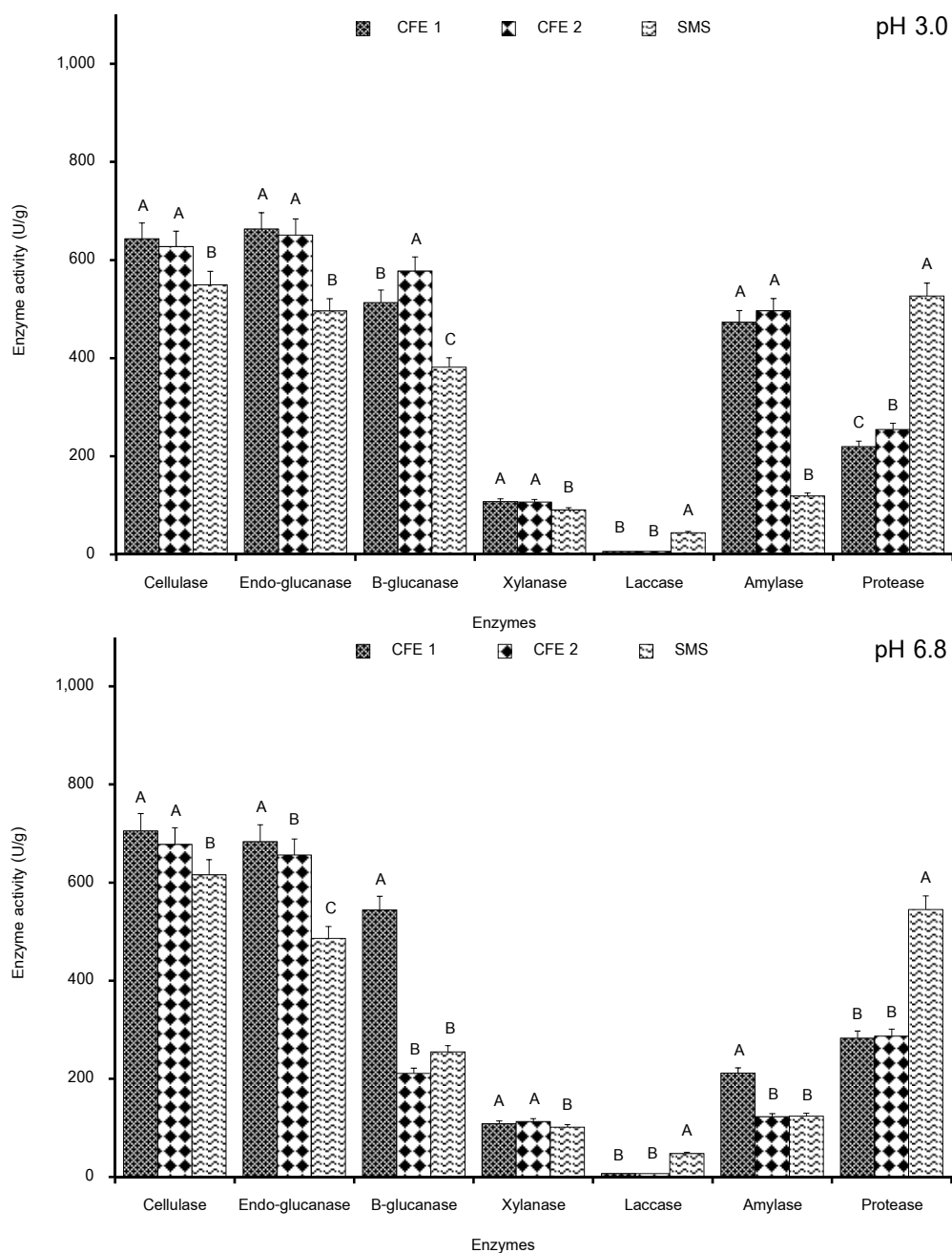


Figure 1 Activity profiles (U/g enzyme) at pH 3.0 and 6.8 of spent mushroom substrate (SMS) produced by *P. ostreatus*, commercial crude enzyme 1 (CFE1), and commercial crude enzyme 2 (CFE2). Mean values with different letters in the same parameter indicate significant differences ($P < 0.05$)

**ผลของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยโดยรวมจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง
และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาในอาหารไก่เนื้อ**

เสริมด้วยเอนไซม์ทางการค้าทั้ง 2 ชนิด และกลุ่มควบคุม 1 เท่า มีค่าการย่อยได้ของโภชนาแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับการเสริมที่ระดับ 2 เท่า ($P < 0.05$) การเสริมวัสดุเพาะเห็ดนางรมในอาหารที่ระดับ

Table 2 *In vitro* digestibility (%) of dry matter (DM), crude protein (CP), crude fibre (CF), ether extract (EE), and ash in broiler diets supplemented with and without enzymes

Parameter	Treatment ^A					
	CON	CFE1	CFE2	SMS 0.5×	SMS 1×	SMS 2×
DM	39.38 ±1.37 ^d	42.37 ±1.83 ^b	43.32 ±2.40 ^b	45.38 ±1.34 ^a	44.13 ±1.64 ^a	45.35 ±2.24 ^a
CP	22.12 ±1.29 ^c	37.58 ±3.38 ^b	37.68 ±1.52 ^b	38.42 ±1.23 ^b	44.56 ±1.53 ^a	44.64 ±2.47 ^a
CF	24.02 ±2.92 ^c	32.29 ±3.47 ^{ab}	31.20 ±1.35 ^b	35.45 ±3.23 ^{ab}	35.64 ±3.24 ^{ab}	37.24 ±3.16 ^a
Ash	24.32 ±1.74 ^c	29.38 ±3.67 ^b	30.42 ±2.32 ^{ab}	30.74 ±2.42 ^{ab}	32.46 ±3.27 ^{ab}	34.63 ±3.02 ^a
EE	22.37 ±1.27 ^b	25.27 ±2.73 ^b	29.57 ±2.47 ^a	28.03 ±2.27 ^a	28.12 ±1.78 ^a	28.78 ±3.93 ^a

Mean values with different letters (^{a-d}) in the same row indicate significant differences among all treatments tested ($P < 0.05$)

^A CON = control, CFE1 = commercial crude enzyme product 1, CFE2 = commercial crude enzyme product 2 (same fibrolytic activity as CFE1), SMS 0.5×, SMS 1×, and SMS 2× = crude fibrolytic enzymes from *P. ostreatus* at 0.5 times (250 U of endo-glucanase/kg diet), 1.0 times (500 U of endo-glucanase /kg diet), and 2.0 times (1,000 U of endo-glucanase /kg diet) of fibrolytic activity to CFE1, respectively

Table 3 Effect of fibrolytic enzyme on CTTAD and AME of broiler diet

Parameter	Treatment ^A					
	CON	CFE1	CFE2	SMS 0.5×	SMS 1×	SMS 2×
Phase 1 (Day 21-28)						
DM	0.686 ±0.005 ^d	0.702 ±0.005 ^c	0.700 ±0.004 ^c	0.722 ±0.004 ^b	0.741 ±0.005 ^a	0.742 ±0.005 ^a
CP	0.680 ±0.006 ^d	0.697 ±0.008 ^c	0.695 ±0.004 ^c	0.724 ±0.002 ^b	0.731 ±0.007 ^{ab}	0.734 ±0.003 ^a
CF	0.233 ±0.019 ^d	0.333 ±1.462 ^c	0.343 ±0.003 ^{bc}	0.362 ±1.061 ^{ab}	0.379 ±0.008 ^a	0.374 ±0.005 ^a
Ash	0.233 ±0.017 ^d	0.264 ±1.383 ^c	0.266 ±1.202 ^c	0.292 ±0.005 ^b	0.332 ±1.162 ^a	0.324 ±1.222 ^a
EE	0.589 ±0.006 ^d	0.617 ±0.006 ^c	0.608 ±0.005 ^c	0.628 ±0.008 ^b	0.642 ±0.004 ^a	0.646 ±0.001 ^a
AME (MJ/Kg)	10.46 ±0.002 ^c	0.121 ±0.26 ^b	12.06 ±0.27 ^b	12.26 ±0.30 ^b	13.25 ±0.17 ^a	13.01 ±0.18 ^a
Phase 2 (Day 35-42)						
DM	0.700 ±0.002 ^d	0.727 ±0.001 ^c	0.729 ±0.005 ^c	0.739 ±0.005 ^b	0.756 ±0.001 ^a	0.757 ±0.004 ^a
CP	0.685 ±0.003 ^e	0.697 ±0.003 ^d	0.718 ±0.003 ^c	0.740 ±0.007 ^b	0.758 ±0.008 ^a	0.753 ±0.006 ^a
CF	0.315 ±0.011 ^c	0.356 ±0.006 ^b	0.353 ±0.006 ^b	0.364 ±0.006 ^b	0.381 ±0.002 ^a	0.386 ±0.015 ^a
Ash	0.262 ±0.004 ^d	0.286 ±0.009 ^c	0.292 ±0.006 ^c	0.317 ±0.009 ^b	0.347 ±0.002 ^a	0.347 ±0.006 ^a
EE	0.608 ±1.291 ^c	0.627 ±0.007 ^c	0.619 ±1.651 ^c	0.646 ±1.332 ^b	0.680 ±0.005 ^a	0.679 ±0.001 ^a
AME (MJ/Kg)	11.03 ±0.15 ^e	12.00 ±0.15 ^d	11.73 ±0.23 ^d	12.99 ±0.26 ^c	14.07 ±0.11 ^a	13.64 ±0.09 ^b

Mean values with different letters (^{a-e}) in the same row indicate significant differences among all treatments tested ($P < 0.05$).

^A CON = control, CFE1 = commercial crude enzyme product 1, CFE2 = commercial crude enzyme product 2 (same fibrolytic enzymes activity as CFE1), SMS 0.5×, SMS 1×, and SMS 2× = crude fibrolytic enzymes from *P. ostreatus* at 0.5 times (250 U/kg diet), 1.0 times (500 U/kg diet), and 2.0 times (1,000 U/kg diet) of fibrolytic activity to CFE1, respectively

วิจารณ์ผล

เชื้อราและเห็ดถือเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิดและผลิตได้ปริมาณที่มาก เอนไซม์ที่ผลิตได้นั้นมีกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิดรวมกัน (Tapingkae *et al.*, 2008) Téllez-Téllez *et al.* (2013) ชี้ให้เห็นว่าเห็ดสกุลนางรม (*Pleurotus* sp.) เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ย่อยเยื่อใยที่มีประสิทธิภาพ กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยที่พบในวัสดุเพาะเห็ดนางรมสอดคล้องกับการศึกษาของ Ko *et al.* (2005) ที่พบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส เบต้า-กลูคาเนส แลคเคส และไซแลนเนส ในวัสดุเพาะที่เหลือจากการเพาะเห็ดนางรมเช่นกัน เอนไซม์กลุ่มย่อยคาร์โบไฮเดรต (เซลลูเลส เบต้า-กลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส ไซแลนเนส และอะไมเลส) ทำหน้าที่ร่วมกันในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั้งส่วนของแป้งและคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้งได้ (Partridge, 2000) การอบตัวอย่างวัสดุเพาะที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมงเป็นกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสม กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยชนิดต่าง ๆ ในตัวอย่างวัสดุเพาะเห็ดไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการอบแห้ง (ผลการทดลองไม่แสดง) เอนไซม์รวม (complex enzymes) จึงเหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้ในอาหารสัตว์ จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า การเสริมเอนไซม์ย่อยจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมในอาหารไก่เนื้อช่วยปรับปรุงค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและค่าการย่อยได้ในตัวไก่เป็นผลจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ย่อยเยื่อใย เริ่มจากเอนไซม์แลคเคสย่อยสลายลิกนินที่เป็นส่วนที่ยึดติดกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในส่วนของเปลือกนอกของวัตถุดิบอาหารสัตว์ ทำให้เอนไซม์ย่อยเยื่อใยชนิดอื่นสามารถย่อยผนังเซลล์ของวัตถุดิบอาหารสัตว์ซึ่งส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้ง ส่งผลให้ลดความหนืดในลำไส้ลดลง ช่วยให้เอนไซม์จากตัวสัตว์สามารถย่อยองค์ประกอบอาหารสัตว์ที่อยู่ภายในได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังช่วยลดการหลุดลอกของโปรตีนในลำไส้ การทดสอบค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ แต่ค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์มีผลที่ค่อนข้างดีกว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ Meng and Slominski (2005) ที่พบว่า

การเสริมเอนไซม์ย่อยกลุ่มคาร์โบไฮเดรตรวม (multicarbohydrase) ที่ประกอบด้วยเซลลูเลส เพคตินเนส แมนแนนเนส ไซแลนเนส กลูแคนเนส อะไมเลส และโปรตีเอส ในอาหารไก่เนื้อช่วยปรับปรุงค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ (total tract digestibility) ของแป้ง (96.0 vs 97.2%) โปรตีน (79.6 vs 84.0%) และพลังงาน (3,114 vs 3,186 kcal/kg of diet) การเสริมเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสช่วยเพิ่มค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็กของโปรตีนประมาณร้อยละ 4 (Saleh *et al.*, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zanella *et al.* (1999) ที่พบว่าการเสริมเอนไซม์รวมที่ประกอบด้วยเอนไซม์ไซแลนเนส อะไมเลส และเอนไซม์โปรตีเอสช่วยปรับปรุงค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็กของโปรตีนในไก่เนื้อ กลไกความเกี่ยวข้องระหว่างการเพิ่มขึ้นของค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้กับการเสริมเอนไซม์ยังไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตาม Meng and Slominski (2005) ได้อธิบายว่าคาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ย่อยเยื่อใยโดยรวมที่มีกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิดทำให้เกิดน้ำตาลอิสระหรือโพลิไกลิเซอไรด์ที่สามารถถูกนำมาใช้สำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ กรดไขมันระเหยได้ที่เกิดขึ้นถูกใช้โดยไก่และทำให้ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนน่าจะมาจากการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการ การประยุกต์ใช้วัสดุเศษเหลือจากการเพาะเห็ดเป็นเอนไซม์เสริมในอาหารสัตว์กระเพาะเดียวเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ นอกจากจะช่วยให้เพิ่มมูลค่าของวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ลดต้นทุนการใช้เอนไซม์เสริมในอาหารเหมาะสำหรับเกษตรกร ลดการนำเข้าเอนไซม์จากต่างประเทศ นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพอากาศได้อีกทางหนึ่ง

สรุป

วัสดุเพาะเห็ดนางรมนอกจากจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใย (เซลลูเลส เอนโดกลูคาเนส เบต้า-กลูคาเนส ไซแลนเนส และแลคเคส) ยังพบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีเอส การเสริมวัสดุเพาะเห็ดสามารถปรับปรุงค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของวัตถุ

แห้ง โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม เถ้า และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ในตัวสัตว์ เอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมมีศักยภาพสำหรับเป็นแหล่งของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติสำหรับการสนับสนุนงบประมาณในโครงการ “การประยุกต์ใช้วัสดุเหลือใช้จากการเพาะเห็ดเป็นสารเสริมในอาหารไก่เนื้อ” ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่สำหรับการสนับสนุนทุนการศึกษาระดับบัณฑิตแก่ นางสาวสุรรัตน์ ถือแก้ว และสุชาดาพาริม สำหรับความอนุเคราะห์สถานที่ทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ศุทธิณี ดนตรี สัญญา ทุมตะขบ พิภพ ขำนิวิกย์พงศ์ และ ศุภลักษณ์ หน้อยสุยะ. 2554. การจัดลำดับความสำคัญของพื้นที่เผาจากรข้อมูลเชิงพื้นที่หลายแหล่ง เพื่อการเฝ้าระวังและการป้องกันการเผาในที่โล่งในจังหวัดเชียงใหม่. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยจากแผนงานสร้างเสริมนโยบายสาธารณะที่ดี สถาบันศึกษานโยบายสาธารณะ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุรรัตน์ ถือแก้ว วรณพร ทะพิงค์แก และ มงคล ยะไชย. 2556. ประสิทธิภาพการผลิตและการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากการเพาะเห็ดนางรมโดยใช้เศษเหลือจากข้าวโพด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 4: 1(พิเศษ): 51-54.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Ardon, O., Z. Kerem and Y. Hadar. 1996. Enhancement of the laccase activity in liquid cultures of the ligninolytic fungus

Pleurotus ostreatus by cotton stalk extract. Journal of Biotechnology 51: 201-207.

Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi and W. Z. Yang. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. Journal of Animal Science 81 (E. Suppl. 2): E37-E47.

Boisen, S. 1993. A model for feed evaluation based on *In vitro* digestible dry matter and protein. In: M. F. Fuller (ed.) *In vitro* Digestion of Pigs and Poultry. C.A.B. International, Wallingford Oxon, OX108DE, UK. pp. 135-145.

El-Tayeb, T. S., A. A. Abdelhafez, S. H. Ali and E. M. Ramadan. 2012. Effect of acid hydrolysis and fungal biotreatment on agro-industrial wastes for obtainment of free sugars for bioethanol production. Brazilian Journal of Microbiology 43: 1523-1535.

Ko, H. G., S. H. Park, S. H. Kim, P. H. Gu and W. M. Park. 2005. Detection and recovery of hydrolytic enzymes from spent compost of four mushroom species. Folia Microbiologica 50: 103-106.

Kurt, S. and S. Buyukalaca. 2010. Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes. Bioresource Technology 101: 3164-3169.

Meng, X. and B. A. Slominski. 2005. The nutritive value of corn, soybean meal, canola meal or peas for broiler chickens as affected by a multi-carbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. Poultry Science 84: 1242-1251.

Partridge, G. G. 2000. The role and efficacy of carbohydrase enzyme in pig nutrition. In:

- Bedford, M. R. and G. G. Partridge, (eds.), Enzyme in Farm Animal Nutrition. CABI publishing. CABI International, Wallingford, UK.
- Saleh, F., A. Ohtsuka and K. Hayashi. 2005. Effect of dietary enzymes on the ileal digestibility and abdominal fat content in broilers. *Journal of Animal Science* 76: 475-478.
- Silvana, A., M. J. Pianzzola, M. Soubes and M. P. Cerdeiras. 2006. Biodegradation of agroindustrial wastes by *Pleurotus* spp. for its use as ruminant feed. *Electronic Journal of Biotechnology* 9: 215-220.
- Tapingkae, W., M. Yachai, W. Visessanguan, P. Pongtanya and P. Pongpiachan. 2008. Influence of crude xylanase from *Aspergillus niger* FAS128 on the *in vitro* digestibility and production performance of piglets. *Animal Feed Science and Technology* 140: 125-138.
- Téllez-Téllez, M., R. Díaz, C. Sánchez and G. Díaz-Godínez. 2013. Hydrolytic enzymes produced by *Pleurotus* species. *African Journal of Microbiology Research* 7: 276-281.
- Zanella, I., N. K. Sakomura, H. G. Silversides and A. Figueirdo. 1999. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. *Poultry Science* 78: 561-568.
-

การทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน หมักยีสต์ในอาหารข้นต่อการย่อยได้ และความเข้มข้นของกรด ไขมันระเหยได้ในกระเพาะรูเมนของแพะ

Replacement of Soybean Meal with Yeast Fermented Palm Kernel Cake in Concentrate on Digestibility and Rumen Volatile Fatty Acid Concentrations of Goats

ปิ่น จันจุฬา^{1/} และ อัชรา เพ็งหนู^{2/}
Pin Chanjula^{1/} and Ashara Pengnoo^{2/}

Abstract: Five crossbred goats with average liveweight 25 ± 1.0 kg were randomly assigned according to a 5x5 Latin square design to receive five concentrate diets at 2% BW, containing 0, 25, 50, 75, and 100% YFPKC, respectively. Plicatulum hay was offered on *ad libitum* basis. Based on this experiment, there were no significant differences ($P>0.05$) among treatments regarding DM intake, whereas apparent digestibilities of DM, CP, NDF and ADF were affected ($P<0.05$) by inclusion of YFPKC in diets and tended to be slightly lower for goats fed the diet T₅ containing 100% YFPKC as compared with other treatments. The ruminal pH, NH₃-N and volatile fatty acids were similar among treatments ($P>0.05$). It could be concluded that the optimal level of YFPKC in concentrate replacement of SBM should be 25-75 or 5-15% in concentrate diet for goats.

Keywords: Yeast fermented palm kernel cake, digestibility, yeast fermented process, goat

^{1/} ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา 90112

^{1/} Department of Animal Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla 90112

^{2/} ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ. สงขลา 90112

^{2/} Department of Earth Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla 90112

* Corresponding author: pin.c@psu.ac.th

บทคัดย่อ: การศึกษาได้กระทำในแพะลูกผสมจำนวน 5 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 25 ± 1.0 กิโลกรัม ใช้แผนการทดลองแบบ 5×5 จัตุรัสลาติน ให้ได้รับอาหารชั้นในระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัวที่มีระดับของกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ที่มีโปรตีน 41.67 เปอร์เซ็นต์ ทดแทนกากถั่วเหลืองระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และได้รับหญ้าพลีแคทมูลแห้งอย่างเต็มที่ ผลการทดลอง พบว่าปริมาณการกินวัตถุแห้งได้ทั้งหมดของทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน ($P > 0.05$) และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนาวัตถุแห้ง โปรตีน ผนังเซลล์ และเซลลูโลสของทุกกลุ่มที่ 1-4 ก็ไม่แตกต่างกันแต่สูงกว่ากลุ่มที่ 5 ($P < 0.05$) ขณะที่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมด มีค่าใกล้เคียงกันทุกกลุ่ม ($P > 0.05$) จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า สามารถใช้กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ทดแทนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองได้ 25-75 เปอร์เซ็นต์ หรือใช้ได้ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารแพะ

คำสำคัญ: กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ การย่อยได้ กระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ และแพะ

คำนำ

ในการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องยังจำเป็นต้องเสริมอาหารชั้น ซึ่งแหล่งโปรตีนหลักที่นิยมใช้คือ กากถั่วเหลืองที่มีโปรตีนหยาบประมาณ 44 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุแห้ง อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงราคาต่อหน่วยของกากถั่วเหลืองนับว่าสูงมาก ส่งผลให้ต้นทุนในการผลิตสูงขึ้นด้วย จากปัญหาดังกล่าวนำมาสู่แนวทางการวิจัยการใช้โปรตีนทางเลือกอื่น ๆ ที่สามารถเพิ่มผลผลิต และปรับปรุงนิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมนให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น การหมักวัตถุดิบ เพื่อเพิ่มโปรตีน โดยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Tewe, 1991) ซึ่งมีรายงานว่ายีสต์ในสกุล *Saccharomyces* และ *Candida* สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องได้เพราะมีผลต่อนิเวศวิทยาของกระเพาะรูเมนในเชิงบวก โดยไปกระตุ้นประชากรแบคทีเรียจำพวกย่อยสลายเยื่อใย (cellulolytic bacteria) ย่อยสลายโปรตีน (proteolytic bacteria) ย่อยสลายแป้ง (amylolytic bacteria) และแบคทีเรียทั้งหมด (total viable bacteria) ให้ใช้ประโยชน์จากอาหารเยื่อใย และปรับปรุงกระบวนการหมักให้ดีขึ้น (Wallace and Newbold, 1993) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา การเพิ่มโปรตีนในกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมัน โดยอาศัยกระบวนการหมักจากเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารชั้นต่อปริมาณการกินได้ และกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนของแพะ

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง แผนการทดลอง และการเตรียมอาหารทดลอง

ใช้แพะลูกผสมพื้นเมือง-แองโกลนูเบียน 50 เปอร์เซ็นต์ อายุ 15-16 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 25 ± 1 กิโลกรัม จำนวน 5 ตัว ทำการสุ่มแพะให้ได้รับทรีทเมนต์ตามแผนการทดลองแบบ 5×5 จัตุรัสลาติน (5×5 Latin Square Design) โดยได้รับอาหารชั้นที่ประกอบด้วยกากถั่วเหลืองทดแทนด้วยกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ (yeast fermented palm kernel cake, YFPKC) ในสูตรอาหารที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) โดยคำนวณให้ระดับโภชนาตามความต้องการของแพะตามคำแนะนำของ NRC (1981) คือมีโปรตีน 15 เปอร์เซ็นต์ และ ME 2.90 Mcal/kg DM ตามลำดับ

การเตรียมกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ดัดแปลงจากวิธีการของ Antai and Bongo (1994) คือกระตุ้นหัวเชื้อยีสต์ (*S. cerevisiae*, บริษัท เบอร์ลีส์เปเซียลตี้ส์ จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย) โดยใช้ผงยีสต์:น้ำ:น้ำตาล อัตรา 20:100:20 ผสมให้เข้ากันและวางไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ทำการปรับ pH 4.5-5 จากนั้นนำไปผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งประกอบด้วย กากน้ำตาล:ยูเรีย:น้ำ อัตรา 24:72:100 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ:หัวเชื้อยีสต์ ในอัตรา 1:1 แล้วบ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อมาหมักร่วมกับกากเนื้อ

Table 1 Ingredient and chemical composition of goat rations (% DM basis)

Composition	Dietary treatment (% YFPKC levels in concentrate) ¹					
Replaced soybean meal, %DM basis	T1(0)	T2(25)	T3(50)	T4(75)	T5(100)	YFPKC
YFPKC levels, %DM basis	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00	
Ingredients, %						
Ground corn, GC	60.00	50.00	50.00	52.87	50.00	
Broken rice bran, BR	13.00	23.00	22.95	20.00	22.81	
Soybean meal, SM	20.00	15.00	10.00	5.00	0.00	
Yeast fermented palm cake kernel, YFPKC	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00	
Urea	-	-	0.05	0.11	0.19	
Molasses	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	
Salt	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Dicalcium phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Mineral and vitamin mix ²	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Chemical composition ³ (% of DM)						
DM	85.92	84.17	85.81	84.58	85.67	88.61
Ash	6.45	6.55	6.13	6.43	6.53	3.88
OM	93.55	93.45	93.87	93.57	93.47	96.12
CP	15.56	15.20	15.42	15.36	15.33	41.67
EE	3.96	4.22	4.17	4.74	5.82	5.40
NDF	17.96	20.49	23.51	25.62	27.70	47.98
ADF	5.97	7.03	8.00	8.69	9.44	32.50
ME Mcal/kg DM ⁴	2.92	2.90	2.92	2.91	2.90	3.01

¹ T₁ = YFPKC 0%, T₂ = YFPKC 5%, T₃ = YFPKC 10%, T₄ = YFPKC 15%, T₅ = YFPKC 20%.

² Minerals and vitamins (each kg contains): Vitamin A: 10,000,000 IU; Vitamin E: 70,000 IU; Vitamin D: 1,600,000 IU; Fe: 50 g; Zn: 40 g; Mn: 40 g; Co: 0.1 g; Cu: 10 g; Se: 0.1 g; I: 0.5 g.

³ DM: dry matter; OM: organic matter; CP: crude protein; EE: ether extract; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber

⁴ Estimated: metabolizable energy (ME) = TDN*0.04409*0.82. (NRC, 2001)

ในเมล็ดปาล์มน้ำมันในอัตราส่วน 1:2 โดยใช้กระบวนการหมักแบบกึ่งแห้งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อดำเนินการหมักเสร็จเรียบร้อยแล้ว นำกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ไปตากแดดเป็น 3 วัน เพื่อเก็บไว้ใช้เป็นแหล่งของโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลือง ต่อไป

แพะแต่ละตัวถูกเลี้ยงในคอกศึกษาการย่อยได้ (metabolism crate) ซึ่งเดียวยกพื้น จำนวน 5 คอกมีวางอาหารหยาบ อาหารชั้น และที่ให้น้ำอยู่ด้านหน้า ทำการ

ทดลอง 5 ช่วง ๆ ละ 21 วัน ซึ่งประกอบด้วย ระยะปรับตัว (adaptation period) 14 วัน และระยะทดลอง (experimental period) 7 วัน โดยในระยะปรับตัวให้แพะได้รับหญ้าพลิแคทูลัมแห้งแบบเดิมที่ เสริมอาหารชั้นตามกลุ่มทดลองในระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว วันละ 2 ครั้ง ในเวลา 08.00 และ 16.00 นาฬิกา ทำการวัดปริมาณอาหารที่ให้ และอาหารที่เหลือทั้งในช่วงเช้า และช่วงเย็นของทุกวันเพื่อหาปริมาณการกินได้ ส่วนในระยะ

ทดลอง ให้แพะได้รับอาหารตามกลุ่มทดลองเหมือนระยะปรับตัว แต่ลดปริมาณอาหารหยาบที่ให้เหลือเพียง 90 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่กินได้ในช่วงระยะปรับตัว

การเก็บข้อมูล การเก็บตัวอย่าง และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแพะ โดยชั่งน้ำหนักก่อนเข้าช่วงการทดลองและในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารหยาบ และอาหารข้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาค่าเฉลี่ยของวัตถุแห้ง อีกส่วนหนึ่งสุ่มเก็บจากแต่ละช่วงของการทดลอง อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีตามวิธีการของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ค่า Detergent fiber ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970)

สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะรูเมน (rumen fluid) ของสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่ม ที่เวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร โดยใช้วิธีการ stomach tube ร่วมกับ vacuum pump ในวันสุดท้ายของแต่ละระยะทดลองปริมาณ 100 มล. นำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างทันทีโดยใช้ pH meter (HANNA instruments HI 98153 microcomputer pH meter) หลังจากนั้น สุ่มเก็บประมาณ 20 มิลลิลิตร เติม 1M H_2SO_4 จำนวน 2 มิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์หาแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia-nitrogen, NH_3-N) โดยวิธีการกลั่น (Bremner and Keeney, 1965) โดยใช้เครื่อง KJELTEC AUTO 2200 Analyzer (Foss, TECATOR) ของเหลวอีกส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยได้ทั้งหมด (total volatile fatty acid, TVFA) และกรดไขมันระเหยได้ที่สำคัญได้แก่ กรดอะซิติก (acetic acid, C_2) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid, C_3) และกรดบิวทิริก (butyric acid, C_4) โดยใช้เครื่อง HPLC (Hewlett Packard) ประกอบด้วย water 510 pump (Millipore), UV Detector 210nm., ODS reverse phase column (5 μ , 40x250mm) (Samuel *et al.*, 1997) เก็บตัวอย่างเลือด ที่เวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหารในวันสุดท้ายของแต่ละระยะ

ทดลอง โดยเก็บจากเส้นเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (jugular vein) ปริมาณ 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดที่มีเฮพาริน (heparinized) เพื่อป้องกันไม่ให้เลือดแข็งตัว นำมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที และเก็บส่วนพลาสมา (plasma) เพื่อนำมาวิเคราะห์หาระดับยูเรียในเลือด (blood urea-nitrogen, BUN) (Crocker, 1967) โดยใช้เครื่อง spectrophotometer และวิเคราะห์ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดใช้วิธี GOD-PAP method โดยใช้น้ำยาล้างรูป (Glucose Liquicolor®, Germany) นอกจากนี้ทำการเก็บมูลและปัสสาวะทั้งหมด (total collection) โดยเก็บ 5 วันติดต่อกันในช่วงท้ายของการทดลอง แล้วทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมูลและปัสสาวะเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีและคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนาตามวิธีการของ Schnieder and Flatt (1975)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลอง 5x5 Latin Square Design โดยใช้ Proc GLM (SAS Inst. Inc., Cary, NC) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test และศึกษาแนวโน้มการตอบสนองของการเพิ่มระดับ PKC ด้วยวิธี Orthogonal polynomial (Steel and Torrie, 1980)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารข้นที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งมีกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ (YFPKC) ระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 1) พบว่ามีค่าเฉลี่ยของวัตถุแห้ง 85.23 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าต่าง ๆ คิดเป็นร้อยละของวัตถุแห้งดังนี้ คือ อินทรีย์วัตถุ 93.58 เถ้า 6.41 โปรตีนหยาบ 15.37 ไขมัน 4.98 เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกละลายที่เป็นกลาง (NDF) 23.05 และเซลลูโลสอินิน (ADF) หรือเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอก

**การทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ในอาหารชั้นต่อการย่อยได้
และความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะรูเมนของแพะ**

ละลายที่เป็นกรด 7.82 เมื่อพิจารณาค่าไขมัน ผงสังเคราะห์ และเซลลูโลสลินินพบว่า มีค่าแตกต่างกัน โดยมีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์ที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร ซึ่งความแตกต่างของสูตรอาหารอาจเนื่องมาจากความแตกต่างของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้เป็นส่วนประกอบในสูตรอาหาร

ปริมาณการกินอาหารได้ และสัมประสิทธิ์การย่อยได้

ผลการใช้ YFPKC ทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารชั้นต่อปริมาณการกินวัตถุดิบได้อย่างอิสระจาก

อาหารชั้น และอาหารหยาบในแพะลูกผสมพื้นเมืองไทย แต่ละกลุ่มที่ได้รับหญ้าพลิแคทูลัมแห้ง (ตารางที่ 2) พบว่าปริมาณการกินอาหารได้ทั้งหมด (kg/d, %BW และ g/kg W^{0.75}) เฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ทำนองเดียวกับปริมาณการกินโภชนะ (OMI, CPI และ NDFI) พบว่าทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน ($P>0.05$) และเมื่อพิจารณาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบแห้ง (DMD) อินทรีย์วัตถุ (OMD) โปรตีน (CPD) เยื่อใย (CFD) การย่อยได้ของ NDFD และ ADFD ของแพะทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารชั้นที่มี YFPKC ระดับต่าง ๆ ในสูตรอาหาร ปรากฏ

Table 2 Effects of yeast fermented palm kernel cake (YFPKC) on feed intake and apparent digestibility in goats fed on plicatulum hay as roughage

Attribute	Dietary treatment (% YFPKC levels in concentrate) ¹					SEM	Contrast ²	
	T1(0)	T2(25)	T3(50)	T4(75)	T5(100)		L	Q
Replaced SBM, %DM basis								
YFPKC levels, %DM basis	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00			
DMI								
Plicatulum hay, kg/d	0.334	0.281	0.248	0.276	0.286	0.03	NS	NS
%BW	1.18	0.99	0.89	1.01	1.03	0.13	NS	NS
g/kg W ^{0.75}	27.19	22.88	20.54	23.12	23.64	2.74	NS	NS
Concentrate, kg/d	0.518	0.517	0.499	0.502	0.513	0.04	NS	NS
%BW	1.83	1.82	1.78	1.83	1.83	0.22	NS	NS
g/kg W ^{0.75}	42.25	42.09	40.83	41.88	42.12	0.09	NS	NS
Total DMI, kg/d	0.852	0.798	0.747	0.778	0.799	0.06	NS	NS
DMI, %BW	3.01	2.82	2.67	2.84	2.86	0.20	NS	NS
DMI, g/kg W ^{0.75}	69.45	64.98	61.38	65.01	65.76	4.49	NS	NS
OMI, kg/d	0.794	0.747	0.710	0.706	0.742	0.05	NS	NS
CPI, kg/d	0.097	0.092	0.086	0.087	0.088	0.01	NS	NS
NDFI, kg/d	0.439	0.425	0.417	0.489	0.497	0.03	NS	NS
Apparent digestibility, %								
DMD	73.15 ^a	73.02 ^a	74.29 ^a	74.78 ^a	67.35 ^b	1.56	0.07	*
OMD	74.56 ^a	74.19 ^a	75.86 ^a	76.14 ^a	69.09 ^b	1.47	0.08	*
CPD	68.52 ^a	70.18 ^a	72.71 ^a	69.63 ^a	61.01 ^b	1.97	*	NS
NDFD	67.42 ^b	66.71 ^b	68.32 ^b	73.03 ^a	62.26 ^c	1.41	NS	*
ADFD	59.92 ^{ab}	57.22 ^{ab}	61.26 ^{ab}	63.39 ^a	53.64 ^b	2.40	NS	0.12

¹ T₁ = YFPKC 0%, T₂ = YFPKC 5%, T₃ = YFPKC 10%, T₄ = YFPKC 15%, T₅ = YFPKC 20%

^{a-c} Within rows not sharing a common superscripts are significantly different ($P<0.05$)

* $P<0.05$

² L = linear, Q = quadratic

SEM = Standard error of the mean (n = 5)

ว่าค่า DMD, OMD, CPD, NDFD และ ADFD ของแพะกลุ่มที่ 1-4 (0-75% YFPKC) ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มที่ 5 (100% YFPKC) ที่มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจาก ระดับเยื่อใย และไขมันที่เพิ่มสูงขึ้นตามระดับ YFPKC ที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร (ตารางที่ 1) ทำให้การย่อยได้ลดลง โดยเฉพาะผนังเซลล์ และเซลลูโลสลินิน มีสหสัมพันธ์ในเชิงลบกับปริมาณการกินอาหารได้ และการย่อยได้ของอาหาร สอดคล้องกับการศึกษาของอารีย์วรรณ และคณะ (2554) ที่รายงานว่าการเสริมอาหารชั้นที่มีส่วนประกอบของกากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันมากกว่า 30% ทำให้สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ เนื่องจากระดับเยื่อใย และไขมันที่เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ NRC (2001) รายงานว่า ปริมาณไขมันที่มากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร อาจส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินอาหารได้ ความสามารถในการย่อยได้ กระบวนการหมัก และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (bacterial growth) ในกระเพาะรูเมน ซึ่ง Devendra and Lewis (1974) สรุปว่า อาจเกิดเนื่องจาก 1) ไขมันเข้าไปหุ้ม หรือเคลือบผิวของเยื่อใยทำให้จุลินทรีย์เข้าย่อยได้ยาก หรือไม่สามารถเข้าย่อยเยื่อใยได้ 2) ไขมันอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์บางชนิด เป็นผลทำให้ประชากรจุลินทรีย์ชนิดนั้นลดลงเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน 3) กรดไขมันอาจไปมีผลต่อผนังเซลล์ (cell membrane) ของจุลินทรีย์ทำให้การทำงานลดลง และ 4) กรดไขมันสายยาวอาจไปทำปฏิกิริยากับ cation เกิดเป็น insoluble complex ซึ่งมีผลโดยตรงต่อจำนวน cation ที่จุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์ หรือมีผลทางอ้อมต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนทำให้การย่อยได้ลดลง ทำนองเดียวกับ Cheng *et al.* (1991) รายงานว่าไขมันจะเข้าไปเคลือบชั้นอาหารทำให้ยับยั้งการย่อยอาหาร โดยไปยับยั้งการเข้าจับของเซลล์จุลินทรีย์ หรือเอนไซม์ของจุลินทรีย์ที่พื้นผิวอาหาร จึงทำให้กลุ่มที่ 5 มีค่าต่ำกว่ากลุ่มอื่น ๆ

จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า YFPKC สามารถใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรได้ในระดับ 5-15 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลเสียต่อปริมาณการกินอาหารได้ สัมประสิทธิ์การย่อยได้ การย่อยได้ของโภชนะ หรือ

สมรรถภาพของสัตว์ อย่างไรก็ตาม พบว่าความสามารถในการย่อยได้ของโภชนะเฉลี่ยสูงสุดในกลุ่มที่ 4 ที่ระดับการทดแทน 75% YFPKC เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ อาจเนื่องมาจากยีสต์ที่เสริมเข้าไปบางส่วนไปกระตุ้นให้นิเวศวิทยาในรูเมนให้เหมาะสม และสามารถเพิ่มประชากรในกลุ่มที่ย่อยสลายเยื่อใยได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยไปลดระยะเวลาในการเจริญเติบโตในช่วง lag phase และตัวเซลล์ยีสต์ที่ตายแล้วจะเป็นแหล่งวิตามินบี ซึ่งจะไปช่วยในการเจริญเติบโตต่อไป (Girard and Dawson, 1995) สอดคล้องกับการศึกษาของ Chaucheyras-Durand and Fonty (2001) ที่ศึกษาการเสริมเซลล์ยีสต์มีชีวิตในลูกแกะที่กระเพาะรูเมนกำลังพัฒนา และพัฒนาแล้วพบว่า กลุ่มที่ได้รับยีสต์สามารถกระตุ้นให้กระเพาะรูเมนมีพัฒนาการได้เร็วขึ้น โดยดูจากจำนวนแบคทีเรียที่ย่อยสลายเยื่อใยที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับไม่เสริมยีสต์

อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-ด่างของของเหลวในกระเพาะรูเมน

ผลของระดับ YFPKC ทดแทนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในกระเพาะรูเมนของแพะในแต่ละช่วงเวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร (ตารางที่ 3) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม ($P>0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ (39.3-39.4 องศาเซลเซียส) ซึ่งเป็นระดับปกติที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในรูเมน (38-40 องศาเซลเซียส) (Van Soest, 1994) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือ pH ภายในรูเมนของแพะในแต่ละช่วงเวลาก็ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มเช่นกัน ($P>0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ (6.53-6.61) ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเยื่อใย และการย่อยของโปรตีน (6.0-7.0) (Hoover, 1986) และเมื่อเปรียบเทียบค่า pH ในช่วงเวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร พบว่า ค่า rumen pH ลดต่ำลง (6.18-6.31) ในช่วงเวลาที่ 4 หลังการให้อาหาร ซึ่งอาจเนื่องมาจากการเกิดกระบวนการหมักสูงสุด อย่างไรก็ตาม ค่า pH อาจถูกควบคุมโดยความเข้มข้นของระดับแอมโมเนียในกระเพาะรูเมน ซึ่งอาจเกิดขึ้นเมื่อมีการย่อยสลายยูเรียโดยจุลินทรีย์ได้เป็น CO_2 และแอมโมเนีย (2-NH_3)

Table 3 Effects of yeast fermented palm kernel cake (YFPKC) on rumen fermentation characteristics in goats fed on plicatum hay as roughage

Attribute	Dietary treatment (% YFPKC levels in concentrate) ¹					SEM	Contrast ²	
	T1(0)	T2(25)	T3(50)	T4(75)	T5(100)		L	Q
Replaced SBM, %DM basis								
YFPKC levels, %DM basis	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00			
Temperature, °C	39.4	39.4	39.3	39.3	39.4	0.16	NS	NS
Ruminal pH	6.61	6.53	6.57	6.55	6.59	0.06	NS	NS
NH ₃ -N, mg/dl	16.71	16.71	14.43	15.86	14.14	1.13	NS	NS
BUN, mg/dl	20.64 ^{ab}	21.08 ^a	19.18 ^b	21.05 ^a	20.85 ^a	1.10	NS	NS

¹ T₁ = YFPKC 0%, T₂ = YFPKC 5%, T₃ = YFPKC 10%, T₄ = YFPKC 15%, T₅ = YFPKC 20%

^{a-b} Within rows not sharing a common superscripts are significantly different (P<0.05)

² L = linear, Q = quadratic, SEM = Standard error of the mean (n = 5)

(Van Soest, 1994) สอดคล้องกับ Roman-Ponce *et al.* (1974) ที่กล่าวว่า กลุ่มโคที่ได้รับยูเรียเป็นแหล่งโปรตีนเมื่อจุลินทรีย์เข้าย่อยจะสลายตัวได้แอมโมเนียอย่างรวดเร็ว ซึ่งแอมโมเนียมีฤทธิ์เป็นด่างจึงทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มสูงขึ้น ทำนองเดียวกับ Pimpa *et al.* (1996) ที่รายงานว่า เมื่อระดับแอมโมเนียไนโตรเจน (NH₃-N) ในกระเพาะรูเมนสูงขึ้นทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มสูงขึ้นด้วย

ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนและระดับยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH₃-N) ในกระเพาะรูเมนที่เวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร และค่าเฉลี่ยรวม พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ในแต่ละกลุ่มที่ได้รับสูตรอาหาร โดยมีค่าเฉลี่ยรวมของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 14.14-16.71 mg/dL (ตารางที่ 4) ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสม 10-30 mg/dL (Ferguson *et al.*, 1993) สำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน ทำนองเดียวกับ Preston and Leng (1987) ที่รายงานว่า ระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนคือ 5-25 mg/dL ขณะที่ Mehrez *et al.* (1977) รายงานว่าเป็นค่า 15-20 mg/dL

อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่เหมาะสม ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของสัตว์ ชนิดของอาหาร โดยเฉพาะแหล่งคาร์โบไฮเดรต ปริมาณโปรตีนที่กินได้ (Lewis, 1975) ศักยภาพในการเกิดกระบวนการหมักของอาหาร ความสามารถในการย่อยสลายได้ของโปรตีน และสภาพนิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมนที่เหมาะสม (Erdmen *et al.*, 1986)

ส่วนค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (BUN) ที่เวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร และค่าเฉลี่ยรวมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ยกเว้น กลุ่มที่ 3 (50% YFPKC) มีค่าต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ก็ยังมีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ปกติในแพะ ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของสุธีและคณะ (2554) ที่ศึกษาค่าทางชีวเคมีของเลือดแพะที่เลี้ยงในภาคใต้ของประเทศไทย และ Lloyd (1982) ที่รายงานว่า ระดับปกติของ BUN ในแพะอยู่ในช่วง 11.2-27.7 mg/dL ซึ่งค่าความเข้มข้นของ BUN ปกติจะผันแปรตามหลายปัจจัย เช่น อายุ สูตรอาหาร ปริมาณโปรตีนที่กินได้ และระดับของ NH₃-N ในกระเพาะรูเมน สอดคล้องกับ Preston *et al.* (1965) ที่รายงานว่า ค่าของ BUN มีสหสัมพันธ์สูง (highly correlation) กับปริมาณโปรตีนที่กินได้ และสัมพันธ์กับระดับการผลิตแอมโมเนียในกระเพาะรูเมน (Lewis, 1975)

Table 4 Effects of yeast fermented palm kernel cake (YFPKC) on volatile fatty acid profiles in goats fed on plicatum hay as roughage

Attribute	Dietary treatment (% YFPKC levels in concentrate) ¹					SEM	Contrast ²	
	T1(0)	T2(25)	T3(50)	T4(75)	T5(100)		L	Q
Replaced SBM, %DM basis								
YFPKC levels, %DM basis	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00			
Total VFA, mmol/ L	75.5	78.1	75.0	79.2	76.3	4.58	NS	NS
Molar proportion of VFA, mol/ 100mol								
Acetate (C ₂)	62.3	62.3	62.3	62.6	61.7	0.84	NS	NS
Propionate (C ₃)	27.1	26.9	26.2	26.2	26.9	0.41	NS	NS
Butyrate (C ₄)	10.7	10.7	11.5	11.3	11.4	0.32	NS	NS
C2:C3 ratio	2.3	2.3	2.4	2.4	2.3	0.10	NS	NS

¹ T₁ = YFPKC 0%, T₂ = YFPKC 5%, T₃ = YFPKC 10%, T₄ = YFPKC 15%, T₅ = YFPKC 20%

^{a-b} Within rows not sharing a common superscripts are significantly different (P<0.05)

² L = linear, Q = quadratic

SEM = Standard error of the mean (n = 5)

ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ในกระเพาะ รูเมน

ผลการใช้ YFPKC ทดแทนกากถั่วเหลืองต่อค่าความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ จากการทดลองพบว่า ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมด กรดอะซิติก กรดไพรูวอิก กรดบิวทิริก และสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดไพรูวอิก ในการทดลองนี้มีค่าเฉลี่ยระหว่าง 75.0-79.2 มิลลิโมลต่อลิตร 61.7-62.6, 26.2-27.1, 10.7-11.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันที่ระเหยได้ทั้งหมด และสัดส่วนมีค่า 2.3-2.4 โดยทุกค่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P>0.05$) ใกล้เคียงกับรายงานของปิ่น และสุภิญญา (2555) ที่ศึกษาผลของระดับเนื่อในเมล็ดยางพารา และกากเนื่อในเมล็ดปาล์มน้ำมันในสูตรอาหารชั้น ซึ่ง France and Siddons (1993) รายงานว่า ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมดในกระเพาะรูเมนปกติมีค่าระหว่าง 70-130 mmol/L ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณการกินได้ และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ สอดคล้องกับ Sutton (1985) ที่รายงานว่าการผลิตกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมด มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ คือเมื่อความสามารถในการย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุเพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้การผลิตกรดไขมันระเหยได้เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

กากเนื่อในเมล็ดปาล์มน้ำมันหมักยีสต์สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองได้ในระดับ 25-75 เปอร์เซ็นต์ หรือใช้ได้ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารแพะ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ และกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาในแพะขุนหรือแพะรีดนมในระยะต่าง ๆ ในสภาพการเลี้ยงของเกษตรกร ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ปิ่น จันจุฬา และ สุภิญญา ชูใจ. 2555. ผลของระดับเนื่อในเมล็ดยางพาราและกากเนื่อในเมล็ดปาล์มน้ำมันในสูตรอาหารชั้นต่อนิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมนและสมดุลไนโตรเจนในแพะที่ได้รับหญ้าชิกแนลแห้งเป็นอาหารหลัก. วารสารเกษตร 28(2): 101-112.
- สุธี รัตนะ อรษา อรุณสกุล และปิยนันท์ สังข์ไพฑูร. 2554. ค่าทางชีวเคมีของเลือดแพะที่เลี้ยงในภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารเกษตร 27(3): 283-292.

- อารีย์วรรณ มีแสง ปิ่น จันจุฬา วันวิศาข์ งามผ่องใส และ
อภิชาติ หล่อเพชร. 2554. ผลการใช้กากเนื้อใน
เมล็ดปาล์มน้ำมันในสูตรอาหารชั้นต่อการย่อย
ได้ และนิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมนของแพะ.
วารสารเกษตร 27(1): 87-99.
- Antai, S. P. and P. M. M. Bongo. 1994. Utilization of
cassava peels as substrate for crude
protein formation. *Plant Foods for Human
Nutrition* 46: 345-353.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analyses, 15th ed.
Association of Official Analytical Chemists.
Arlington, VA. 1298 p.
- Bremner, J. M. and D. R. Keeney. 1965. Steam
distillation methods of determination of
ammonium nitrate and nitrite. *Analytica
Chimica Acta* 32: 485-493.
- Chaucheyras-Durand, F. and G. Fonty. 2001.
Establishment of cellulolytic bacteria and
development of fermentative activities in the
rumen on gnotobiotically-reared lambs
receiving the microbial additive
Saccharomyces cerevisiae CNCM I-1077.
Reproduction Nutrition Development 41: 57-
68.
- Cheng, K. J., C. W. Forsberg, H. Mnato and J. W.
Costerton. 1991. Microbial ecology and
physiology of feed degradation without the
rumen. *In*: Tsuda T., Y. Sasaki and R.
Kawashima (eds.), *Physiology Aspects of
Digestion and Metabolism in Ruminants*:
Proceedings of the Seventh International
Symposium on Ruminant Physiology,
Academic Press, Inc., San Diego, CA. pp.
595.
- Crocker, C. L. 1967. Rapid determination of urea
nitrogen in serum or plasma without
deproteinization. *American Journal of
Medical Technology* 33: 361-365.
- Devendra, C. and D. Lewis. 1974. The interaction
between dietary lipids and fibre in the
sheep. *Animal Production* 19: 67-75.
- Erdman, R. A., G. H. Proctor and J. H. Vandersall.
1986. Effect of ruminal ammonia
concentration on *in situ* rate and extent of
digestion of feedstuffs. *Journal of Dairy
Science* 69: 2312-2320.
- Ferguson, J. D., D. T. Galligan, T. Blanchard and M.
Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and
conception rate: the usefulness of test
information. *Journal of Dairy Science* 76:
3742-3746.
- France, J. and R. C. Siddons. 1993. Volatile fatty acid
production. *In*: J. M. Forbes and J. France
(eds.), *Quantitative Aspects Ruminant
Digestion and Metabolism*. pp. 107-122.
C.A.B. International, Willingford. UK.
- Girard, I. D. and K. A. Dawson. 1995. Effect of a
yeast culture on growth characteristics of
representative ruminal bacteria. *Journal of
Animal Science* 73: 264.
- Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage
Fiber Analysis (apparatus, reagents,
procedures, and some applications).
Agriculture Handbook. No. 370, USDA-
ARS, Washington, D.C.
- Hoover, W. H. 1986. Chemical factors involved in
ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy
Science* 69: 2755-2766.
- Lewis, D. 1975. Blood urea concentration in relation
to protein utilization in the ruminant. *Journal
of Agricultural Science (Cambridge)* 48:
438-446.
- Lloyd, S. 1982. Blood characteristics and the
nutrition of ruminants. *British Veterinary
Journal* 138: 70-85.

- Mehrez, A. Z., E. R. Ørskov and I. McDonald. 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *British Journal of Nutrition* 38: 437-443.
- NRC. 1981. *Nutrient Requirements of Goats: Angora, Dairy and Meat Goat in Temperate and Tropical Countries*. The National Academy Press, Washington, D. C.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. National Academy Press, Washington, D. C.
- Pimpa, O., M. Wanapat, K. Sommart, S. Uriyapongson and D. S. Parker. 1996. Effect of level of ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ on straw intake, digestibility, ruminal fermentation and urinary purine excretion in swamp buffaloes. *Proceeding of the International Workshop on Draft Animal Power to Increase Farming Efficiency and Sustainability*. Khon Kaen University, Thailand.
- Preston, T. R. and R. A. Leng. 1987. *Matching Ruminant Production Systems with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics*. Penambull Book Armidale, Australia.
- Preston, R. L., D. D. Schnakanberg and W. H. Pfander. 1965. Protein utilization in ruminants. I. Blood urea nitrogen as affected by protein intake. *Journal of Nutrition* 86: 281-287.
- Roman-Ponce, H., H. H. Van Horn, S. P. Marshall, C. J. Wilcox and P. F. Rendel. 1974. Complete rations for dairy cattle. V. Interaction of sugarcane bagasse quantity and form with soybean meal, urea and starea. *Journal of Dairy Science* 58: 1320-1328.
- Samuel, M., S. Sagathewan, J. Thomas and G. Mathen. 1997. An HPLC method for estimation of volatile fatty acids of ruminal fluid. *Indian Journal of Animal Sciences* 67: 805-807.
- Schneider, B. H. and W. P. Flatt. 1975. *The Evaluation of Feeds Through Digestibility Experiments*. The University of Georgia Press, Georgia.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometerial Approach*. (2nd ed.). McGraw-Hill, New York.
- Sutton, J. D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *Journal of Dairy Science* 68: 3376-3393.
- Tewe, O. O. 1991. Detoxification of cassava products and effects of residual toxins on consuming animals. *Proceedings of the FAO Expert consultation meeting on Roots, Tubers, Plantains and Bananas in Animal Feeding*; FAO Rome. pp. 81.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. (2nd ed.). Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Wallace, R. J. and C. J. Newbold. 1993. Rumen fermentation and its manipulation: the development of yeast cultures as feed additives. *In: Lyons, T.P., (Ed), Biotechnology in the Feed Industry Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky*. pp. 173.

ผลของระดับโปรตีนในอาหารต่อการย่อยได้ เมแทบอลิท์ ในกระแสเลือด และสมรรถภาพการผลิตของแพะรีดนม

Effects of Dietary Protein Levels on Digestibility, Blood Metabolites, and Production Performance of Lactating Dairy Goats

ปิ่น จันจุฬา^{1/} พัชรินทร์ ภักดีฉนวน^{2/} ศิริวัฒน์ วาสิกศิริ^{1/}
และ สมพงษ์ เทศประสิทธิ์^{1/}

Pin Chanjula^{1/}, Patcharin Pakdeechnuan^{2/}, Siriwat Wasiksiri^{1/}
and Sompong Tedprasit^{1/}

Abstract: Eight 75% crossbred Saanen dairy goats (BW 50 ±3.0 kg) with 60 ±10 days in lactation were randomly assigned to a Switch-back design to evaluate the effect of 4 dietary protein levels in concentrate i.e. 16, 17, 18 and 19% on digestibility, blood metabolites and production performance. The goats were offered the treatment concentrate at a ratio to milk yield at 1:2. Ruzi grass was given on an *ad libitum* basis as roughage. The results revealed that total DM intake, milk production and milk composition were similar among treatments ($P>0.05$), whereas CP digestibility and milk urea nitrogen increased as increasing dietary protein levels in concentrate ($P<0.05$). It could be concluded that the optimal level of CP in concentrate should be 16-17% for dairy goats without altering feed intake, milk yield and milk composition.

Keywords: Protein level in concentrate, milk yield, milk quality, dairy goat, digestibility

^{1/} ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา 90112

^{1/} Department of Animal Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla 90112

^{2/} ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.ปัตตานี

^{2/} Department of Food Science and Nutrition, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani Campus, Pattani 94000

* Corresponding author: pin.c@psu.ac.th

บทคัดย่อ: ศึกษาผลของระดับโปรตีนในอาหารขึ้นต่อการย่อยได้ เมแทบอลิซึมในเลือด และสมรรถภาพการผลิตของแพะรีดนม โดยสุ่มแพะให้ได้รับอาหารทดลอง 4 สูตร คือ อาหารขึ้นที่มีระดับโปรตีน 16, 17, 18 และ 19 เปอร์เซ็นต์ ตามแผนการทดลองแบบสลับ (Switch-back design) ใช้แพะนมลูกผสมเลือดชาเนน 75 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 8 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 50 ± 3.0 กิโลกรัม ซึ่งมีจำนวนวันของการให้นมเฉลี่ย 60 ± 10 วัน โดยแพะนมทุกตัวให้กินหญ้าที่สดเป็นอาหารหยาบแบบเต็มที่ได้ และได้รับสัดส่วนอาหารขึ้นต่อปริมาณน้ำนมเป็น 1 ต่อ 2 ผลการทดลองพบว่า ปริมาณการกินได้ ผลผลิต และองค์ประกอบน้ำนมของทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน ($P > 0.05$) ขณะที่ การย่อยได้ของโปรตีน และค่าความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในน้ำนมเพิ่มขึ้นตามระดับโปรตีนในอาหารขึ้นที่เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า ระดับโปรตีน 16-17 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารขึ้น เป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับแพะรีดนม โดยไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ ผลผลิตและองค์ประกอบของน้ำนม

คำสำคัญ: ระดับโปรตีนในอาหารขึ้น ผลผลิตน้ำนม คุณภาพน้ำนม แพะนม การย่อยได้

คำนำ

แพะ (goat, *Capra hircus*) เป็นสัตว์เลี้ยงที่พบทั่วไปในภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแถบที่มีภูมิอากาศร้อนและแห้ง แพะเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็กที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพราะมีศักยภาพในการเปลี่ยนอาหารหยาบ และเศษเหลือผลพลอยได้ทางการเกษตรให้เป็นเนื้อ และนมที่มีคุณภาพดี ปัจจุบันนมแพะมีการผลิต และการบริโภคเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีสารอาหารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ และมีคุณสมบัติหลายประการที่ดีเด่นกว่านมโค เช่น มีวิตามินและแร่ธาตุสูงกว่า มีกรดไขมันสายโซ่สั้น และเม็ดไขมันขนาดเล็กสามารถย่อยสลายและดูดซึมได้ง่าย (Murry *et al.*, 1999) มีปริมาณโปรตีนชนิด α_1 -casein น้อยกว่านมโคจึงไม่ทำให้เกิดการแพ้ (Clark and Sherbon, 2000) นอกจากนี้โปรตีนยังมีอนุภาคขนาดเล็กจึงย่อย และนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายกว่านมโค อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเป็นยา (nutraceutical food) ด้วย อย่างไรก็ตาม มีปัจจัยหลายประการที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตน้ำนมทั้งปริมาณ และคุณภาพ ได้แก่ พันธุ์ ยีนไทป์ โรคและพยาธิ อาหารและการจัดการ เป็นต้น โดยอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อปริมาณผลผลิต คุณภาพของน้ำนมแพะ และต้นทุนการผลิตน้ำนม เพราะคิดเป็นรายจ่าย 40-70 เปอร์เซ็นต์ ของต้นทุนการผลิตน้ำนม การให้อาหารแพะนม โดยเฉพาะแม่แพะระยะให้นมจึงต้องมีคุณค่าทางโภชนาสูงเพียงพอกับความต้องการของร่างกายที่สามารถ

ผลิตน้ำนมได้ตามศักยภาพ โดยเฉพาะระดับโปรตีน และพลังงานที่เหมาะสมในสูตรอาหารขึ้นของแพะนม ซึ่งโปรตีนในอาหารมีความสำคัญทั้งต่อตัวสัตว์ และการเจริญของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (McCarthy *et al.*, 1989) ที่ทำหน้าที่ในการย่อยเยื่อใย ผลิตรดไขมันที่ระเหยได้ และสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนซึ่งจำเป็นต่อการสังเคราะห์สารอาหารที่เป็นส่วนประกอบของน้ำนม สอดคล้องกับ Sanz Sampelayo *et al.* (1998) ที่รายงานว่าการเพิ่มระดับโปรตีนที่เหมาะสมจะทำให้ให้นมมีผลผลิตสูงขึ้น ดังนั้น ถ้าสัตว์ได้รับไม่เพียงพอจะมีผลต่อปริมาณการกินได้ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ตลอดจนการดูดซึม และนำไปสร้างเป็นผลผลิต อย่างไรก็ตาม ข้อมูลงานวิจัยเกี่ยวกับระดับโปรตีนในอาหารขึ้นต่อผลผลิต และคุณภาพน้ำนมในแพะรีดนมยังมีจำกัด ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของระดับโปรตีนในอาหารขึ้นต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ เมแทบอลิซึมในเลือด และองค์ประกอบของน้ำนมในแพะรีดนมลูกผสมชาเนน

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง แผนการทดลอง และการเตรียมอาหารทดลอง

ใช้แพะลูกผสมเลือดชาเนนประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักเฉลี่ย 50 ± 3.0 กิโลกรัม จำนวน 8 ตัว และให้น้ำนมมาแล้ว (day in milk, DIM) เฉลี่ย 60 ± 10 วัน

โดยสัตว์ทุกตัวได้รับการถ่ายพยาธิภายในตัว และวิตามิน AD₃E ก่อนเข้าทดลองอย่างน้อย 1 สัปดาห์ เลี้ยงในคอกขังเดี่ยวยกพื้น จำนวน 8 คอก มีรางอาหารหยاب อาหารข้น และที่ให้น้ำอยู่ด้านหน้า ทำการสุ่มแพะให้ได้รับทรีทเมนต์ตามแผนการทดลองแบบ Switch-back design โดยได้รับอาหารข้นที่มีโปรตีน 4 ระดับ คือ 16, 17, 18, และ 19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอาหารข้นทุกสูตรมีโภชนาการต่างๆ ตามความต้องการของแพะตามคำแนะนำของ NRC (1981) (ตารางที่ 1) ทำการทดลอง 3 ช่วง ๆ ละ 21 วัน ซึ่งประกอบด้วยระยะปรับตัว (adaptation period) 14 วัน และระยะทดลอง (experimental period) 7 วัน โดยใน

ระยะปรับตัวให้แพะได้รับหญ้าที่สดแบบเต็มๆ ร่วมกับการให้อาหารข้นตามสัดส่วนของอาหารข้นต่อน้ำนม 1:2 วันละ 2 ครั้ง ในเวลา 07.00 และ 16.00 นาฬิกา ทำการวัดปริมาณอาหารที่ให้ และอาหารที่เหลือทิ้งในช่วงเช้า และช่วงเย็นของทุกวันเพื่อหาปริมาณการกินได้ และบันทึกปริมาณน้ำนมที่ได้จากแพะนมแต่ละตัว (รีดด้วยมือ) ในตอนเช้า และตอนเย็นทุกวันตลอดการทดลอง เพื่อใช้เป็นค่าปรับปริมาณการให้อาหารข้นในวันถัดไป ส่วนในระยะทดลอง ให้แพะได้รับอาหารตามกลุ่มทดลองเหมือนระยะปรับตัว แต่ลดปริมาณอาหารหยابที่ให้เหลือเพียง 90 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณที่กินได้ในช่วงระยะปรับตัว

Table 1 Ingredient and chemical composition of dairy goat rations (% DM basis)

Nutrient composition	Dietary protein level (% CP)				Ruzi grass
	16% CP	17% CP	18% CP	19% CP	
Ingredients					
Ground corn, GC	54.31	51.45	48.59	45.74	-
Palm kernel meal, PKM	10.00	10.00	10.00	10.00	-
Soybean meal, SM	19.69	22.55	25.41	28.26	-
Rice bran, RB	10.00	10.00	10.00	10.00	-
Molasses	3.00	3.00	3.00	3.00	-
Dicalcium phosphate	1.0	1.0	1.0	1.0	-
Mineral mix ¹	1.00	1.00	1.00	1.00	-
Salt	1.00	1.00	1.00	1.00	-
Chemical composition					
DM ²	91.2	90.3	90.1	90.3	33.32
Ash	5.31	5.30	5.29	5.28	6.62
OM	94.69	94.7	94.71	94.72	93.38
CP	16.27	17.47	18.40	19.43	7.37
EE	4.12	4.24	4.96	5.12	1.30
NSC ⁴	54.99	53.84	52.56	51.61	17.06
NDF	19.31	19.15	18.79	18.56	67.65
ADF	6.67	6.54	6.43	6.12	44.67

¹ Minerals and vitamins (each kg contains): Vitamin A: 10,000,000 IU; Vitamin E: 70,000 IU; Vitamin D: 1,600,000 IU; Fe: 50 g; Zn: 40 g; Mn: 40 g; Co: 0.1 g; Cu: 10 g; Se: 0.1 g; I: 0.5 g

² DM: dry matter; OM: organic matter; CP: crude protein; EE: ether extract; NSC: Non-structural carbohydrate; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber

³ Estimated: NSC = 100-(%CP+%NDF+%EE+%Ash)

การเก็บตัวอย่าง การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของแพะ โดยชั่งน้ำหนักก่อนเข้าช่วงการทดลองและในวันสุดท้ายของแต่ละช่วงการทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารหยาบ และอาหารข้นทั้งอาหารที่ให้ และอาหารที่เหลือ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ยของวัตถุแห้ง และคำนวณหาปริมาณการกินได้ของสัตว์ในแต่ละวัน อีกส่วนหนึ่งนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี เช่น วัตถุแห้ง (dry matter, DM) โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) เถ้า (Ash) ตามวิธีการของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ Neutral detergent fiber (NDF) และ Acid detergent fiber (ADF) ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970) รวมทั้งวิเคราะห์หาเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid-insoluble ash, AIA) โดยใช้ 2N HCl ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1977)

สุ่มเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะรูเมน (rumen fluid) ของสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่ม ที่เวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร โดยใช้ stomach tube ร่วมกับ vacuum pump ในวันสุดท้ายของแต่ละระยะทดลอง ปริมาณ 100 มล. นำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างทันทีโดยใช้ pH meter (HANNA instruments HI 98153 microcomputer pH meter) หลังจากนั้น สุ่มเก็บประมาณ 20 มิลลิลิตร เติม 1M H₂SO₄ จำนวน 2 มิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์หาแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia-nitrogen, NH₃-N) โดยวิธีการกลั่น (Bremner and Keeney, 1965) ด้วยเครื่อง KJELTEC AUTO 2200 Analyzer (Foss, TECATOR) เก็บตัวอย่างเลือด ที่เวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหารในวันสุดท้ายของแต่ละระยะทดลอง โดยเก็บจากเส้นเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (jugular vein) ปริมาณ 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดที่มีเฮพาริน (heparinized) เพื่อป้องกันไม่ให้เลือดแข็งตัว หลังจากนั้น นำมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที ใช้เวลา 10 นาที และเก็บส่วนพลาสมา (plasma) เพื่อนำมาวิเคราะห์หาระดับยูเรียในเลือด (blood urea-nitrogen, BUN) (Crocker, 1967) โดยใช้เครื่อง

spectrophotometer และวิเคราะห์ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดใช้วิธี GOD-PAP method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูป (Glucose Liquicolor®, Germany) นอกจากนี้ ทำการเก็บมูลทุกตัวในแต่ละระยะการทดลอง 3 วัน สุดท้ายติดต่อกันในช่วงเช้า โดยล้างจากทวารหนัก (rectal sampling) แล้วนำมารวมกันในปริมาณที่เท่ากันก่อนนำตัวอย่างมูลอบในตูบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มม. เก็บใส่ถุงที่ทำเครื่องหมายไว้เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะโดยใช้เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid-insoluble ash, AIA) เป็นตัวบ่งชี้ภายใน ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1977) ดังสมการ

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง} = 100 - \frac{100 \times (\% \text{AIA ในอาหาร})}{(\% \text{AIA ในมูล})}$$

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ} = 100 - \frac{100 \times (\% \text{AIA ในอาหาร}) \times (\% \text{โภชนะในมูล})}{(\% \text{AIA ในมูล}) \times (\% \text{โภชนะในอาหาร})}$$

การเก็บตัวอย่างน้ำนม สุ่มเก็บ 2 วันสุดท้าย ติดต่อกันของแต่ละช่วงการทดลองในตอนเช้า และตอนเย็น แล้วนำมารวมเข้าด้วยกันตามสัดส่วนของน้ำนมที่ได้เก็บไว้ในขวดที่มี potassium dichromate 250 มิลลิกรัม เพื่อรักษาสภาพของน้ำนมและเก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอวิเคราะห์องค์ประกอบที่สำคัญได้แก่ โปรตีน ไขมัน แลคโตส ของแข็งทั้งหมด และของแข็งที่ไม่รวมไขมันด้วยเครื่อง Milk Analyzer (Lacto Scan, Model 3510) นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์หาความแปรปรวน (ANOVA) ตามแผนการทดลอง แบบ Switch-back design โดยใช้ Proc GLM และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test และศึกษาแนวโน้มการตอบสนองของการเพิ่มระดับโปรตีนด้วยวิธี Orthogonal polynomial (Steel and Torrie, 1980)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนต่างกัน 4 ระดับ คือ 16, 17, 18 และ 19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) พบว่า อินทรีย์วัตถุ โปรตีนรวม ไขมันรวม เถ้า คาร์โบไฮเดรตที่ไม่เป็นโครงสร้าง ผงเซลลูโลส และลิกโนเซลลูโลส มีค่าอยู่ในช่วง 94.69-94.72 เปอร์เซ็นต์ 16.27-19.43 เปอร์เซ็นต์ 4.12-5.12 เปอร์เซ็นต์ 5.28-5.31 เปอร์เซ็นต์ 51.61-54.99 เปอร์เซ็นต์ 18.56-19.31 เปอร์เซ็นต์ และ 6.12-6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์โปรตีนและไขมันรวมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร ขณะที่คาร์โบไฮเดรตที่ไม่เป็นโครงสร้างลดลง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากมีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมเพิ่มขึ้นในสูตรอาหารชั้นที่มีระดับโปรตีนสูง ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีองค์ประกอบของไขมันรวมสูงกว่าข้าวโพดบดที่นิยมใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์ สำหรับเปอร์เซ็นต์เถ้า ผงเซลลูโลส และลิกโนเซลลูโลสของทุกสูตรมีค่าใกล้เคียงกัน

ปริมาณการกินได้ สมประสิทธิการย่อยได้ และปริมาณการกินได้ของโภชนาที่ย่อยได้

ผลของระดับโปรตีนในสูตรอาหารชั้นต่างกัน (16, 17, 18 และ 19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ต่อปริมาณการกินวัตถุดิบได้อย่างอิสระของแพะรีดนมลูกผสมแต่ละกลุ่มที่ได้รับหญ้าที่สดเป็นแหล่งอาหารหยาบ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ทั้งในแง่ของปริมาณการกินได้ของอาหารหยาบ อาหารชั้น และปริมาณการกินได้ทั้งหมดทั้งที่คิดเป็นปริมาณเฉลี่ย (kg/d) และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (%BW) หรือกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักแม่แพะอลิก (g/kg $W^{0.75}$) ของทุกกลุ่ม (ตารางที่ 2) โดยปริมาณการกินได้ทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 1.26-1.50 กิโลกรัมวัตถุดิบแห้งต่อตัวต่อวัน ใกล้เคียงกับรายงานของ Arieli *et al.* (2005) ที่ศึกษาผลของระดับโปรตีน (16 และ 18% CP) ในแพะลูกผสมซาเนนต่อปริมาณการกินได้ทั้งหมดของอาหาร มีค่าเฉลี่ย 1.3 kg/d เมื่อพิจารณาสมประสิทธิการย่อยได้ของวัตถุดิบ (DM) อินทรีย์วัตถุ (OM) โปรตีน (CP) การย่อยได้ของ NDF และ ADF ของ

แพะรีดนมทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารชั้นที่มีโปรตีนระดับต่าง ๆ ในสูตรอาหาร ปรากฏว่า สมประสิทธิการย่อยได้ของ DM, OM, NDF และ ADF ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ในขณะที่สมประสิทธิการย่อยได้ของโปรตีนในกลุ่มที่ได้รับอาหารชั้นที่มีโปรตีน 19 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารชั้นที่มีโปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง ($L: P=, 0.04$) ตามการเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีนในสูตรอาหาร สอดคล้องกับ Olmos Colmenero and Broderick (2006) ที่รายงาน ว่า สมประสิทธิการย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มขึ้นตามระดับโปรตีนในสูตรอาหาร โดยมีค่าเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง ($L: P=, 0.01$) และมีค่าสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับโปรตีน 19.4 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณการขับของไนโตรเจนในมูลน้อยตามระดับกากถั่วเหลืองที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร ดังนั้นสมประสิทธิการย่อยได้ของไนโตรเจนเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับอาหารโปรตีนสูงกว่า (Holter *et al.*, 1982)

แต่เมื่อพิจารณาปริมาณการกินได้ของโภชนาที่ย่อยได้ของแพะรีดนมที่ได้รับอาหารชั้นทั้ง 4 สูตร พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณอาหารที่กินได้ทั้งหมดไม่แตกต่างกัน และจุลินทรีย์ได้รับพลังงาน และไนโตรเจน (N) เพียงพอต่อกระบวนการหมักภายในกระเพาะรูเมน

กระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน และเมแทบอลิซึมในเลือด

ค่าความเข้มข้นของระดับแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) ภายในกระเพาะรูเมน พบว่ามีค่าเฉลี่ยรวมอยู่ในช่วง 16.67-21.35 mg/dl ซึ่งค่าแตกต่างกัน แต่อยู่ในเกณฑ์ที่ปกติ และเหมาะสมในแพะสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน คือ 10-30 mg/dl (Ferguson *et al.*, 1993) ทำนองเดียวกับค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (BUN) ที่เวลา 0 และ 4 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร และค่าเฉลี่ยรวมพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีความสัมพันธ์กันในรูปแบบเส้นตรง (linear contrast) ($P=.02, .02$ และ $.04$ ตามลำดับ) ตามระดับโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหารชั้น

Table 2 Least square means for feed intake, nutrient intake and nutrient digestibility affected by increasing dietary protein level of dairy goats fed on ruzi grass as roughage

Attribute	Dietary protein level (DM basis)					Contrast P-value ¹		
	16% CP	17% CP	18% CP	19% CP	SEM	L	Q	C
DMI, kg/d								
Ruzi grass, kg/d	0.520	0.534	0.541	0.546	0.01	NS	NS	NS
Concentrate, kg/d	0.758	0.966	0.872	0.718	0.12	NS	NS	NS
Total DMI, kg/d	1.27	1.50	1.41	1.26	0.12	NS	NS	NS
%BW	2.50	2.98	2.88	2.80	0.23	NS	NS	NS
g/kg W ^{0.75}	66.81	79.38	76.33	72.60	5.63	NS	NS	NS
Total-tract apparent digestibility (%)								
DM	72.50	74.28	73.80	72.64	0.82	NS	NS	NS
OM	74.44	75.90	75.46	74.55	0.80	NS	NS	NS
CP	64.92 ^b	71.07 ^{ab}	72.77 ^{ab}	73.60 ^a	1.96	0.04	NS	NS
NDF	58.40	58.44	59.60	61.75	1.00	NS	NS	NS
ADF	52.33	53.35	53.45	54.76	1.18	NS	NS	NS
Digestible nutrient intake, g/d								
DOM	905.43	1082.21	1004.22	888.46	91.64	NS	NS	NS
DCP	106.51	150.11	146.49	135.74	16.03	NS	NS	NS
DNDF	324.84	356.49	345.93	354.79	16.71	NS	NS	NS
DADF	149.34	164.30	160.20	159.67	6.59	NS	NS	NS

^{a-b} Within rows not sharing a common superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

¹ L = linear, Q = quadratic, C = cubic; SEM = Standard error of the mean (n = 6)

แต่ค่าดังกล่าวอยู่ในเกณฑ์ปกติในแพะ สอดคล้องกับ Lloyd (1982) ที่รายงานว่า ระดับปกติของ BUN ในแพะ อยู่ในช่วง 11.2-27.7 mg/dl ซึ่งค่าความเข้มข้นของ BUN ปกติจะผันแปรขึ้นอยู่กับการเลี้ยงดู เช่น อายุ อาหาร ปริมาณโปรตีนที่กินได้ โดยเฉพาะระดับของ $\text{NH}_3\text{-N}$ ใน กระเพาะรูเมน ดังนั้น การเพิ่มของระดับ $\text{NH}_3\text{-N}$ ใน กระเพาะรูเมน จึงมีผลต่อการเพิ่มของระดับ BUN ใน กระแสเลือด สอดคล้องกับ Preston *et al.* (1965) ที่ รายงานว่า ค่า BUN มีสหสัมพันธ์สูง (highly correlation) กับปริมาณโปรตีนที่กินได้ และสัมพันธ์กับระดับการผลิต แอมโมเนียในกระเพาะรูเมน (Kung and Huber, 1983) โดยถ้ามีการย่อยสลายโปรตีนให้ได้เป็น $\text{NH}_3\text{-N}$ มากขึ้น ก็ จะมีการดูดซึมผ่านกระเพาะรูเมนเข้าสู่กระแสเลือดได้มาก ขึ้นด้วย ทำให้ระดับความเข้มข้นของ BUN ในกระแสเลือด เพิ่มขึ้น

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของเลือดแพะ ทดลอง พบว่ามีค่าเฉลี่ยรวมกลูโคสในกระแสเลือด และค่า ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) ไม่แตกต่างกัน ระหว่างกลุ่ม ($P > 0.05$) โดยกลูโคสมีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ ในแพะ คือ 50 to 75 mg/dL (2.77 to 4.16 mmol/L) (Kaneko, 1980) ใกล้เคียงกับรายงานของอารีวรณ และคณะ (2554) ที่รายงานว่า ค่าเฉลี่ยรวมกลูโคสของ แพะลูกผสมมีค่าในช่วง 62.11-64.73 mg/dL และมีค่า PCV ในเกณฑ์ปกติที่รายงานโดย Jain (1993) อยู่ในช่วง 22-38 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่า PCV หรือค่าฮีมาโตคริต (hematocrit) เป็นดัชนีที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ใช้นิยาม หรือ ประเมินความสมบูรณ์ของร่างกายแพะและสุขภาพสัตว์ เปื่องตัน โดยประเมินความผิดปกติของเลือดของสัตว์ โดย หากค่า PCV ต่ำกว่าปกติ แสดงว่ามีอาการของโรคโลหิต ภาวะ (anemia) ในทางตรงกันข้ามหากค่า PCV สูงกว่า

ปกติ สัตว์จะมีอาการของโรคโพลีซีเมีย (polycythemia) ซึ่งเกิดจากการสร้างเม็ดเลือดแดงที่มากเกินไป (Jain, 1993)

ปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม

ผลของระดับโปรตีนในสูตรอาหารขึ้นต่อปริมาณน้ำนม และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 4) แม้ว่าระดับโปรตีนในสูตรอาหารชั้นที่ 17 เปอร์เซนต์ ให้ปริมาณน้ำนมสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ ($P>0.05$) สอดคล้องกับ Clarke and Davis (1980) ที่รายงานว่ามีปริมาณน้ำนมเพิ่มสูงขึ้น ตอบสนองต่อระดับโปรตีนในอาหารที่เพิ่มขึ้นจาก 13.5-16.5% CP ในรูปแบบเส้นตรง (linear response) โดยเพิ่มในอัตราที่ลดลง และได้รับผลประโยชน์น้อยมากเมื่อระดับโปรตีนในสูตรอาหารมากกว่า 17.5% CP (Grings *et al.*, 1991) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ที่พบว่า ระดับโปรตีนในสูตรอาหารชั้นที่สูงกว่า 17 เปอร์เซนต์ ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำนม แต่ปริมาณน้ำนมที่เพิ่มขึ้นส่วนใหญ่เกิดจากความสามารถในการย่อยอาหาร และปริมาณการกินได้ของวัตถุดิบที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร (Roffler *et al.*, 1986) ขณะที่ค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในน้ำนม (MUN) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีความสัมพันธ์กันในรูปแบบเส้นตรง (linear contrast) ($P=0.04$) ตามระดับโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในสูตร

อาหารชั้น อาจเนื่องมาจากการกินได้ของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Butler *et al.* (1996) ที่รายงานว่ามีสหสัมพันธ์สูง (highly correlation) กับปริมาณโปรตีนที่กินได้ และค่า BUN ($r=0.83$) แต่ไม่ผลต่อคุณภาพน้ำนม (Broderick and Clayton, 1997) ในทำนองเดียวกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม พบว่าเปอร์เซ็นต์ไขมัน เปอร์เซนต์โปรตีน แลคโตส ของแข็งที่ไม่ใช่ไขมัน (SNF) และเปอร์เซ็นต์ของแข็งทั้งหมด (TS) รวมทั้งค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความถ่วงจำเพาะ และถักรวมของทุกกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และอยู่ในเกณฑ์ปกติของนมแพะในภาคใต้ที่รายงานโดย Wasiksiri *et al.* (2010) และใกล้เคียงกับที่รายงานโดยสุภาณี และคณะ (2556) และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มอกช. 6006-2551) ของน้ำนมแพะดิบ พบว่ามีค่าสูงกว่า และอยู่ในระดับดีมาก (very good) คือมีค่าเปอร์เซ็นต์ไขมัน โปรตีน และของแข็งทั้งหมดมากกว่า 4, 3.7 และ 13 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.53-6.78 เมื่อพิจารณาค่าความถ่วงจำเพาะพบว่าอยู่ในช่วง 1.27-1.43 ใกล้เคียงกับรายงานของ Wasiksiri *et al.* (2010) และมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2551) ของน้ำนมแพะดิบ คือมากกว่า 1.028 ตามลำดับ ขณะที่ ถักรวมมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

Table 3 Least square means for rumen fermentation characteristics and blood metabolized affected by increasing level of protein of dairy goats fed on ruzi grass as roughage

Attribute	Dietary protein level (DM basis)				SEM	Contrast P-value ¹		
	16% CP	17% CP	18% CP	19% CP		L	Q	C
NH ₃ -N, mg/dl	16.67 ^b	18.30 ^{ab}	19.02 ^{ab}	21.35 ^a	0.85	0.02	NS	NS
BUN, mg/dl	16.91 ^b	19.71 ^{ab}	19.34 ^{ab}	21.72 ^a	0.95	0.04	NS	NS
GLU, mg/dl	63.14	67.51	66.48	65.89	2.09	NS	NS	NS
PCV (%)	28.10	28.45	29.67	30.51	1.15	NS	NS	NS

^{a-b} Within rows not sharing a common superscripts are significantly different ($P<0.05$).

¹ L = linear, Q = quadratic, C = cubic

SEM = Standard error of the mean (n = 6)

Table 4 Least square means for milk yield and milk composition affected by increasing level of protein of dairy goats fed on ruzi grass as roughage

Attribute	Dietary protein level (DM basis)					Contrast P-value ¹		
	16% CP	17% CP	18% CP	19% CP	SEM	L	Q	C
Milk production, kg/d	1.50	1.92	1.73	1.42	0.24	NS	NS	NS
3.5%FCM, kg/d ²	1.93	2.55	2.36	1.90	0.31	NS	NS	NS
Fat yield, g/d	79.44	104.13	99.57	82.01	13.27	NS	NS	NS
Protein yield, g/d	66.87	84.00	76.87	66.25	11.11	NS	NS	NS
Milk composition								
Milk fat, %	5.28	5.44	5.75	5.70	0.13	NS	NS	NS
Milk protein, %	4.44	4.36	4.42	4.61	0.10	NS	NS	NS
Lactose, %	4.26	4.00	4.37	4.37	0.16	NS	NS	NS
SNF, % ³	8.83	8.93	8.68	8.56	0.19	NS	NS	NS
TS, % ⁴	14.10	14.37	14.42	14.25	0.13	NS	NS	NS
pH	6.61	6.53	6.58	6.78	0.19	NS	NS	NS
Specific gravity	1.40	1.33	1.27	1.43	0.08	NS	NS	NS
Total ash	0.80	0.89	0.71	0.78	0.09	NS	NS	NS
MUN, mg/dl	15.83 ^b	18.93 ^{ab}	20.37 ^{ab}	22.55 ^a	1.51	0.04	NS	NS

^{a-b} Within rows not sharing a common superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

¹ L = linear, Q = quadratic, C = cubic

SEM = Standard error of the mean (n = 6)

² 3.5%FCM (fat collected milk) = $(0.432 \times \text{kg of milk/d}) + \{16.23 \times (\% \text{ fat} \times \text{kg of milk/d})\}$

³ SNF = Solid-not-fat

⁴ TS = Total solid

สรุป

ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในแพะรีดนมคือ 16-17 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากไม่มีผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ ผลผลิต และองค์ประกอบของน้ำนม และเพียงพอต่อความต้องการของแพะรีดนม อย่างไรก็ตาม ควรจะได้มีการศึกษาต่อไปในประเด็นเกี่ยวกับอัตราการการตั้งท้อง อัตราการคลอด น้ำหนักแรกคลอดของลูกแพะ น้ำหนักหย่านมของลูกแพะ และสุขภาพแม่แพะ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มอกช.6006-2551). 2551. น้ำนมแพะดิบ. สำนักงาน

มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://acfs.go.th.pdf>. ค้นเมื่อ 5 มกราคม 2556.

สุภาณี ด้านวิริยะกุล สุเมธี กิตติพงษ์ไพศาล สมเกียรติ ศีลสุทธิ และ นงเยาว์ จันทราช. 2556. อิทธิพลของรูปแบบการให้อาหารต่อปริมาณและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมแพะ. วารสารเกษตร 29(2):107-116.

อารีวรรณ มีแสง ปิ่น จันจุฬา วันวิศาห์ งามผ่องใส และ อภิชาติ หล่อเพชร. 2554. ผลการใช้กากเนื้อในเมล็ดปาล์มน้ำมันในสูตรอาหารชั้นต่อการย่อยได้ และนิเวศวิทยาในกระเพาะรูเมนของแพะ. วารสารเกษตร 27(1): 87-99.

- AOAC. 1990. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Arieli, A., R. Sasson-Rath, S. Zamwel and S. J. Mabeesh. 2005. Effect of dietary protein and rumen degradable organic matter on milk production and efficiency in heat-stressed goats. *Livestock Production Science* 96: 215-223.
- Bremner, J. M. and D. R. Keeney. 1965. Steam distillation methods of determination of ammonium nitrate and nitrite. *Analytica Chimica Acta* 32: 485-493.
- Broderick, G. A. and M. K. Clayton. 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science* 80: 2964-2971.
- Butler, W. R., J. J. Calaman and S. W. Beam. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science* 74: 858-865.
- Clark, J. H. and C. L. Davis. 1980. Some aspects of feeding high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 63: 873-891.
- Clark, S. and J. W. Sherbon. 2000. Alpha_{s1}-casein milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research* 38: 123-134.
- Crocker, C. L. 1967. Rapid determination of urea-nitrogen in serum or plasma without deproteinization. *American Journal of Medical Technology* 33: 361-365.
- Ferguson, J. D., D. T. Galligan, T. Blanchard and M. Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. *Journal of Dairy Science* 76: 3742-3746.
- Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagent, Procedures and some Application). *Agric. Handbook*. No. 397, ARS, USDA, Washington, D.C.
- Grings, E. F., R. E. Roffler and D. P. Dietelhoff. 1991. Response of dairy cows in early lactation to addition of cotton seed meal in alfalfa hay based diets. *Journal of Dairy Science* 74: 2580-2587.
- Holter, J. B., J. A. Byrne and C. G. Schwab. 1982. Crude protein for high milk production. *Journal of Dairy Science* 65: 1175-1188.
- Jain, N. C. 1993. *Essential of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Kaneko, J. J. 1980. Appendixes. In: Ed. J. J. Kaneko. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 3rd ed. New York, Academic Press.
- Kung, L. Jr. and J. T. Huber. 1983. Performance of high producing cows in early lactation fed protein of varying amounts, sources, and degradability. *Journal of Dairy Science* 66: 227-234.
- Lloyd, S. 1982. Blood characteristics and the nutrition of ruminants. *British Veterinary Journal* 138: 70-85.
- McCarthy, R. D., Jr., T. H. Klusneyer, J. L. Vicini, J. H. Clark and D. R. Nelson. 1989. Effects of source protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactation cows. *Journal of Dairy Science* 72: 2002-2016.
- Murry A. C., Jr., S. Gelaye, J. M. Casey, T. L. Fout, T. L. Foutz, B. Kouakou and D. Arora. 1999. Type of milk consumed can influence plasma concentrations of fatty acid and minerals and body composition in infant

- and weaning pigs. *Journal of Nutrition* 129: 132-138.
- NRC. 1981. *Nutrient Requirements of Goats: Angora, Dairy and Meat Goat in Temperate and Tropical Countries*. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- Olmos Colmenero, J. J. and G. A. Broderick. 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89: 1704-1712.
- Preston, R. L., D. D. Schnakanberg and W. H. Pfander. 1965. Protein utilization in ruminants. I. Blood urea nitrogen as affected by protein intake. *Journal of Nutrition* 86: 281-287.
- Roffler, R. E., J. E. Wary and L. D. Satter. 1986. Production responses in early lactation to addition of soybean meal to diets containing predominantly corn silage. *Journal of Dairy Science* 69:1055-1062.
- Sanz Sampelayo, M. R., L. Amigo, J. L. Ares, B. Sanz and J. Boza. 1998. The use of diets with different protein sources in lactating goats: composition of milk and its suitability for cheese production. *Small Ruminant Research* 31: 37-43.
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrial Approach*. (2nd ed.). McGraw-Hill, New York, USA.
- Van Keulen, J. and B. A. Young. 1977. Evaluation of acid insoluble ash as a neutral marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science* 44: 282-287.
- Wasiksiri, S., U. Chethanond, S. Pongprayoon, S. Srimai and B. Nasae. 2010. Quality aspects of raw goat milk in Lower Southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 32: 109-113.
-

ทางเลือกในการทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นสารเร่ง การเจริญเติบโตสำหรับปศุสัตว์

Alternatives to the Use of Antibiotics as Growth Promoters for Livestock Animals

วรรณพร ทะพิงค์แก^{1/}

Wanaporn Tapingkae^{1/}

Abstract: Due to the concern about the problem of antibiotic resistant bacteria, the European Commission decided to ban all commonly used feed antibiotics. In the past two decades, an intensive amount of research has been focused on the development of antibiotic alternatives to maintain livestock health and performance. The most widely researched alternatives include acidifiers, enzymes, plant extracts, zinc oxide, probiotics, and prebiotics. The purpose of this review is to summarize the efficacy and mode of action of alternatives as growth promoters on the health and performance of livestock animals.

Keywords: Antibiotic, growth promoter, livestock animals

บทคัดย่อ: จากการตระหนักถึงปัญหาของเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะ สหภาพยุโรปได้ห้ามใช้ยาปฏิชีวนะทุกชนิดในอาหารสัตว์ กว่าสองทศวรรษที่ผ่านมา งานวิจัยจำนวนมากมุ่งเน้นในการพัฒนาสารทดแทนยาปฏิชีวนะที่ช่วยให้สุขภาพและประสิทธิภาพการผลิตของปศุสัตว์ไม่เปลี่ยนแปลง สารทดแทนยาปฏิชีวนะที่ถูกวิจัยอย่างมาก ได้แก่ สารให้ความเป็นกรด เอนไซม์ สารสกัดจากพืช ซิงค์ออกไซด์ สารส่งเสริมชีวนะ และสารเสริมชีวนะ วัตถุประสงค์ของบทความนี้ เพื่อสรุปประสิทธิภาพและกลไกการทำงานของสารทดแทนยาปฏิชีวนะต่อสุขภาพและประสิทธิภาพการผลิตของปศุสัตว์

คำสำคัญ: ยาปฏิชีวนะ สารเร่งการเจริญเติบโต ปศุสัตว์

^{1/} ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chang Mai University, Chiang Mai 50200

คำนำ

ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) มีคุณสมบัติเป็นสารที่ใช้ฆ่าหรือหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย และมีบทบาทสำคัญมากในยุคของการผลิตสัตว์ที่มีการแข่งขันสูง ในช่วงแรกยาปฏิชีวนะจึงถูกใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์เพื่อควบคุมโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย และป้องกันโรคแทรกซ้อนจากเชื้อแบคทีเรียที่อาจเกิดขึ้นหลังการติดเชื้อไวรัสเท่านั้น (Neospark, 2007) จากนั้น ในปี ค.ศ. 1940 นักวิทยาศาสตร์ พบว่า ยาปฏิชีวนะบางชนิด เช่น เตตราไซคลิน (Tetracyclines) สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ได้ด้วย (Antibiotic Growth Promoter, AGP) ต่อมาในปี ค.ศ. 1953 หน่วยงานอาหารและยาของสหรัฐฯ (U.S.-Food and Drug Administration, US-FDA) ได้รับรองให้คลอเตตราไซคลิน (Chlortetracycline) และออกซีเตตราไซคลิน (Oxytetracycline) เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ (animal feed additives) (Swartz, 2002) ปัจจุบันยาปฏิชีวนะถูกผสมในอาหารสัตว์ในระดับต่ำ เพื่อเร่งการเจริญเติบโต เพิ่มประสิทธิภาพการให้ผลผลิตสูงสุด และเพื่อควบคุมโรคของสัตว์ ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายทั่วโลก โดยเฉพาะในการผลิตสุกรตลอดช่วงอายุ (ภาพที่ 1)

แม้ยาปฏิชีวนะถูกใช้เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์กันอย่างแพร่หลาย แต่ต่อมา Swann *et al.* (1969) ค้นพบสารพันธุกรรมที่ต้านฤทธิ์ยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินของเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในสัตว์เลี้ยงที่ได้รับยาปฏิชีวนะในระดับ AGP ดังนั้น ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2006 สหภาพยุโรปจึงได้ออกประกาศกฎหมายห้ามให้ยาปฏิชีวนะในระดับ AGP ในอาหารสัตว์ (Cogliani *et al.*, 2011)

ปัจจุบันประเทศต่าง ๆ โดยเฉพาะในกลุ่มยุโรป สหรัฐอเมริกา แคนาดา ญี่ปุ่น และออสเตรเลีย ได้วางมาตรการควบคุมการใช้สารต้านจุลชีพหรือยาปฏิชีวนะกันอย่างเข้มงวด เนื่องจากการใช้ยาปฏิชีวนะในระดับ AGP ก่อให้เกิดผลกระทบต่อทั้งคนและสัตว์ โดยเฉพาะการดื้อยาปฏิชีวนะในคนที่มีสาเหตุส่วนหนึ่งมาจากการตกค้างของยาปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ รวมถึงการที่สัตว์ได้รับสารต้านจุลชีพในระดับต่ำ ๆ เป็นเวลานาน ส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เกิดการดื้อยาได้ ดังนั้น ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ส่งออกไปยังประเทศต่าง ๆ เหล่านี้ ต้องได้รับการตรวจหาปริมาณยาปฏิชีวนะตกค้าง อันเป็นมาตรการหนึ่งที่ใช้ในการกีดกันทางการค้า ส่งผลให้ประเทศไทยเสียโอกาสการส่งออกเนื้อสัตว์

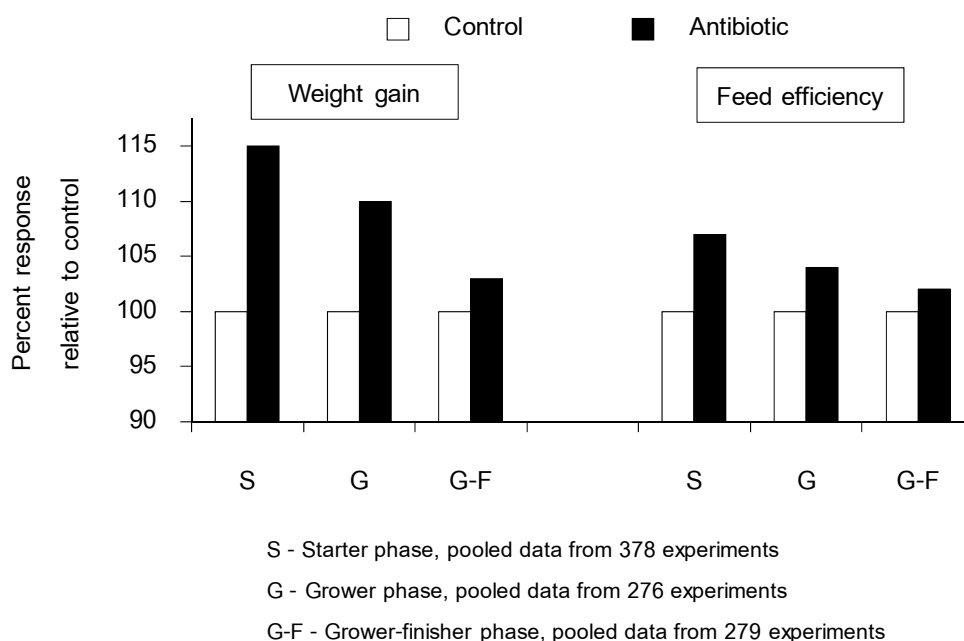


Figure 1 Effect of growth-promoting antibiotics on weight gain and feed efficiency in swine (Hays, 1969)

อย่างไรก็ตาม พบว่า การเลิกใช้ยาปฏิชีวนะในระดับ AGP ส่งผลกระทบต่อระบบการผลิตสัตว์เป็นอย่างมาก ทั้งปัญหาด้านประสิทธิภาพการผลิตที่ลดต่ำลง และการเพิ่มขึ้นของอุบัติการณ์ของโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร ส่งผลให้ผู้ผลิตสัตว์จำเป็นต้องหาสารทดแทนยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ในระดับ AGP (AGP alternative) ซึ่งสารดังกล่าวควรมีคุณสมบัติใกล้เคียงหรือเทียบเท่ากับยาปฏิชีวนะ โดยกลไกการทำงานพื้นฐานดังกล่าวประกอบด้วย 1) ลดอุบัติการณ์และความรุนแรงของการติดเชื้อที่ยังไม่แสดงอาการ (Brennan *et al.*, 2003) 2) ลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่แย่งแย่งการใช้สารอาหาร (Snyder and Wostmann, 1987) 3) เพิ่มความสามารถในการดูดซึมโภชนาการใช้ของสัตว์ เนื่องจากแบคทีเรียที่เกาะกับผนังลำไส้ลดลง และ 4) ลดปริมาณสารยับยั้งการเจริญเติบโต (growth-depressing substance) ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด (Feighner and Dashkevich, 1987) 5) รักษาสมดุลของจุลินทรีย์ที่บริเวณลำไส้เล็ก และ 6) กระตุ้นภูมิคุ้มกันของตัวสัตว์ได้ (Huyghebaert *et al.*, 2011)

จากความต้องการดังกล่าว จึงเป็นแรงผลักดันให้มีการวิจัยมากมายเกี่ยวกับการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโตจากธรรมชาติ (Natural Growth Promoters, NGP หรือ non-Antibiotic Growth Promoters, non-AGP) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สัตว์สามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยลดปริมาณเชื้อก่อโรคในลำไส้ เพิ่มภูมิต้านทานแก่สัตว์ได้ดีเทียบเท่ากับการเสริมยาปฏิชีวนะ และไม่มีสารตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค สารทดแทนยาปฏิชีวนะที่ถูกวิจัยอย่างมาก ได้แก่ สารให้ความเป็นกรด

(acidifier) เอนไซม์ (exogenous enzymes) สมุนไพร (herbs) ซิงค์ออกไซด์ (zinc oxide) สารส่งเสริมชีวณะ (prebiotics) และสารเสริมชีวณะ (probiotics) ซึ่งสารเหล่านี้มีกลไกในการยับยั้งหรือกำจัดเชื้อก่อโรคที่แตกต่างกันออกไป

สารให้ความเป็นกรด

กรดอินทรีย์ที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมน้อยและสามารถแตกตัวให้ประจุได้ ได้แก่ กรดฟอร์มิก (formic) กรดอะซิติก (acetic) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และกรดแลคติก (lactic acid) เป็นต้น ถูกประยุกต์ใช้ในระบบอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์อย่างต่อเนื่อง (Partanen *et al.*, 2002) การเสริมกรดลงในอาหารสัตว์ทำให้สภาพแวดล้อมในทางเดินอาหารไม่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อก่อโรค ทั้งนี้เพราะจุลินทรีย์ก่อโรคต้องการสภาพแวดล้อมที่เป็นกลางหรือเป็นด่างสำหรับการเจริญเติบโต อีกทั้งกรดอินทรีย์ยังสามารถแทรกซึมผ่านผนังเซลล์และทำลายแบคทีเรียบางกลุ่มได้ (ภาพที่ 2) นอกจากคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคแล้ว การเพิ่มความเป็นกรดในระบบทางเดินอาหารยังช่วยให้เปปซิน (pepsin) ทำงานได้ดีขึ้น ส่งผลให้การย่อยโปรตีนในกระเพาะอาหารดีขึ้น (Marinho *et al.*, 2007) และยังทำให้สัตว์ใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุได้เพิ่มมากขึ้น (Hansen *et al.*, 2007)

การเสริมสารให้ความเป็นกรด นอกจากจะช่วยลดจำนวนเชื้อก่อโรค เช่น *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* และ *Salmonella* sp. ลงได้แล้ว ยังทำให้จุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria,

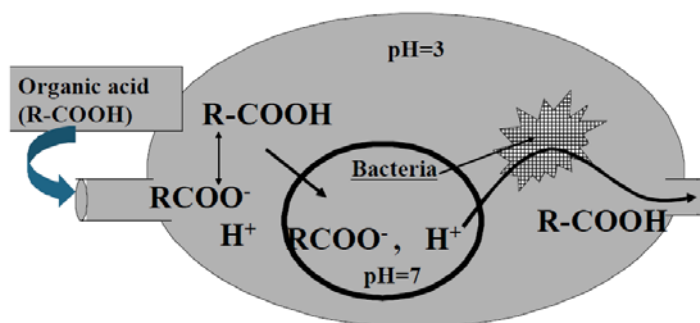


Figure 2 Model antimicrobial action of SCFA in the stomach of pigs (Morz, 2005)

LAB) ซึ่งถือว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหารของไก่เนื้อที่มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น (Saki *et al.*, 2012; Hassan *et al.*, 2010) ส่งผลให้ไก่เนื้อใช้ประโยชน์จากอาหารได้มากขึ้น และมีอัตราการแลกน้ำหนักที่ดี (Ogunwole *et al.*, 2011) รวมถึงช่วยให้ลูกโคหย่านมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการแลกน้ำหนักที่ดี เทียบเท่าการเสริมยาปฏิชีวนะ (Guilloteau *et al.*, 2009) นอกจากนี้ การเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารยังช่วยให้มูลสัตว์ที่ขับออกมามีกลิ่นลดลง และช่วยลดกลิ่นเหม็นในซากสุกร (Babol and Squires, 1995; Claus *et al.*, 1994) อย่างไรก็ตาม ควรเสริมกรดอินทรีย์ตามที่คุณผลิตแนะนำ การเสริมกรดในอาหารมากเกินไป จะส่งผลให้สัตว์กินอาหารได้น้อยลง น้ำหนักลด และประสิทธิภาพการผลิตลดลงตาม (Partanen *et al.*, 2007)

แม้มีการผลิตกรดสำหรับเสริมในอาหารสัตว์ ออกวางจำหน่ายในท้องตลาดหลายชนิด แต่ก่อนการเลือกซื้อควรคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ และควรเลือกใช้กรดให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลออกมาตามวัตถุประสงค์ เพราะกรดที่มีจำหน่ายมีทั้งกรดที่เป็นกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ กรดที่เหมาะสมในการใช้ผสมในอาหารสัตว์มักเป็นกรดอินทรีย์ เพราะเป็นกรดอ่อน มีผลต่อการกินอาหารของสัตว์น้อย คือ ความน่ากิน (palatability) ของอาหารไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ในบางผลิตภัณฑ์อาจมีการใช้กรดอนินทรีย์บ้างด้วย เช่น กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) หรือมีการเคลือบสาร เช่น ไขมัน เพื่อให้ค่อย ๆ ปลดปล่อยกรดออกมาทำงานได้ในลำไส้เล็กหรือลำไส้ใหญ่ ดังนั้นการเลือกใช้กรดเพื่อทดแทนยาปฏิชีวนะ ควรพิจารณาเลือกใช้อย่างเหมาะสม เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด

ซิงค์ออกไซด์

ซิงค์ (zinc, Zn) หรือ สังกะสีเป็นแร่ธาตุที่ช่วยในการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย โดยมีส่วนสำคัญในการควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนและโปรตีน ช่วยให้เซลล์เยื่อภายในทางเดินอาหารมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น และช่วยให้จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในทางเดินอาหาร (microflora) สามารถทำหน้าที่ได้

ตามปกติ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้นอกจากนั้น สารประกอบของสังกะสี เช่น ซิงค์ซัลเฟต (zinc sulfate) ซิงค์ไลซีน (zinc lysine) และซิงค์เมทไธโอนีน (zinc methionine) ยังมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ (Van Heugten *et al.*, 2003) สำหรับในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร นิยมเสริมซิงค์ออกไซด์ (zinc oxide, ZnO) ในระดับสูง (2,000-3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและลดปัญหาท้องเสีย รวมถึงปัญหาลำไส้อักเสบในลูกสุกรหลังหย่าน

การศึกษาประสิทธิภาพของ ZnO เทียบกับ AGP พบว่า ลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับ ZnO มีอัตราการเจริญเติบโตและปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวันไม่แตกต่างกับลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับ AGP แต่เชื้อ *E. coli* จากลูกสุกรที่ได้รับ ZnO มีความสามารถในการต่อต้านยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลิน เพียง 67% เมื่อเทียบกับเชื้อ *E. coli* จากลูกสุกรที่ได้รับ AGP ที่สามารถในการต่อต้านยาปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลินได้ 100% (Shelton *et al.*, 2009) อย่างไรก็ตาม การเสริมแร่ธาตุต่าง ๆ รวมทั้ง ZnO ให้แก่สัตว์ในปริมาณสูง อาจส่งผลเสียตามมาภายหลัง คือ การขับทิ้งของสารเหล่านี้ในปริมาณมาก ทำให้เกิดปัญหามลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาแร่ธาตุต่าง ๆ ให้อยู่ในรูปที่สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้นและลดการขับทิ้งได้ เช่น แร่ธาตุที่มีขนาดเล็กระดับนาโนเมตร (nano) เป็นต้น ดังนั้น ควรเลือกใช้ผลิตภัณฑ์แร่ธาตุที่ได้รับการพัฒนาให้อยู่ในรูปที่สัตว์สามารถนำไปใช้ได้เต็มที่ ถือเป็น การช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดปัญหามลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม และลดต้นทุนค่าอาหารที่ต้องสูญเสียไปอีกด้วย

เอนไซม์

ความแตกต่างของระบบการย่อยอาหารของสัตว์ชนิดต่าง ๆ รวมถึงระยะการให้ผลผลิตที่แตกต่างกัน ส่งผลให้สัตว์ผลิตเอนไซม์ (น้ำย่อย) ในระดับที่แตกต่างกัน ปัจจุบันกลุ่มผู้ผลิตอาหารสัตว์จึงเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์ เพื่อช่วยให้สัตว์สามารถย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เอนไซม์ที่เสริมลงในอาหารสัตว์ส่วนใหญ่ผลิตจากจุลินทรีย์ เพราะสามารถควบคุม

กระบวนการผลิตได้และผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม
วัตถุประสงค์ของการเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์ แบ่งได้
ดังนี้

**1. การเสริมเอนไซม์ที่สัตว์ผลิตได้ในระดับ
ต่ำในบางสภาวะ** ลูกสุกรหลังหย่านมที่การผลิตเอนไซม์
ต่าง ๆ อยู่ในระดับต่ำ (ภาพที่ 3) เมื่อได้รับอาหารผสม ลูก
สุกรไม่สามารถย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้อย่างมี
ประสิทธิภาพ และดูดซึมสารอาหารได้น้อย เชื้อก่อโรคที่
อยู่ในทางเดินอาหารสามารถใช้อาหารที่เหลือและทำให้
เกิดอาการท้องเสีย การเสริมเอนไซม์ เช่น อะไมเลส
(amylases) โปรตีเอส (protease) และไลเปส (lipases)
ช่วยย่อยอาหารในลูกสุกรหลังหย่านมได้มากยิ่งขึ้น จึงลด
ปริมาณอาหารสำหรับเชื้อก่อโรค และช่วยให้ลูกสุกร
เจริญเติบโตได้ดีขึ้น

**2. การเสริมเอนไซม์ที่สัตว์กระเพาะเดี่ยว
(monogastric animals) ผลิตไม่ได้** เช่น เซลลูเลส
(cellulase) ไชลานเนส (xylanase) และไฟเตส (phytase)
รวมทั้งภายในระบบทางเดินอาหารไม่มีจุลินทรีย์ที่ผลิต
เอนไซม์ต่าง ๆ ดังกล่าวได้เหมือนสัตว์กระเพาะรวม
(ruminant animals) ที่มีจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักช่วย
ย่อย ดังนั้น เมื่อมีการเสริมเอนไซม์กลุ่มนี้ เช่น ไชลานเนส
ให้แก่สัตว์กระเพาะเดี่ยว จึงเป็นการเพิ่มค่าการย่อยได้
และเพิ่มการดูดซึมสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น

และยังมีส่วนช่วยลดอาการท้องร่วงของสุกร ทั้งนี้เพราะ
การเสริมเอนไซม์จะช่วยย่อยผนังเซลล์ที่เป็นส่วนประกอบ
ของวัตถุดิบอาหารสัตว์ ช่วยให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์
จากสารอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Tapingkae *et al.*, 2008) นอกจากนี้ ยังพบว่า ไก่เนื้อที่ได้รับการเสริม
เอนไซม์ในอาหาร มีน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้
อาหารสูงเทียบเท่ากับไก่เนื้อที่ได้รับ AGP อีกทั้งความ
หนืดของอาหาร (viscosity) ภายในทางเดินอาหารของไก่
เนื้อที่ได้รับเอนไซม์จะน้อยกว่าไก่เนื้อที่ได้รับ AGP ทำให้
วิลไลสามารถดูดซึมสารอาหารได้ดีกว่า (Owens *et al.*, 2008)

โดยสรุปแล้ว การเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์
ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ทำให้สัตว์
เจริญเติบโตได้ดีขึ้น อีกทั้งยังเป็นการลดปริมาณ
สารอาหารที่เหลือสำหรับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในทางเดิน
อาหารส่วนปลาย จึงสามารถลดการเกิดอาการท้องเสียลง
ได้ นอกจากนี้ การใช้เสริมเอนไซม์เพื่อทดแทนการใช้ยา
ปฏิชีวนะยังส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ เช่น ไข่ไก่
ปลอดจากการตกค้างของยาปฏิชีวนะ (Dipeolu, 2005)
การเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์จึงถือเป็นการลดโอกาสที่
จะเกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์จากสัตว์สู่
ผู้บริโภคได้

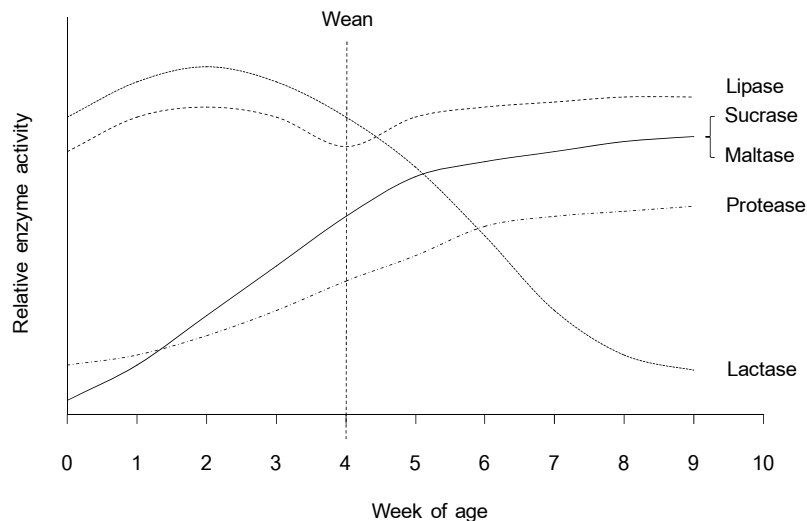


Figure 3 A composite illustration of digestive enzymes development (adapted from Manners *et al.*, 1976; Lindemann *et al.*, 1986; Veum and Odle, 2001)

สมุนไพร (herbs) และสารสกัดจากพืช (plant extract)

ปัจจุบันสมุนไพรได้รับความนิยมในการนำมาบริโภค และถูกนำมาเป็นยารักษาโรคแทนยาปฏิชีวนะในทั้งคนและสัตว์กันอย่างแพร่หลาย โดยสมุนไพรและสารสกัดจากพืชที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางอาหารสัตว์นั้น มักมีคุณสมบัติในการขัดขวางการทำงานของเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหาร เช่น *E. coli* และ *Salmonella* spp. (รังสรรค์ และคณะ, 2554) ป้องกันการอักเสบและการติดเชื้อ รวมถึงความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Liu *et al.*, 2008) และป้องกันปรสิต (Magi *et al.*, 2006) นอกจากนี้ สารสกัดจากพืชบางชนิด เช่น เหง้าขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ผลดีปลี (*Piper retrofractum* Vahl) รากเจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.) สะค้าน (*Piper interruptum* Opiz) และข้าพหลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) ยังมีคุณสมบัติเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย โดยทำให้จำนวนเม็ดเลือดแดง ระดับฮีโมโกลบิน ค่าฮีมาโตคริต (hematocrit) และจำนวนเม็ดเลือดขาวของไก่เนื้อ เพิ่มขึ้น (รังสรรค์ และคณะ, 2554)

การเสริมสมุนไพรและสารสกัดจากพืชนั้น นอกจากจะส่งผลดีโดยตรงต่อสุขภาพของตัวสัตว์แล้ว ยังส่งผลดีต่อสิ่งแวดล้อม ยกตัวอย่างเช่น การเสริมสารสกัดจากสมุนไพรรวม (herb extract mixture) ซึ่งประกอบด้วย บัควีท (*Fagopyrum esculentum* Moench L.) โหระพา (*Ocimum basilicum* L.) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) พริกไทยดำ (*Piper nigrum* L.) และขิง สามารถช่วยลดปริมาณแก๊สแอมโมเนีย (NH₃) และแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) ที่สุกผลิตขึ้น และช่วยให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสัตว์ดีขึ้นกว่าการเสริม AGP ทั้งนี้ เนื่องจากสมุนไพรมีส่วนช่วยเพิ่มความน่ากินของอาหาร และกระตุ้นความอยากอาหารของสัตว์มากขึ้นด้วย (Yan *et al.*, 2011)

อย่างไรก็ตาม แม้จะมีงานวิจัยออกมายืนยันแล้วว่า สมุนไพรและสารสกัดจากพืช สามารถใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ เพื่อทดแทนการใช้ AGP ได้ แต่ปัญหาหลักหรือเงื่อนไขในการใช้สมุนไพรและสารสกัดจากพืช ยังคงเป็นเรื่องขององค์ประกอบและความไม่สม่ำเสมอของปริมาณสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ที่มีอยู่ในพืช ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สภาพอากาศ ฤดูกาล

เพาะปลูก-ฤดูกาลเก็บเกี่ยว วิธีการเก็บเกี่ยว และการจัดการอื่น ๆ เป็นต้น ซึ่งต่างส่งผลให้คุณสมบัติของพืชนั้น มีความแปรปรวนแตกต่างกันไป ดังนั้น ในการเลือกใช้สมุนไพรและสารสกัดจากพืช จึงควรทำการศึกษาคุณสมบัติและระดับที่เหมาะสมก่อนการใช้ทุกครั้ง เพื่อให้ผลลัพธ์ที่ได้เป็นไปตามที่คาดหวัง

สารเสริมชีวนะ (probiotic) และสารส่งเสริมชีวนะ (prebiotic)

สารเสริมชีวนะ หรือที่เรียกกันโดยทั่วไปว่า **โปรไบโอติก (probiotic)** คือ กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต และมีประโยชน์เมื่อสัตว์กินเข้าไปแล้ว สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนในลำไส้ของสัตว์ โดยกลไกการทำงานพื้นฐานของโปรไบโอติกที่มีต่อร่างกายสัตว์ ได้แก่ 1) การเจริญเติบโตไปแย่งที่ในการเกาะผนังลำไส้ ทำให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรค (pathogenic bacteria) เช่น *Salmonella* sp. และ *E. coli* ไม่สามารถเกาะติดกับผนังลำไส้ได้ 2) แย่งการใช้สารอาหารของเชื้อก่อโรคและเพิ่มจำนวนโปรไบโอติกมากขึ้น 3) หลังสารออกมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค เช่น กรดอินทรีย์ และสารที่มีคุณสมบัติคล้ายยาปฏิชีวนะ (antibiotic-like compounds หรือ bacteriocin)

นอกจากนี้ โปรไบโอติกยังมีส่วนช่วยในกระบวนการย่อยอาหาร โดยผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ ทำให้อาหารในระบบทางเดินอาหารถูกย่อยได้เพิ่มมากขึ้น การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาของสัตว์เพิ่มมากขึ้น (Roselli *et al.*, 2005) คุณสมบัติหลักอีกประการของโปรไบโอติก คือ ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันป้องกันการติดเชื้อต่าง ๆ ซึ่งมักเข้าสู่ร่างกายตามระบบเยื่อ (mucosal immunity) โดยไปกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่ทำลายสิ่งแปลกปลอม (macrophages) และเซลล์เพชฌฆาต (natural killers cells, NK cell) (Chiang *et al.*, 2000) รวมทั้งมีส่วนในการควบคุมกระบวนการหลังสารป้องกันการอักเสบและการติดเชื้อในร่างกายสัตว์ (Roselli *et al.*, 2005) (ภาพที่ 4) โดยโปรไบโอติกที่นิยมใช้กันมากคือ *Lactobacilli*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacteria* และสายพันธุ์ *Streptococci* รวมถึงยีสต์บางสายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*

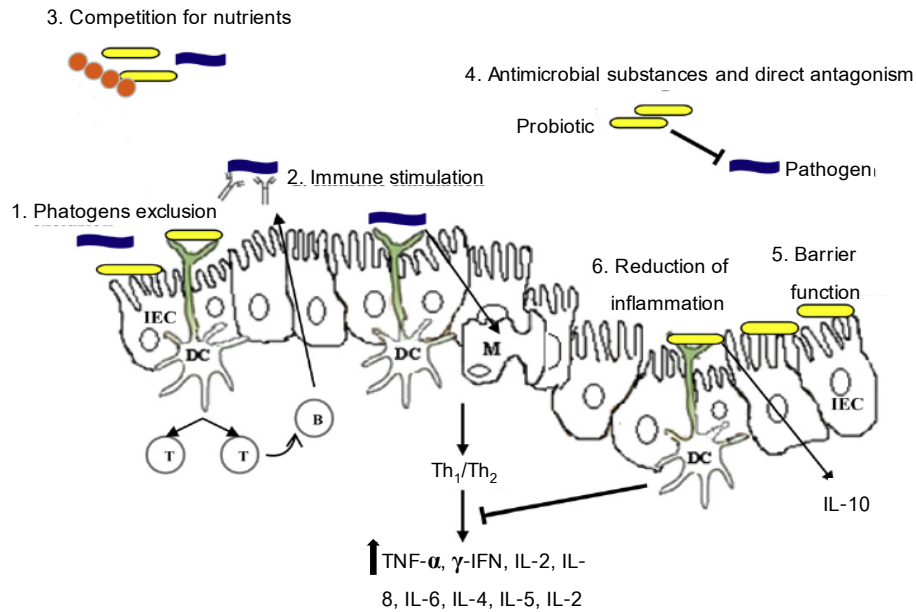


Figure 4 Some probiotic mechanisms whereby induce several beneficial host responses. Most effect consist on 1) Exclusion and competing with pathogen to epithelial cells adhesion, 2) innate immune stimulation, 3) competition for nutrients and prebiotic products, 4) production of antimicrobial substances and thereby pathogen antagonism, 5) protection of intestinal barrier integrity and 6) regulation of anti-inflammatory cytokine and inhibition of pro-inflammatory cytokine production. IEC: intestinal epithelium cells, DC: IL: interleukin; M: intestinal M cell (Saad *et al.*, 2012)

จากหลายงานวิจัยสามารถสรุปได้ว่า การใช้โปรไบโอติกช่วยปรับสภาพภายในลำไส้ของสัตว์ให้ดีขึ้น ทำให้ลำไส้มีความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้น โดยการผลิตกรดอินทรีย์ และยังมีผลต่อการเจริญของเชื้อก่อโรคต่าง ๆ รวมทั้งช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้สัตว์มีสุขภาพดี ส่งผลให้ประสิทธิภาพการผลิตของสัตว์เพิ่มมากขึ้น เทียบเท่ากับการใช้ยาปฏิชีวนะ (จำรูญ และคณะ, 2553; Toghyani *et al.*, 2011) และลดอัตราการตายของสัตว์ภายในฟาร์ม (Lodemann *et al.*, 2006)

อย่างไรก็ตาม การใช้โปรไบโอติกใช้ว่าจะให้ผลดีอย่างสม่ำเสมอทุกครั้งไป ทั้งนี้ เนื่องจากการใช้โปรไบโอติกให้มีประสิทธิภาพนั้น ขึ้นอยู่กับ 1) สายพันธุ์ของเชื้อโปรไบโอติก ควรเป็นสายพันธุ์ที่มีความทนต่อสภาพในทางเดินอาหาร ไม่ถูกย่อยหรือถูกทำลายโดยง่าย 2) ปริมาณที่ใช้ ควรใช้ตามคำแนะนำจากทางผู้ผลิต

เนื่องจากโปรไบโอติกแต่ละชนิด ต่างมีปริมาณการใช้ที่เหมาะสมแตกต่างกันไป 3) สภาพการเก็บรักษา ควรเก็บไว้ในที่แห้งและเย็น เพื่อคงสภาพของโปรไบโอติกไว้จนกว่าจะใช้งาน 4) ลักษณะของอาหารและการให้โปรไบโอติก ร่วมกับการใช้ยา ซึ่งการใช้ยาเพื่อกำจัดจุลินทรีย์หรือน้ำที่มีส่วนผสมของคลอรีน ร่วมกับการใช้โปรไบโอติก จะส่งผลให้โปรไบโอติกที่เสริมตายด้วย ทำให้ไม่ได้ผลตามที่ต้องการ และยังทำให้ต้นทุนการใช้สูงเกินจำเป็น 5) อายุและสุขภาพของสัตว์ โดยพบว่า การใช้โปรไบโอติกในช่วงที่สัตว์กำลังหย่านมหรือมีอายุน้อยและสัตว์ที่มีสุขภาพดี จะให้ผลตอบสนองได้ดีกว่าสัตว์ที่มีอายุมากและสัตว์ที่กำลังป่วย

สารส่งเสริมชีวิต หรือที่เรียกกันโดยทั่วไปว่า **พรีไบโอติก (prebiotic)** คือ สารอาหารประเภทเยื่อใยที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหารของสัตว์ แต่กลายเป็นอาหาร

สำหรับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร โดยไปช่วยกระตุ้นการทำงานและการเจริญเติบโตอย่างจำเพาะต่อโปรไบโอติก นอกจากนั้น ยังช่วยเพิ่มปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acid, VFA) และกรดแลคติก ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ผ่านกระบวนการหมักย่อยของโปรไบโอติก ซึ่งสารที่ได้ดังกล่าว มีคุณสมบัติเป็นแหล่งพลังงานและช่วยปรับสภาพให้เหมาะสมแก่การเจริญของโปรไบโอติก ทำให้โปรไบโอติกสามารถเพิ่มจำนวนได้อีก (Pie *et al.*, 2007)

สารอาหารที่นิยมนำมาใช้เป็นพรีไบโอติก ได้แก่ 1) แมนโนโอลิโกแซคคาไรด์ (mannooligosaccharides, MOS) ซึ่งพบได้ที่ผนังของเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* โดยคุณสมบัติของ MOS คือ มีตำแหน่งจับจำเพาะกับผนังลำไส้ ทำให้เชื้อก่อโรคไม่สามารถเข้าเกาะจับกับผนังลำไส้ของสัตว์ได้ (Shim *et al.*, 2005) และยังมีส่วนในการกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวและลิมโฟไซต์ชนิดที (T-lymphocytes) ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรง (Lyons and Bourne, 1995) ส่งผลให้สัตว์มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น 2) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharide, GOS) และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide, FOS) มีคุณสมบัติกระตุ้นการเจริญอย่างจำเพาะของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดทำให้ลำไส้ส่วนปลาย (colon) เกิดสภาวะความเป็นกรด ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโทษ ส่งผลให้เกิดความสมดุลระหว่างแบคทีเรียที่มีประโยชน์และแบคทีเรียที่ก่อโรค อีกทั้งยังช่วยให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในลำไส้เล็กของสัตว์ดีขึ้น (Raya *et al.*, 2009; Smiricky-Tjardes *et al.*, 2003) 3) แลคทูโลส (lactulose) เป็นสารที่อยู่ในรูปไอโซเมอร์ของแลคโตส (lactose isomerisation) และเป็นพรีไบโอติกที่นิยมใช้เพื่อป้องกันและรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารทั้งของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งนอกจากจะมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการทำงานและการเจริญของโปรไบโอติกแล้ว แลคทูโลสยังสามารถลดการทำงานของแบคทีเรียย่อยโปรตีน (proteolytic bacteria) ที่อาศัยอยู่ส่วนปลายระบบทางเดินอาหาร ทำให้การผลิตและการปลดปล่อยแอมโมเนียจากตัวสัตว์สู่สิ่งแวดล้อมลดลง

(Gibson, 2004) 5) อินูลิน (inulin) เป็นพรีไบโอติกที่พบได้ในวัตถุดิบจากพืช เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม กล้วย และรากชิโครี (chicory root) เป็นต้น ดังนั้นสารที่สามารถจัดเป็นพรีไบโอติกได้ต้องมีคุณสมบัติ คือ ไม่ถูกย่อยหรือดูดซับในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็ก ต้องมีความจำเพาะกับแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ และการหมักของสารนั้น ควรมีการกระตุ้นที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์ที่กินเข้าไป

ปัจจุบัน การใช้โปรไบโอติกและพรีไบโอติก นิยมเสริมร่วมกัน หรือที่เรียกว่า **ซินไบโอติก (synbiotic)** ซึ่งการเสริมในรูปแบบนี้ทำให้โปรไบโอติกสามารถมีชีวิตและเพิ่มจำนวนได้มากกว่าการเสริมโปรไบโอติกเพียงอย่างเดียว เนื่องจากมีอาหารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตร่วมด้วย และมีการไหลผ่านของโปรไบโอติกไปสู่ลำไส้เล็กเพื่อทำหน้าที่ได้เพิ่มมากขึ้น เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์มากขึ้น อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบว่า มีระดับที่กำหนดแน่นอนว่า ที่ระดับเท่าไรดีที่สุด เพราะในสัตว์แต่ละชนิดต่างก็มีระดับที่ต้องการแตกต่างกันไป แต่มีการศึกษาระดับที่ปลอดภัยไว้มาก เพราะการได้รับโปรไบโอติกมากเกินไปนั้น อาจมีผลทำให้สัตว์ท้องเสียได้ โดยปกติผู้ผลิตอาหารสัตว์แต่ละชนิดจะมีความรู้และทดสอบถึงระดับปลอดภัยในการเติมในสูตรอาหารนั้น ๆ อยู่แล้ว ส่วนพรีไบโอติกแม้เสริมในระดับสูงๆ ก็ยังไม่พบผลต่อการท้องเสียแต่อย่างใด เพราะลักษณะอาหารเป็นตัวกำหนดอยู่แล้ว นั่นคือ หากเสริมมากเกินไป จะไม่สามารถผลิตเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปได้ ซึ่งระดับมากที่สุดที่ยังสามารถอัดเม็ดได้นั้น ยังพบว่า ปลอดภัยต่อสัตว์อยู่มาก

สรุป

กรดอินทรีย์ ชิงค์ออกไซด์ เอนไซม์ สมุนไพร สารเสริมชีวนะ และสารส่งเสริมชีวนะ เป็นเพียงตัวอย่างบางส่วนของสารทดแทนยาปฏิชีวนะที่พบว่า มีประสิทธิภาพเทียบเคียงกับการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของสัตว์ โดยสามารถสร้างความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และไม่มีสารตกค้างมายังผลิตภัณฑ์จากสัตว์ นอกจากสารดังกล่าวแล้ว ยังมีสารเสริมประเภทอื่น ๆ อีกมากมายที่มี

จำหน่ายอยู่ในท้องตลาดอาหารสัตว์ที่ทดสอบแล้วว่าให้ประสิทธิภาพดี แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ไม่สามารถระบุประสิทธิภาพการใช้งานและกลไกในการทำงานของสารนั้นได้อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอย่างยิ่งที่กลุ่มผู้ผลิตอาหารสัตว์ควรอธิบายถึงข้อมูลและกลไกการทำงานของผลิตภัณฑ์สารเสริมอาหารสัตว์เหล่านั้น รวมถึงการตั้งกฎเกณฑ์หรือมาตรฐานในการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตที่เป็นทางเลือกสำหรับสัตว์เลี้ยงในฟาร์มต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- จำรูญ มณีวรรณ มงคล ถิรบุญยานนท์ และ กิตติพงษ์ ทิพย์ะ. 2553. การใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่สุกรอุ้มท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูก. รายงานการวิจัยมหาวิทยาลัยแม่โจ้. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://www.tistr.or.th/tistrblog/?p=1342> (23 กันยายน 2555).
- รังสรรค์ แสงใสภา วีระวุฒิ พรหมดี สาธิต บุญอาจ มานะสุภาดี วิศิษฐ์ เกตุปัญญางศ์ และ กุลิสรา มรุตพันธ์วร. 2554. ผลของสมุนไพรเบญจกูลและขิงต่อค่าทางโลหิตวิทยาและจำนวนจุลินทรีย์ในไก่เนื้อ. แก่นเกษตร 39(ฉบับพิเศษ): 251-255.
- Babol, J and E. J. Squires. 1995. Quality of meat from entire male pigs. Food Research International 28: 201-212.
- Brennan, J., J. Skinner, D. A. Barnum and J. Wilson. 2003. The efficacy of bacitracin methylene disalicylate when fed in combination with narasin in the management of necrotic enteritis in broiler chickens. Poultry Science 82: 360-363.
- Chiang, B. L., Y. H. Sheih, L. H. Wang, C. K. Liao and H. S. Gill. 2000. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacterium (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immune responses. European Journal of Clinical Nutrition 54: 849-855.
- Claus, R., U. Weiler and A. Herzog. 1994. Physiological aspects of androstenedione and skatole formation in the boar - a review with experimental data. Meat Science 38: 289-305.
- Cogliani, C., H. Goossens and C. Greko. 2011. Restricting antimicrobial use in food animals: lessons from europe. Microbe 6(6): 274-279.
- Dipeolu, M. A., D. Eruvbetine, E. B. Oguntona, O. O. Bankole and K.S. Sowunmi. 2005. Comparison of effects of antibiotics and enzyme inclusion in of laying birds. Archiva Zootechnica 54: 3-11.
- Feighner, S. D. and M. P. Dashkevich. 1987. Sub-therapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholytaurine hydrolase activity. Applied and Environmental Microbiology 53: 331-336.
- Gibson, G. R. 2004. From probiotics to prebiotics and a healthy digestive system. Journal of Food Science 69: 141-143.
- Guilloteau, P., R. Zabielski, J. C. David, J. W. Blum, J. A. Morisset, M. Biernat, J. Woliński, D. Laubitz and Y. Hamon. 2009. Sodium-butyrate as a growth promoter in milk replacer formula for young calves. Journal of Dairy Science 92: 1038-1049.
- Hansen, C. F., A. L. Riis, S. Bresson, O. Hojbjerg and B.B. Jensen. 2007. Feeding organic acids enhances the barrier function against pathogenic bacteria of the piglet stomach. Livestock Science 108: 206-209.

- Hassan, H. M. A., M. D. Mohamed, A. W. Youssef and E. R. Hassan. 2010. Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance and intestinal microflora of broilers. Asian Australasian Journal of Animal Sciences 23: 1348-1353.
- Hays, V. W. 1969. Biological basis for the use of antibiotics in livestock production. The Use of Drugs in Animal Feeds, National Research Council Publication 1679. National Academy of Sciences; 11-30.
- Huyghebaert, G., R. Ducatelle and F. V. Immerseel. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. Veterinary Journal 187: 182-188.
- Lindemann, M. D., S. G. Cornelius, S. M. El Kandelgy, R. L. Moser and J. E. Pettigrew. 1986. Effect of age weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. Journal of Animal Science 62: 1298-1307.
- Liu, G. M., Y. Wei, Z. S. Wang, D. Wu, A. G. Zhou and G. L. Liu. 2008. Effects of herbal extract supplementation on growth performance and insulin-like growth factor (IGF)-I system in finishing pigs. Journal of Animal and Feed Sciences 17: 538-547.
- Lodemann, U., K. Hubener, N. Jansen and H. Martens. 2006. Effects of *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 as probiotic supplement on intestinal transport and barrier function of piglets. Archives of Animal Nutrition 1: 35-48.9
- Lyons, T. P. and S. Bourne. 1995. Principles of the effect of probiotics on the basis of yeasts and mannans. In: Proceedings of Conference on Probiotics in Animal Nutrition, Pohorelice, Czech Republic, 13-22.
- Magi, E., T. Jarvis and I. Miller. 2006. Effects of different plant products against pig mange mites. Acta Veterinaria Brno 75: 283-287.
- Manners, M. J. 1976. The development of digestive function in the pig. Proceedings of the Nutrition Society 35: 49-55.
- Marinho, M. C., M. M. Lordelo, L. F. Cunha and J. P. B. Freire. 2007. Microbial activity in the gut of piglets: I. Effect of prebiotic and probiotic supplementation. Livestock Science 108: 236-239.
- Morz, Z. 2005. Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs. Advances in Pork Production 16: 169-182.
- Neospark. 2007. Antibiotic Growth Promoters in Animal Production. (Online). Available: <http://www.neospark.com/images/AGP.PDF> (September 4, 2012).
- Ogunwole, O. A., O. A. Abu and I. A. Adepoju. 2011. Performance and carcass characteristics of broiler finishers fed acidifier based diets. Pakistan Journal of Nutrition 10(7): 631-636.
- Owens, B., L. Tucker, M. A. Collins and K. J. McCracken. 2008. Effects of different feed additives alone or in combination on broiler performance, gut microflora and ileal histology. British Poultry Science 49(2): 202-212.
- Partanen K., H. Siljander-Rasi, J. Pentikainen, S. Pelkonen and M. Fossi. 2007. Effects of weaning age and formic acid based feed additives on pigs from weaning to slaughter. Archives of Animal Nutrition 61: 336-356.
- Partanen K., H. Siljander-Rasi, T. Alaviuhkola, K. Suomi and M. Fossi. 2002. Performance of growing-finishing pigs fed medium or high

- fibre diets supplemented with avilamycin, formic acid or formic acid-sorbate blend. *Livestock Production Science* 73: 139-152.
- Pie, S., A. Awati, S. Vida, I. Falluel, B. A. Williams and I. P. Oswald. 2007. Effects of added fermentable carbohydrates in the diet on intestinal proinflammatory cytokine specific mRNA content in weaning piglets. *Journal of Animal Science* 85: 637-683.
- Rayes, N., D. Seehofer and P. Neuhaus. 2009. Prebiotics, probiotics, synbiotics in surgery-are they only trendy, truly effective or even dangerous?. *Langenbeck's Archives of Surgery* 394: 547-555.
- Roselli, M., A. Finamore, M. S. Britti, P. Bosi, I. Oswald and E. Mengheri. 2005. Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: Evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of *in vitro* and *in vivo* results. *Animal Research* 54: 203-218.
- Saad, N., C. Delattre, M. Urdaci, J. M. Schmitter and P. Bressollier. 2012. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT - Food Science and Technology* Article in press: 1-16.
- Saki, A. A., R. N. Harcini, E. Rahmatnejad and J. Salary. 2012. Herbal additives and organic acids as antibiotic alternatives in broiler chickens diet for organic production. *African Journal of Biotechnology* 11(8): 2139-2145.
- Shelton, M. W., M. E. Jacob, M. D. Tokach, J. L. Nelssen, R. D. Goodband, S. S. Dritz, J. M. DeRouchey, R. G. Amachawadi, X. Shi and T. G. Nagaraja. 2009. Effects of copper sulfate, zinc oxide, and neoterramycin on weanling pig growth and antibiotic resistance rate for fecal *Escherichia coli*. (Online). Available: <http://krex.k-state.edu/dspace/handle/2097/2141> (September 25, 2012).
- Shim, S. B., W. A. Verstegen, I. H. Kim, O. S. Kwon and J. M. A. J. Verdonk. 2005. Effects of feeding antibiotic-free creep feed supplemented with oligofructose, probiotics or synbiotics to suckling piglets increases the preweaning weight gain and composition of intestinal microbiota. *Archives of Animal Nutrition* 59: 419-427.
- Smiricky-Tjardes, M. R., C. M. Grieshop, E. A. Flickinger, L. L. Bauer and G. C. Fahey. 2003. Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs. *Journal of Animal Science* 81: 2535-2545.
- Snyder, D. L. and B. S. Wostmann. 1987. Growth rate of male germfree Wistar rats fed *ad libitum* or restricted natural ingredient diet. *Lab. Animal Science* 37: 320-325.
- Swann, M. M., K. L. Blaxter, H. I. Field, J. W. Howie, I. A. M. Lucas, E. L. M. Miller, J. C. Murdock, J. H. Parsons and E. G. White. 1969. Report of the Joint Committee on the Use of Antibiotics in Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Cmnd 4190, London, HMSO.
- Swartz, M. N. 2002. Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin. *Clinical Infectious Diseases* 34: 111-122.
- Tapingkae, W., M. Yachai, W. Visessanguan, P. Pongtanya and P. Pongpiachan. 2008. Influence of crude xylanase from *Aspergillus niger* FAS128 on the *in vitro*

- digestibility and production performance of piglets. *Animal Feed Science and Technology* 140: 125-138.
- Toghyani, M., M. Toghyani and S. A. Tabeidian. 2011. Effect of probiotic and prebiotic as antibiotic growth promoter substitutions on productive and carcass traits of broiler chicks. *International Conference on Food Engineering and Biotechnology IPCBEE* vol. 9. IACSIT Press, Singapore.
- Van Heugten, E., J. W. Spears, E. B. Kegley, J. D. Ward and M. A. Qureshi. 2003. Effects of organic forms of zinc on growth performance, tissue zinc distribution, and immune response of weanling pigs. *Journal of Animal Science* 81: 2063-2067.
- Veum, T. V. and J. Odle. 2001. *Swine Nutrition: Feeding Neonatal Pigs*. 2nd ed. In: A. J. Lewis and L. L. Southern (eds.). CRC Press, New York.
- Yan, L., Q. W. Meng and I. H. Kim. 2011. The effect of an herb extract mixture on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and fecal noxious gas content in growing pigs. *Livestock Science* 141: 143-147.
-

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 ให้ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่
Abstract, Introduction
- คำแรกทีตามหลัง คำสำคัญ ให้ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่
Keywords : Mango, chlorophyll

การส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์

ให้ส่งต้นฉบับ 1 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล โดยส่งถึง บรรณาธิการวารสารเกษตร
งานบริหารงานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัด
เชียงใหม่ 50200

การตอบรับบทความ

บทความทุกบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร ต้องผ่านการประเมินจาก
ผู้ทรงคุณวุฒิ ไม่น้อยกว่า 2 ท่าน

** กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจและแก้ไขบทความที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ใน
วารสารเกษตร

** The Editorial Board claims a right to review and correct all articles submitted for
publishing

JOURNAL OF AGRICULTURE

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Volume 30, Issue 2 May - August 2014

Genetic Relationship Analysis of Dwarf Doritis pulcherrima Lindl. by RAPD and ISSR Techniques Mallika Duangkhet, Nuttha Potapohn and Weenun Bundithya.....	99
Evaluation of Male and Female Parents for F1 Hybrid Production of Leaf Mustard Teerawat Seetong and Maneechat Nikornpun.....	111
Adaptation to Aerobic Condition of Upland and Wetland Rice Varieties Puthapong Manokam, Nattinee Phattarakul, Sansanee Jamjod, Chanakan Thebault Prom-u-thai and Benjavan Rerkasem.....	121
Site-specific Fertilizer Management on Growth, Yield, and Agronomic Nitrogen Use Efficiency of Rice Grown in Sapphaya Soil Series Auraiwan Isuwan.....	133
Using Endophytic Actinomycetes to Induce Leaf Disease Resistance of Strawberry by Tissue Culture Techniques Sirimas Chaichom and Kaewalin Kunasakdakul.....	141
Reaction of BC4F3-4 Backcross Rice Lines ((Abhaya/KDML 105) X Chai Nat 1) to Rice Gall Midge in Lower Northern Thailand Weerathep Pongprasert, Somchai Tanasinchayakul, Suradet Palawisut, Jate Kotcharerk and Kanitta Kerdruk.....	151
Survey of Mulberry Thrips and their Entomopathogenic Fungi Nuttagan Ngamsaengrit, Jiraporn Kulsarin, Siriya Kumpiro and Saowanee Apinyanuwat.....	161
Effects of Crude Fibrolytic Enzymes from Pleurotus ostreatus Spent Mushroom Substrate on the In vitro Digestibility and Nutrient Utilization of Broiler Diet Wanaporn Tapingkae, Sureerat Thuekeaw and Mongkol Yachai.....	171
Replacement of Soybean Meal with Yeast Fermented Palm Kernel Cake in Concentrate on Digestibility and Rumen Volatile Fatty Acid Concentrations of Goats Pin Chanjula and Ashara Pengnoo.....	181
Effects of Dietary Protein Levels on Digestibility, Blood Metabolites, and Production Performance of Lactating Dairy Goats Pin Chanjula, Patcharin Pakdeechanuan, Siriwat Wasiksiri and Sompong Tedprasit.....	191
Review Article: Alternatives to the Use of Antibiotics as Growth Promoters for Livestock Animals Wanaporn Tapingkae.....	201