



วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 26 ฉบับที่ 2 มิถุนายน 2553

ผลของคลื่นความถี่วิทยุต่อคุณภาพการสีของข้าว

พลากร สำราษฏร์ สุชาดา เวียรศิลป์ ญัฐศักดิ์ กฤติกาเมษ Dieter von Hörsten Wolfgang Lück

และสงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์.....101

การชักนำไซมาติคเอบริโอในหญ้าแฝกพันธุ์สงขลา 3

ลัดดาวัลย์ มูสิกะปาละ และ สมปอง เตชะโต.....107

Yield and Rotenone Content in Derris Root as Affected by Plant Age and Growing Conditions

อรุณ ไสตฤกุล และ พิทยา สรวมศิริ.....119

อิทธิพลของการเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืนต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของปทุมมา

พัชร สิริตระกูลศักดิ์ สาวิตร มีจ้อย และ ไสระยา ร่วมรังษี.....127

การรวบรวมและจำแนกสายพันธุ์เห็ดหอมที่เพาะเป็นการค้าด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอฟดี

เรือนแก้ว ประพฤติ และ ปรีชา รัตนัง.....137

ผลของระดับแคลเซียมและแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของคะน้าจีนที่ปลูกด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์

สุภกิจ ไชยพุด และ ไสระยา ร่วมรังษี.....147

ผลของระดับแคลเซียมและแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของแวนดาสันทรายบลู

ชมัยพร อนุวงศ์ และ ไสระยา ร่วมรังษี.....157

ความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน MC5R ต่ออัตราการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมือง (ประดู่หางดำ)

วิทย์ธพงษ์ เปี้ยวงค์ ปุณเรศวร์ รัตนประดิษฐ์ และ สัณชัย จตุรสิทธา.....163

ผลผลิตไข่และต้นทุนการผลิตลูกของไก่พื้นเมืองประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ที่เลี้ยงในกรงตับ

อำนวย เลี้ยวธารากุล ชาตรี ประทุม และ ศิริพันธ์ โมราภบ.....173

สภาวะทางโภชนาการและค่าโลหิตวิทยาในฤดูกาลต่าง ๆ ของม้าแกลบในจังหวัดลำปาง

สุนทร วิทยาคุณ เจริญ แสงดี นรินทร์ กองเงิน และ ปิยะมาสฐ์ ตัณฑ์เจริญรัตน์.....179

ISSN 0857-0841

วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

ผู้จัดพิมพ์	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Publisher	Faculty of Agriculture, Chiang Mai University
กำหนดการพิมพ์	วารสารราย 4 เดือน (3 ฉบับ/ปี)	Publication	Tri-annually
วัตถุประสงค์	เพื่อเผยแพร่วิทยาการด้านการเกษตร และสาขาที่เกี่ยวข้อง	Objective	To disseminate academic knowledge in agriculture and related fields
ที่ปรึกษา	คณบดีคณะเกษตรศาสตร์ รองคณบดีฝ่ายวิจัยและวิเทศสัมพันธ์	Consultants	Dean, Faculty of Agriculture Associate Dean for Research and International Relations Affairs
บรรณาธิการ	รศ. ศุภศักดิ์ ลิมปิติ	Editor	Supasark Limpiti, Assoc. Prof.
รองบรรณาธิการ	รศ. ดร. สมบัติ ศรีชูวงศ์	Vice Editor	Sombat Srichuwong, Ph.D., Assoc. Prof.
กองบรรณาธิการ	รศ. ไพฑูรย์ รอดวินิจ	Editorial Board	Paitoon Rodvinij, Assoc. Prof.
ฝ่ายวิชาการ	รศ. ดร. บุญล้อม ชีวะอิสสระกุล	(Academic)	Boonlom Cheva-Isarakul, Dr. Agr, Assoc. Prof.
	รศ. วราภา คุณาพร		Warapa Kunaporn, Assoc. Prof.
	ผศ. ดร. สุรินทร์ นิลสำราญจิต		Surin Nilsamranchit, Ph.D., Assist. Prof.
	ศ.ดร. จรรย์ จันทลักขณา		Charan Chantalakhana, Ph.D., Prof.
	ศ.ดร.เมธา วรรณพัฒน์		Metha Wanapat, Ph.D., Prof.
	ศ.ดร.อังศุมาลย์ จันทราบัตย์		Angsumarn Chandrapatya, Ph.D., Prof.
กองบรรณาธิการ	นางสาววิไลพร ธรรมตา	Editorial Board	Vilaiporn Thammata
ฝ่ายการจัดการ	นางสาวธิดารัตน์ ดีวงศ์สาย	(Management)	Thidarat Deewongsai
	นางสาวนพวรรณ นุบุญมา		Noppawan Nuboonma
	นางชโรชนีชัย ชัยมินทร์		Charochinee Chaimin
	นายกานต์ คงบรรทัด		Karn Khongbanthat
สำนักงานและ การติดต่อ	กองบรรณาธิการวารสารเกษตร งานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200 โทร. 0 5394 4089-92 ต่อ 11 โทรสาร 0 5394 4666 E-mail: agjournal@chiangmai.ac.th	Office and Inquiries	Editorial Board, Journal of Agriculture, Research and International Relations, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand Tel: 0 5394 4089-92 Fax: 0 5394 4666 E-mail: agjournal@chiangmai.ac.th
การบอกรับ เป็นสมาชิก	บอกรับเป็นสมาชิกได้จากใบบอก รับเป็นสมาชิกท้ายเล่ม หรือติดต่อ กองบรรณาธิการโดยตรง	Membership	Apply through the membership form as attached herewith or contact directly to the Editorial Board
กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจและแก้ไข บทความที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร			The Editorial Board claims a right to review and correct all articles submitted for publishing

พิมพ์ที่โรงพิมพ์: สมศักดิ์การพิมพ์ 47/3 ถนนแก้วนครรัฐ ต.วัดเกต อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โทร. 053-242164, 089-4333989

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เรื่องที่ตีพิมพ์

บทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการ

การเตรียมต้นฉบับ

1. ภาษา เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ

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

3. การเรียงลำดับเนื้อหา

3.1 ชื่อเรื่อง (Title) ควรสั้น ชัดเจน และต้องสื่อเป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัย ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

3.2 ชื่อผู้เขียนและที่อยู่ เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

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) และวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยได้ด้วย

3.5 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ให้อธิบายละเอียดวัสดุ 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)

อาจมีหรือไม่ก็ได้ 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 ให้ใช้ชื่อเป็น 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 ให้ใช้ชื่อเป็น Johny and Walker (2004) ...หรือ...(Johny and Walker, 2004) หากมีมากกว่า 3 คน ให้ใช้ชื่อเป็น Johny *et al.* (2005)...หรือ...(Johny *et al.*, 2005) สำหรับในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้ใส่ชื่อผู้เขียนทุกคนห้ามใช้คำว่า และคณะ หรือ *et al.*

5.2 ในบัญชีเอกสารอ้างอิง ให้เรียงลำดับเอกสารภาษาไทยก่อนภาษาอังกฤษโดยเรียงตามลำดับอักษรในแต่ละภาษา ตามรูปแบบการเขียนมีดังนี้

1) วารสาร (Journals)

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

วันทนา มุฑิตา และ ณัฐา ควรประเสริฐ. 2547. เซลล์พันธุศาสตร์และการถ่ายทอดลักษณะของฟิวเซีย. 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. J. Econ. Entomol. 98(2): 299-306.

2) หนังสือ และตำรา (Books & Textbooks)

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

จริยา วิสิทธิ์พานิช ชาติศรี สิทธิกุล และ ยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2545. โรคและแมลงศัตรูลำไย ลิ้นจี่ และมะม่วง. สมรรถนะการพิมพ์, เชียงใหม่. 308 หน้า.

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

3) เรื่องย่อยในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องกันเขียน และมีบรรณานุกรม

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องย่อย. หน้า เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าที่สิ้นสุด. ใน: ชื่อบรรณานุกรม, (บ.ก.) ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์. เมืองที่พิมพ์.

ดำรง เวชกิจ และ สมบูรณ์ ทองสกุล. 2535. เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช. หน้า 22-42. ใน: สุวัฒน์ วลัยธารีย์ (บ.ก.). แมลงและศัตรูศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ไอเดียสแควร์, 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 มณีพองษ์. 2547. ผลของการใช้อินทรีย์วัตถุคุณภาพและสารพืชตกค้างหลังการเก็บเกี่ยวส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 100 หน้า.

5) เอกสารวิชาการอื่นๆ

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

ทวีศักดิ์ ชัยภาส. 2544. แมลงศัตรูปลาน้ำจืดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 126 หน้า.

6) สื่ออิเล็กทรอนิกส์

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: ชื่อWebsite (วันเดือนปีที่สืบค้นข้อมูล).

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

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

การส่งเรื่องเพื่อตีพิมพ์

ให้ส่งต้นฉบับ 1 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล โดยส่งถึง บรรณานุกรมวารสารเกษตร งานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

บทบรรณาธิการ

สวัสดีครับท่านผู้อ่านทุกท่าน

วารสารเกษตรฉบับนี้เป็นฉบับที่ 2 ของปีที่ 26 มีบทความวิจัยนำเสนอท่านผู้อ่าน 10 เรื่อง ส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยของนักวิจัยในแวดวงมหาวิทยาลัย

งานวิจัยประยุกต์ทางด้านการเกษตรมีหลายลักษณะ บางแบบผลงานวิจัยสามารถนำไปใช้งานได้ทันทีโดยไม่ต้องมีการสร้างเครื่องมือที่ซับซ้อนขึ้นรองรับ ตัวอย่างเช่น งานวิจัยเรื่อง “การเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางวันต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของปทุมมา” ผลการวิจัยคือ กระบวนการควบคุมแสง ที่ใช้เครื่องมือง่ายๆ ทำเองได้ในบ้านเรา จึงอาจนำผลวิจัยไปประยุกต์ใช้ได้ง่าย

เมื่อเทียบกับงานวิจัยอีกเรื่องหนึ่งคือ “ผลของคลื่นความถี่วิทยุต่อคุณภาพการสีของข้าว” ตัวเทคโนโลยีที่ใช้ คือเครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ ซึ่งเป็นเครื่องต้นแบบในระดับห้องทดลอง ทำงานได้ที่ละตัวอย่าง ดังนั้นถ้าจะนำผลวิจัยไปใช้จริง ก็จำเป็นต้องมีการพัฒนาเครื่องกำเนิดคลื่นที่ทำงานได้รวดเร็วและต่อเนื่อง ซึ่งหมายถึง ต้องมีงานวิจัยระดับที่ 2 มารองรับ จึงจะเกิดรูปธรรมในการนำผลการวิจัยไปใช้จริงในวงกว้าง

งานวิจัยที่มีประโยชน์หลายชิ้น ต้อง “ขึ้นห้าง” ก็เนื่องจากขาดงานวิจัยระดับที่ 2 มาเสริม ดังนั้นถ้านักวิจัยในแวดวงการเกษตร ทำงานวิจัยให้ไปถึงระดับที่ 2 (ขั้นใช้งานได้จริงนอกห้องทดลอง) กันได้มากๆ ก็จะเป็นมาตรฐานให้กับงานวิจัยระดับที่ 3 ซึ่งผลวิจัยสามารถนำไปใช้งานได้เชิงพาณิชย์ ประเทศก็จะพึ่งตนเองได้ในที่สุด

พบกันใหม่ฉบับหน้า สวัสดีครับ

รศ.ศุภศักดิ์ ลิ้มปิติ

บรรณาธิการวารสารเกษตร

ผลของคลื่นความถี่วิทยุต่อคุณภาพการสีของข้าว

Effects of Radio Frequency on the Milling Quality of Rice

พลากร สำราษฏร์^{1/} สุชาดา เวียรศิลป์^{1/} ณัฐศักดิ์ กฤติกาเมษ^{1/} Dieter von Hörsten^{2/} Wolfgang Lücke^{2/}
และ สงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์^{1/}
Palakon Sumrerath^{1/}, Suchada Vearasilp^{1/}, Nattasak Krittigamas^{1/}, Dieter von Hörsten^{2/}, Wolfgang Lücke^{2/}
and Sa-nguansak Thanapornpoonpong^{1/}

Abstract: Effects of radio frequency (RF) heat treatments at 27.12 MHz on milling quality of rice cv. Pathum Thani 1 were studied. Paddy rice was heated with RF at 70, 85 and 100 °C for the duration of 5, 10 and 15 minutes. Thereafter, the rice was evaluated for the following qualities; percentages of brown rice and head rice yield, the color of milled rice (L^* and b^*), moisture content and amylose content. It was found that the percentages of head rice were increased when paddy rice was treated with RF at 70 °C for both 10 and 15 minutes and at 85 °C for 5 minutes while the color of the milled rice was similar to that which was freshly harvested. However, the percentages of head rice yield and the color of milled rice were decreased when paddy rice was treated with RF at treatments higher than 85 °C for 5 minutes. Therefore, the use of RF treatment can increase milling quality when treating rice under the optimal conditions of 70 °C for 10 minutes.

Keywords: Rice, radio frequency heat treatment, milling quality, brown rice, head rice

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของการให้ความร้อนด้วยคลื่นความถี่วิทยุที่ระดับความถี่ 27.12 MHz ต่อคุณภาพการสีของข้าวปทุมธานี 1 โดยให้ความร้อนด้วยคลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 70, 85 และ 90 °C เป็นระยะเวลา 5, 10 และ 15 นาที หลังจากนั้นตรวจสอบคุณภาพการสี คือ เปอร์เซ็นต์ข้าวกล้อง เปอร์เซ็นต์ต้นข้าว สีของข้าวสาร (L^* และ b^*) ความชื้นมาตรฐานเปียก และปริมาณอะไมโลส พบว่าการให้ความร้อนจากคลื่นความถี่วิทยุที่ระดับอุณหภูมิ 70 °C เป็นระยะเวลา 10, 15 นาที และ 85 °C เป็นระยะเวลา 5 นาที ทำให้เปอร์เซ็นต์ต้นข้าวเพิ่มขึ้น ขณะที่สีของข้าวสารมีค่าใกล้เคียงกับที่ข้าวที่เก็บเกี่ยวใหม่ แต่การให้ความร้อนด้วยคลื่นความถี่วิทยุที่ระดับมากกว่า 85 °C เป็นระยะเวลา 5 นาที ทำให้เปอร์เซ็นต์ต้นข้าวและสีของข้าวสารมีสีชาลดลง ดังนั้นการใช้คลื่นความถี่วิทยุสามารถเพิ่มคุณภาพการสีได้ โดยระดับที่เหมาะสมที่สุดคือการใช้อุณหภูมิ 70 °C เป็นระยะเวลา 10 นาที

คำสำคัญ: ข้าว การให้ความร้อนด้วยคลื่นความถี่วิทยุ คุณภาพการสี ข้าวกล้อง ต้นข้าว

^{1/}สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{1/}Postharvest Technology Research Institute / Postharvest Technology Innovation Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^{2/}Institute of Agricultural Engineering, Georg-August University, Göttingen, Germany

คำนำ

ข้าวเป็นอาหารหลักของคนไทยและเป็นสินค้าส่งออกสำคัญที่ทำรายได้เข้าประเทศปีละหลายแสนล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) ราคาของข้าวจะแปรผันตามคุณภาพของข้าว โดยเฉพาะเปอร์เซ็นต์ต้นข้าว (head rice) เป็นดัชนีหนึ่งที่สำคัญในการวัดคุณภาพของข้าวสาร เปอร์เซ็นต์ต้นข้าวหมายถึงข้าวที่ผ่านกระบวนการขัดสี แล้วเหลือความยาวของเมล็ดข้าวร้อยละ 80 ขึ้นไป มีความสำคัญในการกำหนดราคาข้าวซึ่งเปอร์เซ็นต์ต้นข้าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยมีค่าสูงสุดเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3-4 เดือน (วินิต และภูมิสิทธิ์, 2545) เนื่องจากระยะเวลาที่เก็บรักษาทำให้เม็ดแบ่งที่อยู่ภายในเมล็ดข้าวมีการจับตัวกันแข็งแรงมากขึ้น ทำให้เมล็ดข้าวทนทานต่อแรงกระทำจากภายนอกได้มากขึ้น (Juliano, 1985) ซึ่งต้องใช้ระยะเวลานานในการเก็บรักษา วิธีที่ใช้แก้ไขคือการให้ความร้อนด้วยใช้อากาศร้อนปรับปรุงคุณภาพการสีของข้าวทำให้เปอร์เซ็นต์ต้นข้าวเพิ่มขึ้น เนื่องจากข้าวเปลือกเมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงพอจะทำให้เกิด gelatinization ได้สมบูรณ์ โดยนำข้าวเปลือกอบแห้งที่อุณหภูมิสูงอย่างต่อเนื่อง และเมื่อผ่านการ tempering จะส่งผลให้เกิด gelatinization ขึ้นบางส่วน สามารถเพิ่มปริมาณเปอร์เซ็นต์ต้นข้าวได้ แต่ค่าความขาวของข้าวสารเกิดการเปลี่ยนสีขาวเป็นเหลืองมากขึ้น (อดิเทพ และคณะ, 2542; สมชาติและคณะ, 2550)

การใช้คลื่นความถี่วิทยุ (radio frequency, RF) ทำให้เกิดสนามแม่เหล็กไฟฟ้าหมุนเวียนสลับระหว่างของทั้งสองขั้ว electrodes ซึ่งมีผลทำให้วัตถุเกิดความร้อนขึ้น มีหลักการในการสร้างความร้อนโดยการใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในระดับความถี่คลื่นวิทยุ ถูกปล่อยผ่านไปยังวัตถุที่มีคุณสมบัติ dielectric โดยเครื่องสามารถทำงานได้ที่ความถี่ 27.12 MHz หรือเกิดการเปลี่ยนแปลง 27.12 ล้านครั้งต่อวินาที ทำให้วัตถุที่มีพันธะโมเลกุล 2 ขั้ว เช่น โมเลกุลของน้ำ เมื่อโมเลกุลขวางทิศทางของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจะเกิดการสั่นสะเทือนโดยขึ้นอยู่กับความถี่ของคลื่นวิทยุที่ใช้ การสั่นสะเทือนจะทำให้เกิดการสะสม

พลังงานเป็นความร้อนจากการเสียดทานภายในโมเลกุล (Ryyänen, 1995; Nijhuis *et al.*, 1998) โดยทำให้ความร้อนเกิดขึ้นภายในวัสดุ (inside out) และมีการกระจายความร้อนเป็นไปอย่างสม่ำเสมอทั่วถึงภายในเนื้อวัสดุพร้อม ๆ กัน โดยมีความสามารถในการถ่ายเทพลังงานมีประสิทธิภาพสูงและลดระยะเวลาการให้ความร้อน (Birla *et al.*, 2004) ส่งผลให้ช่วยลดการใช้พลังงาน (Wang *et al.*, 2003) ซึ่งแตกต่างจากการให้ความร้อนโดยใช้อากาศซึ่งจะเกิดความร้อนจากบริเวณผิววัสดุก่อนแล้วจึงนำความร้อนสู่ภายใน (outside in) ดังนั้นจึงทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ RF ปรับปรุงคุณภาพการสีของข้าว

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลอง ณ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยนำข้าวเปลือกปทุมธานี 1 จากศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวชัยนาท พื้นที่ปลูกจังหวัดสิงห์บุรี เก็บเกี่ยวเดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2551 ความชื้นประมาณ 13-14 เปอร์เซ็นต์ (มาตรฐานเปียก) มาให้ความร้อนเพื่อตัดแปลงคุณภาพข้าวด้วยคลื่นความถี่วิทยุที่ระดับความถี่ 27.12 MHz (Radio Frequency Generator, Sairem, France) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ขั้ว มีปัจจัยในการศึกษา 10 ปัจจัย โดยให้ความร้อนจากคลื่นความถี่วิทยุที่ 3 ระดับอุณหภูมิคือ 70, 85 และ 100 °C เป็นระยะเวลา 5, 10 และ 15 นาที เปรียบเทียบกับข้าวปกติ ทำการตรวจสอบและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของข้าวภายหลังการตัดแปลงคุณภาพข้าว โดยตรวจคุณภาพการสี (เปอร์เซ็นต์ข้าวกล้องและเปอร์เซ็นต์ต้นข้าว) สีของเมล็ดข้าวสารโดยวัดค่าความขาวและค่าสีเหลือง (L^* และ b^*) ด้วยใช้เครื่องวัดสี (Colorquest XE Hunter Lab, USA) ความชื้นมาตรฐานเปียก (AOAC, 2005) และปริมาณอะไมโลสโดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง (Juliano, 1971) ทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดย ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย (comparison of means) ด้วย Duncan's New Multiple Range Test ($P \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS (SPSS Inc, USA)

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากตารางที่ 1 แสดงถึงระยะเวลาของกระบวนการให้ความร้อนด้วยคลื่นความถี่วิทยุและระดับอุณหภูมิของเมล็ดข้าวขณะทำการให้ความร้อนด้วยคลื่นความถี่วิทยุ

ผลของคลื่นความถี่วิทยุที่มีต่อความชื้นของข้าวเปลือกปทุมธานี 1 (ภาพที่ 1a) พบว่า ข้าวเปลือกปทุมธานี 1 ที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ปริมาณอะไมโลสไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบปริมาณอะไมโลสของข้าวหุ้ดควบคุม (ภาพที่ 1b)

สำหรับผลของคลื่นความถี่วิทยุที่ระดับอุณหภูมิและระยะเวลาที่แตกต่างกันต่อปริมาณข้าวกล้องดังแสดงในภาพที่ 1c พบว่า ข้าวเปลือกที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 °C เป็นระยะเวลา 10 และ 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์ข้าวกล้องใกล้เคียงกับหุ้ดควบคุม และเปอร์เซ็นต์ต้นข้าวของข้าวเปลือกที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นระยะเวลา 5, 10, และ 15 นาที และ 85 °C เป็นระยะเวลา 5 นาที มีเปอร์เซ็นต์ต้นข้าวมากกว่าหุ้ดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 1d)

สอดคล้องกับรายงานของ Inprasit and Noomhorm, (2001); Wiset *et al.* (2005) พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงสามารถเพิ่มปริมาณต้นข้าวได้ เนื่องจากอุณหภูมิการอบที่สูงขึ้นทำให้เกิด partial gelatinization เกิดโครงสร้างที่เปื่อยยุ่ยเหมือนร่างแหที่แข็งแรง พันธะภายในเม็ดแป้งจึงจับกันแน่นขึ้น ข้าวเปลือกที่ผ่านการอบแห้งด้วยอุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้เมล็ดข้าวเปลือกสามารถทนต่อแรงกระแทกหว่านได้ดีมากกว่า (Juliano, 1985; Tirawanichakul *et al.*, 2004) โดยอุณหภูมิที่ทำให้เกิด gelatinization ได้ อุณหภูมิต้องสูงใกล้เคียงกับ 73-86 °C (Taweerattanapanish *et al.*, 1999) แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นและระยะเวลาเพิ่มขึ้น (85 °C เป็นระยะเวลา มากกว่า 10 นาที และ 100 °C ทุกระยะเวลา) จะทำให้ปริมาณต้นข้าวลดลง เนื่องจากอุณหภูมิสูงทำให้เกิดความเค้น (stresses) ภายในเมล็ดข้าวระหว่างการอบทำให้เกิดความเสียหายกับเมล็ดข้าวได้ (Kunze, 1979)

ส่วนสีของข้าวสารเมื่อผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่ระดับอุณหภูมิมากกว่า 70 °C เป็นระยะเวลา 10 นาที ทำให้ข้าวสารมีค่าความขาว (L^*) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับหุ้ดควบคุม ดังแสดงในภาพที่ 1e ขณะที่ค่าสีเหลือง (b^*) (ภาพที่ 1d) ของข้าวสารเมื่อผ่าน

Table 1 Grain temperature at different conditions.

Treatments	Time reaching target temperature (min)*	Drying time (min)*	Grain temperature (°C)*
control	-	-	25 ± 2.50
70°C 5 min	3 ± 0.04	5 ± 0.01	70 ± 0.50
70°C 10 min	3 ± 0.33	10 ± 0.01	70 ± 0.25
70°C 15 min	3 ± 0.32	15 ± 0.01	70 ± 0.25
85°C 5 min	4 ± 0.27	5 ± 0.01	85 ± 0.50
85°C 10 min	4 ± 0.27	10 ± 0.02	85 ± 0.10
85°C 15 min	4 ± 0.26	15 ± 0.01	85 ± 0.15
100°C 5 min	5 ± 0.38	5 ± 0.02	100 ± 0.05
100°C 10 min	5 ± 0.35	10 ± 0.01	100 ± 0.15
100°C 15 min	5 ± 0.36	15 ± 0.01	100 ± 0.25

*Mean values with standard deviations

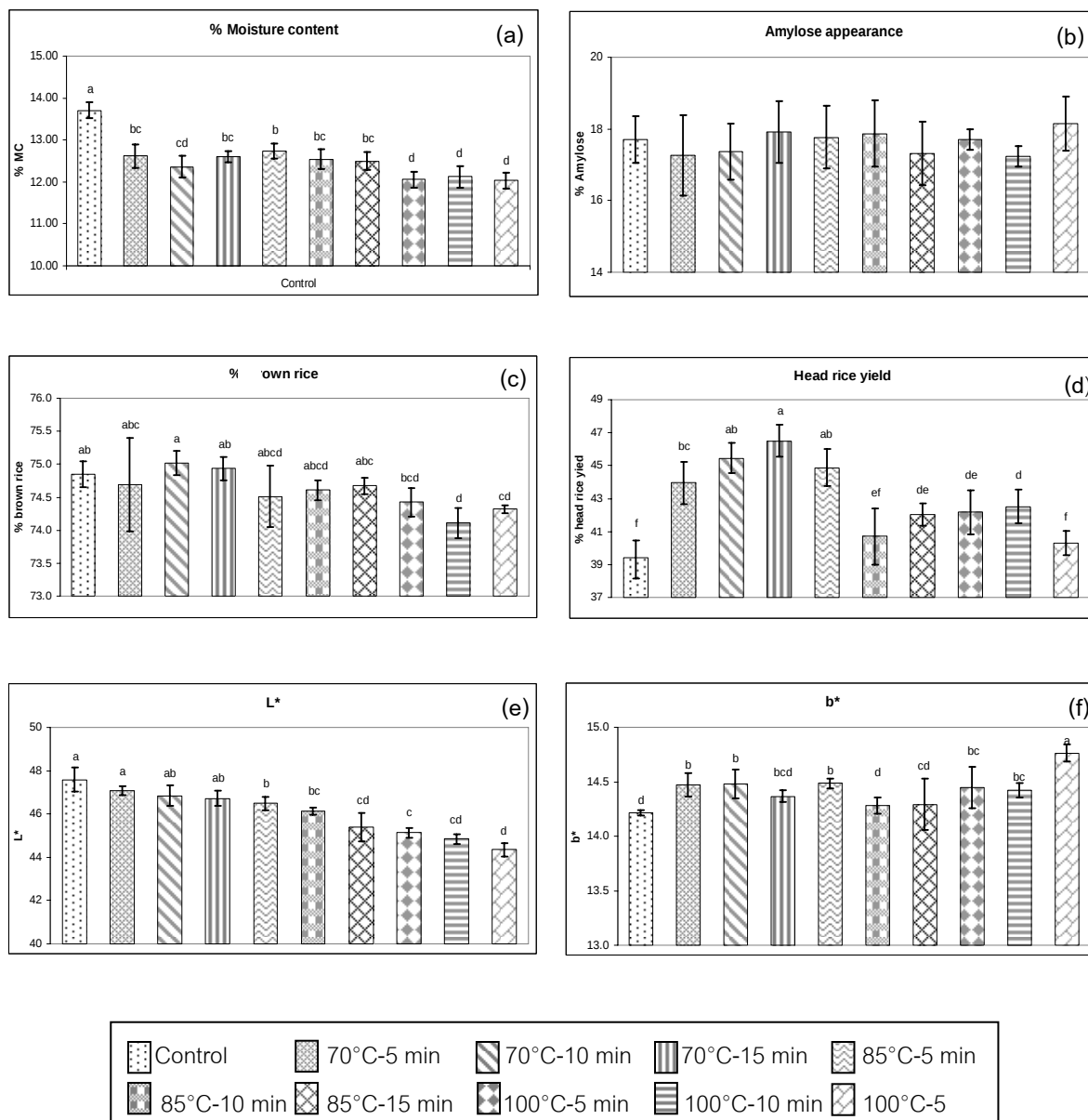


Figure 1 Change of (a) % moisture content, (b) Amylose content, (c) brown rice, (d) head rice yield, (e) L* and (f) b* of rice at different condition.

*Difference superscripts in the same graph mean that values are significantly different ($P \leq 0.05$)

*Mean values with standard deviations were reported

คลื่นความถี่วิทยุที่ระดับอุณหภูมิ 100 °C เป็นระยะเวลา 15 นาที ทำให้ค่า b^* มากกว่าชุดควบคุมอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา maillard reaction ที่ทำให้เมล็ดข้าวมีการเปลี่ยนแปลงสีของข้าวสารจากสีของเปลือกข้าวและรำข้าวเข้าสู่ภายในเมล็ดข้าวสาร (Yap *et al.*, 1990; Inprasit and Noomhorm, 2001) สอดคล้องกับรายงานของ ใจทิพย์ และผดุงศักดิ์ (2547), พลากกร และคณะ (2551), อินดา และคณะ (2550) และ Wiset *et al.* (2005) ที่พบว่าทำให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกับข้าวเปลือกทำให้เมล็ดข้าวมีสีเหลืองสูงขึ้น ยกเว้นที่ระดับอุณหภูมิ 70 °C เป็นระยะเวลา 15 นาที และ 85 °C เป็นระยะเวลา 10 และ 15 นาที ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

สรุป

การให้ความร้อนด้วยคลื่นความถี่วิทยุต่อคุณภาพการสีข้าว ทำให้เปลี่ยนแปลงคุณภาพการสีของข้าวโดยใช้ทำให้คลื่นความถี่วิทยุที่ระดับอุณหภูมิ 70 °C ระยะเวลา 10 นาที สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ต้นข้าวสูงสุดและสีของข้าวสารมีค่าใกล้เคียงกับข้าวใหม่ปกติ และทำให้ความชื้นของข้าวเปลือกลดลง ขณะที่เปอร์เซ็นต์อะไมโลสและเปอร์เซ็นต์ข้าวกล้องไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นการให้ความร้อนด้วยคลื่นความถี่วิทยุสามารถปรับปรุงคุณภาพการสีของข้าวได้

เอกสารอ้างอิง

- ใจทิพย์ วานิชขัง และ ผดุงศักดิ์ วานิชขัง. 2547. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวเก่าเพื่อชุมชน. รายงานการวิจัยสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, ชลบุรี. 76 หน้า.
- พลากกร สัมภาษณ์ สวณศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์ และ สุชาติา เวียรศิลป์. 2551. การดัดแปลงคุณภาพการหุงต้มของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่นความถี่วิทยุ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3 พิเศษ): 354-358.
- วินิต ชินสุวรรณ และ ภูมิสิทธิ์ วรรณชาวี. 2545. การเร่งความเก่าของข้าวเปลือกหอมมะลิโดยการอบ.

วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 33(6 พิเศษ): 261-267.

สมชาติ ไสภณรณฤทธิ์ สมเกียรติ ปรัชญาวรรการ และ ชัยยงค์ เตชะไพโรจน์. 2550. การจัดการข้าวเปลือกหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อการปรับปรุงคุณภาพและการพัฒนาผลิตภัณฑ์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 38(5 พิเศษ): 291-300.

กระทรวงพาณิชย์ และ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2552. ยุทธศาสตร์ข้าวไทยปี 2550-2554. [ระบบออนไลน์]. แหล่งข้อมูล: <http://www.ricethailand.go.th/rice%20web/Introduce%20Rice/strategy.pdf> (26 กรกฎาคม 2552).

อดิเทพ ทวีรัตนพาณิชย์ สมชาติ ไสภณรณฤทธิ์ สมบูรณ์ เวชกามา งามชื่น คงเสรี และ สุนันทา วงศ์ปิยชน. 2542. การอบแห้งข้าวเปลือกโดยเทคนิคฟลูอิดเซชันเพื่อการเพิ่มปริมาณข้าวเต็มเมล็ด. วิทยาศาสตร์เกษตร 33: 134-145.

อินดา แวดาลอ ละมุล วิเศษ และ ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล. 2550. ผลของการอบแห้งแบบสองขั้นตอนและอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อคุณภาพข้าวขาวดอกมะลิ 105. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 38(6 พิเศษ): 326-330.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC International. Gaithersburg, MD.

Birla, S.L., S. Wang, J. Tang and G. Hallman. 2004. Improving heating uniformity of fresh fruit in radio frequency treatments for pest control. Postharvest Biology and Technology 33: 205-217.

Inprasit, C. and A. Noomhorm. 2001. Effect of drying air temperature and grain temperature of different types of dryer and operation on rice quality. Drying Technology 19(2): 389-404.

Juliano, B.O. 1971. A simplified assay for milled-rice amylose. Cereal Science Today 16: 334 - 336.

- Juliano, B.O. 1985. Rice Chemistry and Technology. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul. 774 pp.
- Kunze, O. R. 1979. Fissuring of the rice grain after heated air drying. Transactions of the ASAE 22 : 1197-1201.
- Nijhuis, H.H., H.M. Topping, S. Muresan, D. Yuksel, C. Leguijt and W. Kloek. 1998. Approaches to improving the quality of dried fruit and vegetables. Trends in Food Science and Technology 9: 13-20.
- Ryynänen, S. 1995. The electromagnetic properties of food materials: A review of the basic principles. Journal of Food Engineering 26: 409-429.
- Taweerattanapnish, A., S. Soponronnarit, S. Wetchacama, N. Kongsiri and S. Wongpiyachon. 1999. Effect of drying on head rice yield using fluidization technique. Drying Technology 17: 345-353.
- Tirawanichakul, S., S. Prachayawarakorn, W. Varanyanond, P. Tungtrakul and S. Soponronnarit. 2004. Effect of fluidized bed drying temperature on various qualities attributes of paddy. Drying Technology 22(7): 1731-1754.
- Wang, S., J. Tang, J.A. Johnson, E. Mitcham, J.D. Hansen, G. Hallman, S.R. Drake and Y. Wang. 2003. Dielectric properties of fruits and insect pests as related to radio frequency and microwave treatments. Biosystems Engineering 85(2): 201-212.
- Wiset, L., G. Szrednicki, M. Wootton, R. H. Driscoll and A.B. Blakeney. 2005. Effects of high-temperature drying on physicochemical properties of various cultivars of rice. Drying Technology 23: 2227-2237
- Yap, A. B., B. O. Juliano and C. M. Perez. 1990. Artificial yellowing of rice at 60 °C. *In*: Proceedings of the 11th ASEAN Technical Seminar on Grain Postharvest Technology, Kuala Lumpur, Malaysia.
-

การชักนำไซมาติคเอ็มบริโอในหญ้าแฝกพันธุ์สงขลา 3 (*Vetiveria zizanioides* Nash)

Somatic Embryo Induction in Vetiver Grass (*Vetiveria zizanioides* Nash) var. Songkhla 3

ลัดดาวัลย์ มุสิกะปาละ^{1/} และ สมปอง เตชะโต^{1/}
Laddawan Moosikapala^{1/} and Sompong Te-chato^{1/}

Abstract: Somatic embryo induction and maturation of vetiver grass var. Songkla 3 was carried out using calli established from young leaf. The calli were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with various kinds and concentrations of plant growth regulators. MS supplemented with 2, 4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 6-benzyladenine (BA) at the same concentration (1 mg/l) gave the highest ratio (90.91%) and highest number of somatic embryo at globular stage (2.71 nodules/callus) and heart shape stage (2.56%). MS medium with reduced concentration (1/4MS) gave green spot on somatic embryo. Culturing embryogenic callus in solid medium for a week followed by MS liquid medium with 1 mg/l 2,4-D and 1,000 mg/l casein hydrolysate gave the highest somatic embryo from heart to torpedo shape at 26.79%

Keywords: Vetiver grass, somatic embryo, torpedo shape, 2,4-D, casein hydrolysate

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

^{1/}Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

บทคัดย่อ: นำใบอ่อนหญ้าแฝกจากต้นที่ดูแลในเรือนกระจกมาชักนำแคลลัส และส่งเสริมพัฒนาการไซมาติคเอมบริโอ โดยทำการศึกษานิตและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นของธาตุอาหาร พบว่า อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ที่เติม 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) ร่วมกับ BA (benzyladenine) ความเข้มข้น 1 มก./ล. เท่ากัน ส่งเสริมพัฒนาการของไซมาติคเอมบริโอระยะรูปกลมสูงสุด 90.91% จำนวนปมเฉลี่ยสูงสุด 2.71 ปม/ชิ้นส่วน รูปหัวใจสูงสุด 2.56% ส่วนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นขององค์ประกอบธาตุอาหารเป็น 1/4 MS ชักนำให้เกิดไซมาติคเอมบริโอที่มีจุดสีเขียว การเพาะเลี้ยงเอมบริโอเจเนติกแคลลัสในอาหารแข็งเป็นเวลา 1 สัปดาห์แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ CH (casein hydrolysate) เข้มข้น 1,000 มก./ล. ส่งเสริมพัฒนาการของไซมาติคเอมบริโอระยะรูปหัวใจ-ทอริปีโดสูงสุด 26.79%

คำสำคัญ: หญ้าแฝก ไซมาติคเอมบริโอ ไซมาติคเอมบริโอระยะทอริปีโด 2,4-D casein hydrolysate

คำนำ

หญ้าแฝก (*Vetiveria zizanioides* Nash) มีรากแผ่กระจายลึก ลักษณะเป็นร่างแห ทำให้มีการนำมาใช้ในการอนุรักษ์ดินและน้ำ (Vietmeyer and Ruskin, 1993) นอกจากนี้รากของหญ้าแฝกยังสามารถใช้เป็นวัตถุติดในการสกัดน้ำมันหอมระเหย ประดิษฐ์หัตถกรรมต่าง ๆ (Vietmeyer, 1996) เนื่องจากหญ้าแฝกบางชนิดไม่มีดอก ชนิดที่มีดอกก็ไม่สามารถขยายพันธุ์โดยเมล็ดเนื่องจากมีความงอกต่ำและสูญเสียความงอกได้เร็ว ในสภาพธรรมชาติ เมล็ดทั่วไปจะทิ้งให้แก่คารวงและจะค่อยหลุดร่วงไปโดยที่ส่วนใหญ่ได้สูญเสียความสามารถในการงอกไปแล้ว เมล็ดที่เหลืออยู่ก็แทบจะไม่มีโอกาสที่จะงอกได้นอกจากจะไปตกในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมทันที เนื่องจากการงอกของเมล็ดหญ้าแฝกมีความอ่อนไหวต่อบัณฑิตแวดล้อมต่าง ๆ จึงสูญเสียความสามารถในการงอกได้ง่ายเมื่อประสบกับสภาพความแห้งแล้ง ลมแรง และแดดจัดแม้เพียงช่วงระยะเวลาสั้น ๆ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2541) ดังนั้นการขยายพันธุ์โดยทั่วไปทำโดยการแยกหน่อและแยกต้นแยกหน่อเพื่อปลูกในพื้นที่เป้าหมายโดยสำนักงานพัฒนาที่ดินเขตต่าง ๆ อย่างไรก็ตามยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยเพิ่มปริมาณได้มากในระยะเวลาสั้น สำหรับงานวิจัยหญ้าแฝกในสภาพปลอดเชื้อนั้นยังมีน้อยและเป็นการชักนำพืชต้นใหม่ผ่านการสร้าง compact callus

หรือกระบวนการ organogenesis จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ได้แก่ดอก (Nanakom *et al.*, 1998), ชิ้นส่วนใบ (Mucciarelli *et al.*, 1993; Leupin *et al.*, 2000) และจากยอด (crown) (Leupin *et al.*, 2000) และยังไม่มียางานการชักนำผ่านกระบวนการสร้างต้นอ่อน (embryogenesis) ซึ่งเป็นการเลือกหนึ่งในการเพิ่มปริมาณต้นให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น และยังใช้เป็นวัสดุเริ่มต้นที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ในการสร้างเมล็ดเทียม การปรับปรุงพันธุ์ หรือการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ต่อไป ในรายงานนี้จึงเป็นการศึกษาปัจจัยขั้นต้นในการชักนำและส่งเสริมให้มีการเจริญเติบโตและพัฒนาการของ embryogenic callus และเซลล์แขวนลอยของหญ้าแฝกได้แก่ ความเข้มข้นของธาตุอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต อาทิ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), dicamba, BA (benzyladenine), KN (kinetin), 2-iP (2-isopropanol), TDZ (thidiazuron), GA₃ (gibberellic acid) น้ำตาล PEG (polyethyleneglycol) กรดอะมิโนเชิงซ้อน (CH: casein hydrolysate) และ AD (adenine sulphate)

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพืช

ในการศึกษานี้ใช้แคลลัสหญ้าแฝกพันธุ์สงขลา 3 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนจากต้นในแปลงปลูกของคณะทรัพยากรธรรมชาติ โดยนำใบอ่อนมาฟอกฆ่าเชื้อ

ก่อนการเพาะเลี้ยง โดยล้างด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 10 นาที และล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง แช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 60 วินาที และสารละลายคลอริกซ์เข้มข้น 20% (มีสารออกฤทธิ์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.01%) เป็นเวลา 20 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนใบให้มีขนาดประมาณ 5x5 มม. วางเลี้ยงชิ้นส่วนพืชที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มก./ล. ในที่มีดเป็นเวลา 1 เดือน แล้วนำแคลลัสมาศึกษาการชักนำให้เป็นต้นอ่อน

การชักนำไซมาติคเอมบริโอ

นำแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไปอ่อนมาแบ่งให้มีขนาดประมาณ 3x3 มม. เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D หรือ dicamba เข้มข้น 1.0 มก./ล. CH หรือ AD ความเข้มข้น 0, 100, 200, 500, 750, 1,000 มก./ล. น้ำตาลซูโครส 3% วุ้นไฟต้าเจล 0.17% ในขวดขนาด 4.5x8.5 ซม. (เส้นผ่านศูนย์กลาง x ความสูง) ขวดละ 4 ชิ้น ในที่มีแสง 14 ชม./วัน อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความเข้มแสง $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ตรวจสอบพัฒนาการของแคลลัส โดยดูการสร้างปมหรือโครงสร้างของต้นอ่อน

ในการส่งเสริมพัฒนาการของไซมาติคเอมบริโอ นั้นทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ 2,4-D ร่วมกับไซโตไคนินชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ โดยนำกลุ่มแคลลัสที่มีเอมบริโอในระยะรูปกลม มาตัดแยกให้มีขนาดประมาณ 3x3 มม. เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ BA, KN, TDZ หรือ 2-iP ความเข้มข้น 1 หรือ 2 มก./ล. วุ้นทรานนาเจล เข้มข้น 0.75% ในขวดฝาเกลียวขนาด 2.5x9.5 ซม. ขวดละ 2 ชิ้น ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ๆ ละ 10 ขวด ในที่มีแสง 14 ชม./วัน อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความเข้มแสง $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ตรวจสอบพัฒนาการของแคลลัส ในการสร้างปมหรือโครงสร้างของต้นอ่อน ศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นขององค์ประกอบของอาหารสูตร MS (1/4, 1/2, 3/4 หรือ 1MS) นอกจากนี้ เพาะเลี้ยง embryogenic cell ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มล. ซึ่งบรรจุอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ CH เข้มข้น 1,000 มก./ล. เป็นปริมาตร 30 มล./ขวด โดยใช้ปริมาณแคลลัส 0.3 กรัม เพาะเลี้ยงใน

ห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความเข้มแสง $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที แต่ละอายุทำการเพาะเลี้ยง 4 ขวด เปรียบเทียบอายุของแคลลัสที่นำมาเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ทำการกรองคัดแยกขนาด และมีการเติม BA และตรวจสอบพัฒนาการในการสร้างปมหรือโครงสร้างของต้นอ่อนหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาต่าง ๆ

ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของ CH หรือ AD ร่วมกับ 2,4-D หรือ dicamba ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของแคลลัส พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D และ CH ส่งเสริมพัฒนาการของแคลลัสดีกว่าอาหารที่เติม 2,4-D และ dicamba หรืออาหารที่เติม AD ร่วมกับ 2,4-D หรือ dicamba โดยอาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ CH เข้มข้น 1000 มก./ล. มีการสร้างเอมบริโอระยะรูปกลม สูงสุด 70% จำนวนปมเฉลี่ย 4 ปม/ชิ้นส่วน (ตารางที่ 1)

การเพาะเลี้ยง embryogenic callus ในอาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับไซโตไคนินชนิดต่าง ๆ คือ KN, BA, TDZ และ 2-iP ที่มีความเข้มข้น 1 หรือ 2 มก./ล. พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ให้พัฒนาการของแคลลัสดีกว่าสารชนิดอื่น ๆ คือมีลักษณะเป็นปมหรือโครงสร้างของต้นอ่อนในระยะรูปกลม (ภาพที่ 1A) โดย BA 1 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D 1 มก./ล. ให้อัตราการสร้างปมสูงสุด 90.91% จำนวนปมเฉลี่ยสูงสุด 2.71 ปม/ชิ้นส่วน (ตารางที่ 2) ส่วน 2,4-D ร่วมกับ KN, 2-iP หรือ TDZ ส่งผลให้แคลลัสมีลักษณะยาวหรือมีโครงสร้างของราก (ภาพที่ 1B) และเมื่อตรวจนับจำนวนแคลลัสที่มีการพัฒนาเป็นไซมาติคเอมบริโอ โดยนำแคลลัสมา 0.3 กรัมแช่น้ำกลั่นปริมาตร 25 มล. และนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo พบว่า มีเซลล์ในระยะรูปกลม และระยะรูปหัวใจใกล้เคียงกันในอาหารที่เติม BA 1 หรือ 2 มก./ล. (ตารางที่ 3)

Table 1 Effects of casein hydrolysate, adenine sulphate in combination with 1 mg/l 2,4-D or dicamba on percentage of callus forming nodule and number of nodule after 4 weeks of culture.

Additives (mg/l)	Nodular calli (%)	
	2,4-D	dicamba
0 (Control)	55.56 (2.6)	33.33 (2)
100 CH	50 (2.0)	33.33 (2.0)
200 CH	70 (2.71)	66.67 (1.75)
500 CH	40 (3.5)	16.67 (1.0)
750 CH	70 (2.14)	20.0 (1.0)
1,000 CH	70 (4.0)	40 (1.5)
100 AD	50 (1.6)	0
200 AD	10	0
500 AD	0	0
750 AD	0	0
1,000 AD	0	0

Note: number in parenthesis is the number of nodules.

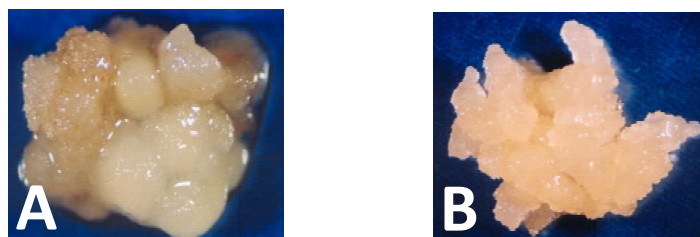


Figure 1 Nodular callus (A) and rooting callus (B) on MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D and various cytokinins after 4 weeks of culture.

Table 2 Effects of cytokinin in combination with 1 mg/l 2,4-D on somatic embryo formation and number of somatic embryos per callus clump after 4 weeks of culture.

Cytokinin (mg/l)		Nodular calli (%)	Number of nodules/callus	Rooting calli (%)	Number of roots/callus
BA	1	90.91	2.71	0	0
	2	75.00	1.83	0	0
KN	1	2.50	1.00	5.00	1.00
	2	0	0	2.50	0.50
2-iP	1	20.00	1.36	7.50	0.67
	2	12.50	1.00	0	0
TDZ	1	12.50	2.00	15.00	1.33
	2	14.24	1.25	23.96	1.30

Table 3 Numbers of globular and heart shape embryos appeared on the media containing various cytokinins in combination with 1 mg/l 2,4-D after 4 weeks of culture.

Cytokinin (mg/l)		Number of globular shape embryos	Number of heart shape embryos
BA	1	3.45	2.56
	2	4.20	2.58
KN	1	0	0
	2	0	0
2-iP	1	1.00	1.00
	2	1.00	1.00
TDZ	1	1.20	1.00
	2	1.00	0

เมื่อย้ายเลี้ยงแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 หรือ 2 มก./ล. เป็นเวลา 3 เดือน แล้วทำการชั่งน้ำหนักสดเปรียบเทียบพบว่า แคลลัสมีน้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากัน คือ 0.415 กรัม/ชิ้นส่วน อย่างไรก็ตามเมื่อย้ายเลี้ยงไซมาติคเอมบริโอที่มีลักษณะรูปหัวใจ-ทอริปโดไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าไซมาติคเอมบริโอไม่มีการพัฒนาต่อไปเป็นยอดแต่มีโครงสร้างของรากเกิดขึ้น ดังนั้นจึงทำการศึกษาปัจจัยที่ส่งเสริมให้มีการงอกของไซมาติคเอมบริโอ โดยลดความเข้มข้นของ 2,4-D ลง จากการศึกษพบว่า แคลลัสยังคงมีโครงสร้างของรากใกล้เคียงกับเมื่อใช้ 2,4-D 1 มก./ล. ส่วนการสร้างปมก็มีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 4) นอกจากนี้การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น ๆ ได้แก่ NAA ร่วมกับ BA (ความเข้มข้น 0.1-1.0 มก./ล.), GA₃ (0.5-4

มก./ล.) หรือ PEG (0.5-10%) พบว่า แคลลัสยังคงมีโครงสร้างของรากสูงและเกิดอาการสีน้ำตาลและตายเป็นส่วนใหญ่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานานขึ้น (ไม่แสดงข้อมูล) การลดความเข้มข้นของธาตุอาหารสูตร MS เป็น ¼ MS นั้นพบว่าแคลลัสมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นและมีจุดสีเขียว (4.17%) แต่พบการเกิดสีน้ำตาลค่อนข้างสูง (ตารางที่ 5, ภาพที่ 2) ทำนองเดียวกันอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ TDZ ให้แคลลัสที่มีความแข็งแรง และมีจุดสีเขียวมากกว่าอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA (ตารางที่ 6, ภาพที่ 3) และเมื่อทำการปรับสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยลดความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับการเติม TDZ พบว่า การพัฒนาของ embryogenic callus ลดลง โดยมีการสร้างปมลดลงและมีการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 7)

Table 4 Effects of various concentrations of 2,4-D in combination with 1 mg/l BA on somatic embryo formation and number of somatic embryos per callus clump after 5 weeks of culture.

2,4-D (mg/l)	Nodular calli (%)	Number of nodules/callus	Rooting calli (%)	Number of roots/callus
0.1	2.5	1	7.5	0.88
0.5	38.75	1.51	7.5	0.88
1.0	38.75	2.06	8.75	1

Table 5 Effects of various strengths of MS medium supplemented with 0.5 mg/l BA and 2,4-D on somatic embryogenesis after 4 weeks of culture.

strength of MS medium	Nodular calli (%)	Number of nodules/callus	Browning (%)	Callus	
				Characters	color
1/4	18.06	1.68	33.33	very compact	yellow with green spots
1/2	12.50	1.00	13.89	compact	yellow
3/4	9.72	1.75	19.44	compact	yellow
1	8.34	1.33	36.11	friable	yellow

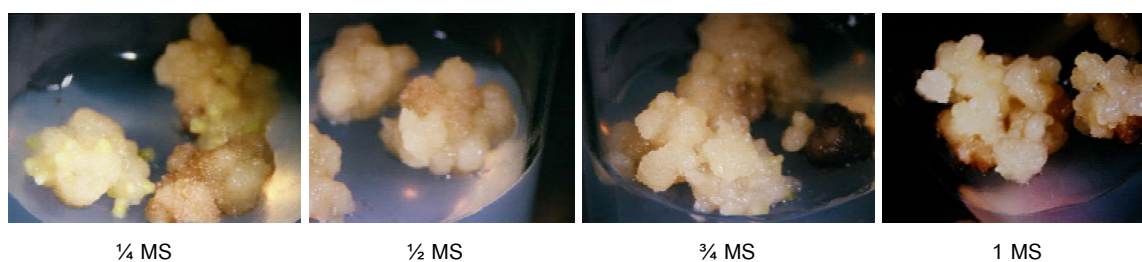


Figure 2 Nodular calli on various strengths of MS medium supplemented with 0.5 mg/l BA and 2,4-D after 4 weeks of culture.

Table 6 Effects of various concentrations of BA or TDZ supplemented with 1 mg/l 2,4-D on somatic embryogenesis after 4 weeks of culture.

2,4-D (mg/l)	BA (mg/l)	TDZ (mg/l)	Nodular calli (%)	Number of nodules/callus	Browning (%)
1	0	0	36.25	1.59	0.00
1	1	0	53.00	2.76	26.00
1	2	0	73.75	2.92	17.50
1	3	0	45.00	2.17	37.94
1	4	0	51.5	1.88	38.75
1	0	0.1	23.75	0.93	9.75
1	0	0.25	18.75	0.68	29.17
1	0	0.5	36.25	1.43	26.25
1	0	1	33.25	1.27	28.50

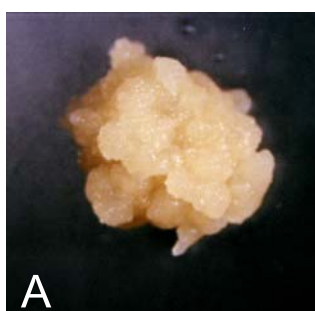


Figure 3 Nodular callus cultured on MS medium supplemented with 1 mg/l BA and 1 mg/l 2,4-D (A) 0.1 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l TDZ (B) after 4 weeks of culture.

Table 7 Effects of various concentrations of 2,4-D in combination with 0.5 mg/l TDZ on somatic embryogenesis after 4 weeks of culture.

2,4-D (mg/l)	TDZ (mg/l)	Nodular calli (%)	Number of nodules/callus	Rooting calli (%)	Number of roots/callus	Browning (%)
0.1	0	20.00	0.73	12.50	0.43	33.75
0.5	0	15.00	0.46	3.75	0.20	6.25
1.0	0	33.75	1.10	0.0	0.00	11.25
0.1	0.5	21.75	0.94	1.25	0.05	53.75
0.5	0.5	20.00	0.90	0.00	0.00	37.50
1.0	0.5	28.75	0.73	0.00	0.00	16.25

ในส่วนของการพัฒนาการของไซมาติคเอ็มบริโอในอาหารเหล่านั้น พบว่า การกรองแยกขนาดของเซลล์ไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตหรือพัฒนาการของเซลล์ การไม่กรองแยกขนาดเซลล์ให้พัฒนาการดีกว่า ซึ่งจากการย้ายเลี้ยงเซลล์ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ CH เข้มข้น 1,000 มก./ล. พบว่า เซลล์มีการเจริญเติบโต และพัฒนาการค่อนข้างดี กลุ่มเซลล์พัฒนาให้เอ็มบริโอในระยะรูปกลม และพบบางกลุ่มเซลล์ที่มีการพัฒนาต่อในระยะหัวใจ (ภาพที่ 4) อย่างไรก็ตามเมื่อย้ายเอ็มบริโอในระยะดังกล่าวไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตไม่มีการงอกหรือพัฒนาเป็นต้น แต่มีการพัฒนาเป็นรากแทน และจากการศึกษาการเติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ 2,4-D

การเติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. ให้พัฒนาการของเซลล์ในระยะรูปกลมและระยะรูปหัวใจ หรือทอริปีโด สูงสุด 13% และ 12.6 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตามผลดังกล่าวต่ำกว่าการไม่เติม BA (ตารางที่ 8)

จากการเปรียบเทียบอายุของ embryogenic callus ที่ย้ายเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ CH เข้มข้น 1,000 มก./ล. เป็นระยะเวลาต่าง ๆ ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า embryogenic callus ที่ย้ายเลี้ยงในอาหารแข็งเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีพัฒนาการดีที่สุดโดยอยู่ในระยะรูปหัวใจ-ทอริปีโด 26.79% หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 9)

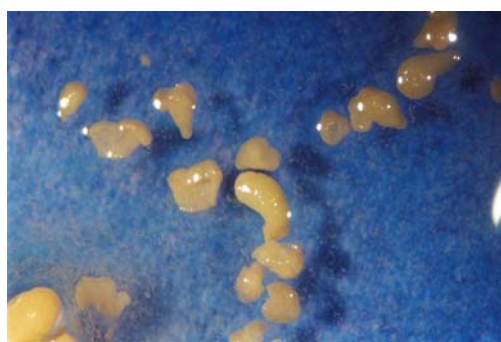


Figure 4 Embryos at various stages of development after 4 weeks of culture in liquid MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D and 1,000 mg/l CH.

Table 8 Effects of various concentrations of BA on development of somatic embryo after 4 weeks of culture in liquid MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D and 1,000 mg/l CH.

BA (mg/l)	Globular shape embryos (%)	Heart-torpedo shape embryos (%)
0	19.15	13.11
1	9.54	12.54
2	4.53	7.02
3	13.0	12.60
4	4.14	11.60

Table 9 Effects of ages of embryogenic calli on development of somatic embryos in liquid MS medium with 1 mg/l 2,4-D and 1,000 CH at various times of culture.

Age (weeks)	Globular-shape embryos (%)				Heart-torpedo-shape embryos (%)			
	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk
1	0	6.02	5.04	1.07	0.65	1.83	8.8	26.79
2	4.09	2.3	0	0	4.94	16.61	9.69	9.13
3	0	0.44	0	0	4.94	11.42	15.22	9.09
4	0.13	0.15	0	0	12.58	11.25	7.74	9.79

วิจารณ์

จากการศึกษาอาหารสูตร MS ที่เติม สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน 2 ชนิด คือ 2,4-D หรือ dicamba พบว่า อาหารเติม 2,4-D ส่งเสริมการสร้างปมของแคลลัสสูงกว่า dicamba การเติม 2,4-D ร่วมกับ CH ส่งเสริมการสร้างปมของแคลลัสสูงกว่า AD ดังนั้นการชักนำไซมาติคเอ็มบริโอในระยะเริ่มต้นส่งเสริมได้ด้วยการเติมออกซินในรูป 2,4-D สอดคล้องกับการรายงานของ Wang *et al.* (2003) รายงานว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 22.6 μ M ส่งเสริมการสร้าง embryogenic callus จาก caryopsis และ mature embryo ของ wheatgrass สูงสุด 3.1% Pareek and Kothari (2003) รายงานการใช้อาหารเหลวที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ล. ซึ่งให้อัตราการ

สร้างไซมาติคเอ็มบริโอโดยตรงจากชิ้นส่วนใบของไม้ดอก *Dianthus* สูงสุด 85% ในขณะที่ Te-chato *et al.* (2003) รายงานว่า อาหารเติม dicamba 1 มก./ล. ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของแคลลัสปาล์มน้ำมัน แสดงให้เห็นว่าพืชต่างชนิดกันมีการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน

การสร้างไซมาติคเอ็มบริโอและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่มักจะสร้างในอาหารเติมหรืออาหารที่ลดความเข้มข้นของสารควบคุมลง หรือผ่านการย้ายเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน ซึ่ง Suzuki *et al.* (2002) ประสบความสำเร็จในการชักนำเอ็มบริโอจากแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบจากนอกหลอดทดลองของ lily of the Nile (*Agapanthus praecox* ssp. *orientalis*) ในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และชักนำการงอกเป็นพืช

ต้นใหม่ได้ในอาหารที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งภายใต้การให้แสงที่ความเข้มแสง $30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ในขณะที่ Sahrawat and Chand (2004) รายงานว่าอาหารสูตร MSB ซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและรองของสูตร MS และวิตามินและกรดอะมิโนของสูตร B5 ที่เติม NAA เข้มข้น $0.11 \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA เข้มข้น $8.8 \mu\text{M}$ ส่งเสริมให้เอมบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยง coleoptile ของข้าวบาร์เลย์มีการพัฒนาเป็นต้นได้ Wang *et al.* (2003) ชักนำให้เกิดต้นจาก embryogenic cell ในสภาพแขวนลอย โดยย้ายกลุ่มเซลล์ไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น $9.1 \mu\text{M}$ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม KN เข้มข้น $0.9 \mu\text{M}$ ส่วน Ipekci and Gozukirmizi (2003) ชักนำให้เกิดโซมาติคเอมบริโอจากชิ้นส่วนใบของ *Paulownia elongata* ได้สูงสุดถึง 69.8% ในอาหารสูตร MS ที่เติม CH เข้มข้น 500 มก./ล. และ TDZ เข้มข้น 10 มก./ล. หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ปราศจาก TDZ เพื่อส่งเสริมพัฒนาการของเอมบริโอและพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่

การปรับความสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นแนวทางหนึ่งในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและพัฒนาการของแคลลัส Leupin *et al.* (2000) รายงานการเติม 2,4-D ร่วมกับ BA ว่าช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของ compact callus ในหญ้าแฝกพันธุ์ที่ไม่มีการสร้างดอก ทำนองเดียวกันในการศึกษานี้เมื่อย้ายเลี้ยงแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับไซโตไคนินชนิดต่าง ๆ พบว่า การเติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1-2 มก./ล. ส่งเสริมการสร้างปมและพัฒนาในระยะรูปหัวใจ-ทอริปโดสูงกว่าไซโตไคนินชนิดอื่น ๆ อย่างไรก็ตามเมื่อทำการย้ายเลี้ยงโซมาติคเอมบริโอที่มีลักษณะรูปหัวใจ-ทอริปโดไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าโซมาติคเอมบริโอไม่มีการพัฒนาต่อไปเป็นยอด แต่มีโครงสร้างของรากเกิดขึ้น จึงได้ศึกษาการปรับสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตโดยลดความเข้มข้นของ 2,4-D และเพิ่มความเข้มข้นของไซโตไคนิน จากการศึกษา พบว่าแคลลัสยังคงมีโครงสร้างคล้ายรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

ส่วนแคลลัสที่มีโครงสร้างคล้ายปมมีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้มีการเติมสารชนิดอื่นเพื่อส่งเสริมให้มีการพัฒนาของโซมาติคเอมบริโอซึ่งมีรายงานความสำเร็จใน *Dianthus* 3 ชนิดในอาหารสูตร MS ที่เติม CH เข้มข้น 200 มก./ล. แล้วส่งเสริมให้งอกเป็นพืชต้นใหม่ในอาหารที่เติม GA_3 เข้มข้น 1 มก./ล. (Pereek and Kothari, 2003) และมีการเติม NAA ในการเลี้ยง *Dianthus caryophyllus* (Yantcheva *et al.*, 1998) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้พบว่า การเติม NAA ร่วมกับ BA (ความเข้มข้น 0.1-1.0 มก./ล.), GA_3 (0.5-4 มก./ล.) หรือสร้างเครียดโดยเติม PEG (0.5-10%) ส่งเสริมแคลลัสที่มีโครงสร้างคล้ายรากสูง มีสีน้ำตาล และตายเป็นส่วนใหญ่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานานขึ้น (ไม่แสดงข้อมูล) นอกจากนี้การลดความเข้มข้นของธาตุอาหารสูตร MS เป็น 1/4 พบว่าแคลลัสมีลักษณะแข็งเพิ่มขึ้นและมีจุดสีเขียวซึ่งคาดว่าเป็นโครงสร้างของยอด อย่างไรก็ตามพบการเกิดสีน้ำตาลค่อนข้างสูง และไม่มีการพัฒนาเป็นต้น ทำนองเดียวกันอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ TDZ ให้แคลลัสที่มีโครงสร้างแข็งและมีจุดสีเขียว มากกว่าอาหารเติม 2,4-D ร่วมกับ BA และเมื่อทำการปรับสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยลดความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับการเติม TDZ พบว่า การพัฒนาของ embryogenic callus ลดลงโดยมีการสร้างปมต่ำกว่าสูตรปกติและเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นและตายลงเมื่อย้ายเลี้ยงต่อไป

จากการทดลองนี้แม้ว่าโซมาติคเอมบริโอของหญ้าแฝกไม่สามารถชักนำให้มีการงอกเป็นต้นได้ การย้ายเลี้ยงอย่างสม่ำเสมอในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มก./ล. ร่วมกับ CH 1,000 มก./ล. นี้ส่งเสริมพัฒนาการของเอมบริโอเข้าสู่ระยะรูปหัวใจ-ทอริปโดได้ในการศึกษาต่อไปเพื่อส่งเสริมการงอกเป็นต้นที่สมบูรณ์ควรปรับความเข้มข้นของ CH ร่วมกับการเติม 2,4-D แล้วย้ายไปชักนำการงอกในอาหารแข็งที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงเป็น 1/4 เติม CH ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด และความเข้มข้นต่าง ๆ เช่น BA ร่วมกับ 2,4-D หรือ BA ร่วมกับ GA_3 ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการชักนำให้เป็นพืชต้นใหม่ต่อไป

สรุป

การเพาะเลี้ยง embryogenic callus หญ้าแฝกในอาหารเลี้ยงสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA เข้มข้น 1 มก./ล. ชักนำไซมาติคเอ็มบริโอในระยะรูปกลมสูงสุด 90.91% จำนวนปมเฉลี่ยสูงสุด 2.71 ปม/ชิ้นส่วน ระยะรูปหัวใจสูงสุด 2.56% ส่วนการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเจนิค แคลลัสในอาหารเลี้ยงสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA เข้มข้น 1 มก./ล. เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ CH เข้มข้น 1,000 มก./ล. ให้เซลล์เดี่ยวๆ และส่งเสริมพัฒนาการของไซมาติคเอ็มบริโอในระยะรูปหัวใจ-ทอริปโดสูงสุด 26.79% อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถชักนำให้มีการออกเป็นต้นได้ ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจำเป็นต้องศึกษาปัจจัยที่ส่งเสริมให้ไซมาติคเอ็มบริโอออกเป็นต้น โดยอาจจะเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงเป็น 1/4 ร่วมกับการเติม CH และสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิด และความเข้มข้นต่างๆ เช่น BA ร่วมกับ 2,4-D หรือ BA ร่วมกับ GA₃

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. 2541. ความรู้เรื่องหญ้าแฝก. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 115 หน้า.

Ipekci, Z. and N. Gozukirmizi. 2003. Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from *Paulownia elongata*. Plant Cell Reports 22: 16-24.

Leupin, R.E., M. Leupin, C. Ehret, K.H. Erismann and B. Witholt. 2000. Compact callus induction and plant regeneration of a non-flowering vetiver from Java. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 62: 115-123.

Mucciarelli, M., M. Gallino, S. Scannerini and M. Maffei. 1993. Callus induction and plant regeneration in *Vetiveria zizanioides*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 35: 267-271.

Nanakorn, M., S. Surawattananon, C. Wongwattana, K. Namwongprom and S. Suwannachitr. 1998. *In vitro* induction of salt tolerance in grass (*Vetiveria zizanioides* Nash). J. Weed Sci. Tech. 43: 134-137.

Pareek, A. and S.L. Kothari. 2003. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf cultures of ornamental species of *Dianthus*. Scientia Horticulturae 98: 449-459.

Sahrawat, A. K. and S. Chand. 2004. High frequency plant regeneration from coleoptile tissue of barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Science 167: 27-34.

Suzuki, S., M. Oota, and M. Nakano. 2002. Embryogenic callus induction from leaf explants of the Liliaceous ornamental plant, *Agapanthus praecox* ssp. *orientalis* (Leighton) Leighton: Histological study and response to selective agents. Scientia Horticulturae 95: 123-132.

Te-chato, S., H. Aslan and Y. Ibrohem. 2003. Improve callus induction and embryogenic callus formation from culture young leaves of oil palm seedling. Thai J. Agric. Sci. 35: 407-143.

Vietmeyer, N. D. 1996. Organizing vetiver's next steps to global acceptance. pp. 18-26. In: N. Chomchalow and H.V. Henle (eds.). Proceedings of the First International Conference on Vetiver a Miracle Grass. The Chaipattana Foundation, Bangkok.

Vietmeyer, N. D. and F. R. Ruskin. 1993. Vetiver Grass: A Thin Green Line Against Erosion. National Academy Press, Washington, D. C.

Wang, Z. Y., J. Bell and A. Hopkins. 2003. Establishment of a plant regeneration system for wheatgrasses (*Thinopyrum*, *Agropyron*

and *Pascopyrum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 73: 265-273.

Yantcheva, A. A., M. Vlahova and A. Antanassov.
1998. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). Plant Cell Reports 18: 148-153.

Yield and Rotenone Content in Derris Root as Affected by Plant Age and Growing Conditions

Aroon Sottikul^{1/} and Pittaya Srumsiri^{2/}

อรุณ ไสตฤกุล^{1/} และ พิทยา สรวมศิริ^{2/}

Abstract: Percentages of rotenone in derris root were investigated at six months after transplanting. Rotenone content of the fibrous root cultivated in 10"x 20", 13"x 26" plastic bags, 15"x 15" plastic pot, and grown under field condition were 1.38, 1.42, 0.93, and 3.09%, respectively, whereas rotenone quantities of the branch roots from the same treatment increased significantly to be 2.06, 3.05, 3.05, and 4.24%, respectively. However, no significant difference of the fresh weights among treatments were observed. At nine months, rotenone contents, in the fibrous root in accordance with the above mentioned treatments were 1.31, 3.05, 1.85, and 3.15%, respectively, Whereas the branch roots contained 2.70, 4.16, 3.74, and 4.55%, respectively. The nine-month plant grown in 13"x 26" plastic bags produced the highest fresh root (101.80 g/pt) and dry root weights (47.20 gm/pt). The lowest fresh root (53.20 g/pt) and dry root weights (24.55 g/pt) were harvested from the plants cultivated under field conditions. For the twelve months old derris plants, the rotenone contents, according to the treatments, were 1.51, 3.29, 2.02, and 3.86% in fibrous root, and 3.18, 4.88, 4.09, and 5.00% in branch roots, respectively. At one year old the highest yield in both fresh (145.00 g/pt) and dry root weights (65.53 g/pt) were also obtained from the plant cultivated in 13"x 26" plastic bags, although they showed non-significant difference among plants grown in various sizes of containers. However, the significantly lowest yields in both fresh (76.68 g/pt) and dry root weights (34.68 g/pt) were still detected from the plants raised in the field.

Keywords: Rotenone content, derris plant, container

^{1/}สถาบันวิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง ตู้ ปณ 89 อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง 52000

^{2/}ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/}Lampang Agricultural Research and Training Center, P.O. Box 89 Amphur Muang, Lampang 52000, Thailand

^{2/}Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

บทคัดย่อ: ในกรณีของรากหางไหลที่มีอายุ 6 เดือน ซึ่งปลูกในภาชนะต่าง ๆ ได้แก่ ถุงพลาสติกดำ ขนาด 10 x 20 นิ้ว และ 13 x 26 นิ้ว ถึงพลาสติกดำขนาด 15 x 15 นิ้ว และปลูกในแปลง พบว่ารากฝอย มีปริมาณโรทีโนน 1.38, 1.42, 0.93 และ 3.09% ตามลำดับ สำหรับรากแขนง มีปริมาณโรทีโนนเพิ่มขึ้นเป็น 2.06, 3.05, 3.05 และ 4.24% ตามลำดับ สำหรับ น้ำหนักรากสดที่ได้จากทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกัน รากหางไหลที่มีอายุ 9 เดือน ปริมาณโรทีโนนที่พบในรากฝอยมีค่าเท่ากับ 1.31, 3.05, 1.85 และ 3.15% ตามลำดับ และรากแขนงมีค่าเท่ากับ 2.70, 4.16, 3.74 และ 4.55% ตามลำดับ ต้นหางไหลที่ปลูกในถุงพลาสติกดำ ขนาด 13 x 26 นิ้ว มีน้ำหนักรากสด (101.80 กรัม/ต้น) และน้ำหนักรากแห้ง (47.20 กรัม/ต้น) ซึ่งมากที่สุดและมากกว่าน้ำหนักรากสด (53.20 กรัม/ต้น) และน้ำหนักรากแห้ง (24.55 กรัม/ต้น) ที่ได้จากต้นหางไหลที่ปลูกในแปลง สำหรับรากหางไหลที่มีอายุ 12 เดือน ปริมาณโรทีโนนที่พบในรากฝอยมีค่าเท่ากับ 1.51, 3.29, 2.02 และ 3.86% ตามลำดับ และในรากแขนงมีค่าเท่ากับ 3.18, 4.88, 4.09 และ 5.00% ตามลำดับ และน้ำหนักรากสด (145.00 กรัม/ต้น) และน้ำหนักรากแห้ง (65.53 กรัม/ต้น) ของต้นหางไหลที่ปลูกในถุงพลาสติกดำ ขนาด 13 x 26 นิ้ว ยังคงมีค่ามากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างจากต้นหางไหลที่ปลูกในภาชนะอื่น ส่วนน้ำหนักรากสด (76.68 กรัม/ต้น) และน้ำหนักรากแห้ง (34.68 กรัม/ต้น) ของต้นหางไหลที่ปลูกในแปลงมีค่าน้อยที่สุด แตกต่างจากทุกกรรมวิธี

คำสำคัญ: สารโรทีโนนในรากหางไหล ภาชนะปลูกต้นหางไหล

Introduction

Rotenone is a organic compounds produced naturally in a number of plants, including the derris plant roots. These compounds are extracted and formulated as pesticides to control insects, mites, ticks, spiders, and undesired fishes (EPA, 2002). Derris plants usually grow wild in natural habitats especially as the riverside. However, the plant number is decreasing and no more economic to collect from the natural habitats. Consequently, farmers have to cultivate derris plants under farm ecosystem, yielding mostly unsatisfactory root parts with very low rotenone content.

The objective of this investigation is to studying derris root production, when grow in various container types and sizes and compare to under field conditions.

Materials and methods

1. Preparing of stem cutting

The derris stems with 1 cm in diameter were selected and cut into stalks of approximately 25–30 cm. long. After all leaves were removed, the stalks were preplanted into the rice hull charcoal and watered twice daily in the morning and the afternoon. The plots were covered with 50% saran roof for 45 days. After the leaf budding appeared and later the young leaves became mature, each plant stalk was transferred into 5"x 8" inches plastic bag filled with soil : manure : rice hull charcoal at the ratio of 2:1:1. Seedlings were kept moist in the greenhouse for one month.

2. Types and sizes of planting containers

Two types of containers with three different sizes were employed 10"x 20" and 13"x 26" plastic bags, and 15"x 15" plastic pots (Figure 2). Mixture of soil with rice hull charcoal and cow manure at a ratio of 2:1:1 was filled into all containers. Each derris plant stalk was transferred and grown in each container for a total of 15 plants per treatment. At the same time another 15 plants were transferred into the

field plot with the plant spacing of 1x1 m. Planting beds were provided with the same soil mixture as supplement treatment for rotenone content comparison.

All plants were irrigated everyday and each experiment was completely randomized design with 4 treatments and 4 replications. The data on total root fresh and dry weights, as well as root rotenone content were collected from each plant in each treatment at 6, 9, and 12 months after transplanting. Rotenone quantity were extracted and determined by HPLC (High Performance Liquid Chromatography) method.

3. Preparation of sample for rotenone content analyzing with HPLC method

The fibrous root and branch roots at the age of 6, 9, and 12 months were sliced into small pieces before drying under shade condition for three to four days and ground by mortar. Each gram of derris root powder taken from each sample was soaked in 10 ml of dioxane and shook for one hour. Extraction was filtered using filter paper no.1 in order to get clear solution for HPLC analysis. (Pitiyont and Sangwanich, 1997).

4. Rotenone analysis by HPLC method

4.1. Principle of the method

Root samples are extracted with dioxane and rotenone analysis is obtained by reversed phase HPLC and UV detector at 280 nm.

4.2. Apparatus and reagents

- 1) HPLC with variable UV detector
- 2) HPLC column ODS-3 4.6 x 150 mm, ProntoSil C18 H, 5-micron with guard column

3) Mobile phase, Phosphoric acid 1ml/water 100ml and degas before use by methanol HPLC grade.

4) Pure rotenone standard.

4.3. Standard curve construction

Weight 0.1005 gm (99.5%) pure rotenone in 100 ml volumetric flask, dissolve with dioxane and shake for 30 minutes. Solution was then diluted to be stock solution at 1,000 ppm rotenone concentration. Further dilution was made with dioxane to 750, 500 and 250 ppm (calculate with formula $N_1V_1 = N_2V_2$). Based on HPLC value. The linear regression derived from peak area and concentration was $Y = 17438X + 187783$. Where Y = peak area from HPLC of each concentration, X = concentration of the unknown (ppm) (Figure 1).

Results and discussion

1. Rotenone content in derris root

Percentages of rotenone content detected from 6, 9, and 12 months old derris roots as affected by each treatment are exhibited in Table 1. At six months after transplanting, rotenone content of the fibrous root collected from 10"x 20", and 13"x 26" plastic bags, 15"x 15" plastic pot, and grown under field condition were 1.38, 1.42, 0.93, and 3.09%, respectively, while rotenone quantities in the branch roots of the same treatment were 2.06, 3.05, 3.05, and 4.24%, respectively. The significantly highest rotenone content for both fibrous root (3.09%) and branch roots (4.24%) were found on the derris plants cultivated under the field plots. The derris plants grown in 13"x 26" plastic bags provided the second highest rotenone content with 1.42% in the fibrous root

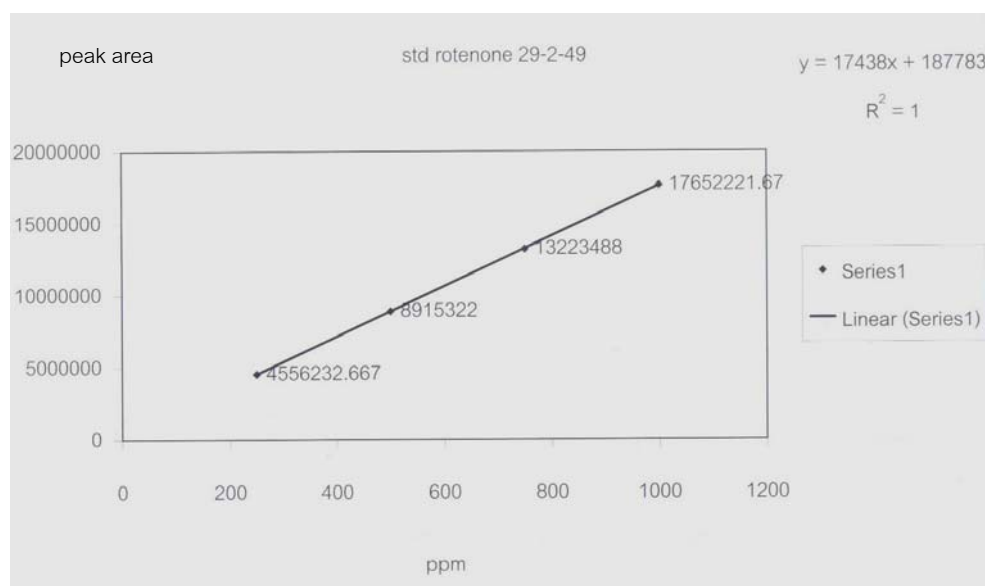


Figure 1 Standard curve of pure rotenone.

Table 1 Percentages of rotenone extracted from 6-, 9-, and 12-month derris root.

Treatment	6 months		9 months		12 months	
	F	B	F	B	F	B
10"x 20" plastic bag	1.38 ^{bc}	2.06 ^c	1.31 ^b	2.70 ^c	1.51 ^b	3.18 ^b
13"x 26" plastic bag	1.42 ^b	3.05 ^b	3.05 ^a	4.16 ^a	3.29 ^a	4.88 ^a
15"x 15" plastic pot	0.93 ^c	3.05 ^b	1.85 ^b	3.74 ^b	2.02 ^b	4.09 ^{ab}
Field plot	3.09 ^a	4.24 ^a	3.15 ^a	4.55 ^a	3.86 ^a	5.00 ^a

*Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at LSD 0.05

Note: F= Fibrous root, B = Branch root

and 3.05% in the branch root. In contrast, the lowest rotenone content of 2.06% was observed on the derris root grown in 10"x 20" plastic bag. These seemed to indicate that no matter of the types, bigger size containers furnished larger space for greater root system development, with lips efficiency in absorbing larger amount of humidity and mineral nutrients, thus, produced higher level of rotenone

content. Nevertheless, the field condition could provide unlimited space for the development of root system; thus, the significantly highest rotenone content was accordingly acquired.

For the nine-month old derris plants, the rotenone contents, in accordance with the treatments, detected in the fibrous roots were 1.31, 3.05, 1.85, and 3.15%, respectively, while rotenone quantities



Figure 2 Types and sizes of planting containers 10"x 20"(right), 13"x 26" plastic bags and 15"x 15" plastic pot (left).



Figure 3 Twelve months old derris root in 10" x 20" plastic bag.

observed from the same treatment on the branch roots were 2.70, 4.16, 3.74, and 4.55%, respectively. The highest rotenone content for both fibrous (3.15%) and branch roots (4.55%) were also occurred on the derris plants cultivated in the field plot, although they displayed non-significant difference to the plants grown in 13" x 26" plastic bags. However, these two treatments demonstrated significantly higher levels of rotenone root contents than obtaining from all other treatments. Again, significantly higher levels of rotenone root contents acquired from the derris plants grown either under field condition or in bigger size containers.

Among the twelve-month old derris plants (Figure 3), the rotenone contents, according to the treatments, determined in the fibrous root were 1.51, 3.29, 2.02, and 3.86%, respectively, while rotenone quantities recorded from the same treatment on the branch roots were 3.18, 4.88, 4.09, and 5.00%, respectively. The greatest rotenone content for both fibrous (3.86%) and branch roots (5.00%) were also exhibited on the derris plants cultivated in the field plots, although they showed no-significant to the

plants grown in 13" x 26" plastic bags. Nevertheless, these two treatments provided greater levels of rotenone contents than other treatments. The lowest rotenone content of both fibrous (1.51%) and branch roots (3.18%) were also observed on the derris root from 10"x 20" plastic bag. Once more, significantly greater levels of rotenone root contents were obtained from the derris plants cultivated either in the field plots or bigger size containers.

The highest rotenone contents of derris root planted in the field were also observed by previous investigators. Srijukavan *et al.* (1988) reported that rotenone content recorded from 18-month old derris root grown in the field was 6.85–7.22%. Tongma *et al.* (2004) obtained the highest level of rotenone content of 14% (w/w) from twelve-month old field grown derris root, while 7.7% was determined from the plant root cultivated in a 16" x 32" (40 x 80 cm) circular cement container. Sangmaneeet *et al.* (2005) were also noted that rotenone content collected from 8 –12 month derris root was approximately 6.69%.

Table 2 Fresh and dry root weights (gram per plant) collected at 6-, 9-, and 12-month of age treatments.

Treatment	6 months		9 months		12 months	
	Fresh	Dry	Fresh	Dry	Fresh	Dry
10"x 20" plastic bag	38.35 ^a	16.29 ^b	70.00 ^b	36.28 ^b	114.00 ^a	54.38 ^a
13"x 26" plastic bag	46.52 ^a	22.39 ^a	101.80 ^a	47.20 ^a	145.00 ^a	65.53 ^a
15"x 15" plastic pot	43.02 ^a	20.46 ^{ab}	74.20 ^b	35.98 ^b	133.00 ^a	64.40 ^a
Field plot	41.60 ^a	19.73 ^{ab}	53.20 ^b	24.55 ^c	76.68 ^b	34.68 ^b

*Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at LSD 0.05

The highest rotenone content of both fibrous (3.86%) and branch roots (5.00%) were also found in the field derris plants, although they displayed non-significant difference to the plants grown in 13"x 26" plastic bags. Moreover, these two treatments contributed greater levels of rotenone root contents than other treatments. Appropriate harvesting time for maximizing rotenone content level of the derris root need to be further investigated.

2. Derris root yield

Fresh and dry weights of root (g/pt) from 6-, 9-, and 12-month old plants were displayed in Table 2. At six-month, no significant difference of the fresh weights among treatments were observed, while the lowest dry weight (16.29 g/pt) was detected from the plant grown in 10"x 20" plastic bag.

Among the nine-month plants, those grown in 13"x 26" plastic bags gave the highest yield of both fresh (101.80 g/pt) and dry root weights (47.20 g/pt). In addition, the significantly lowest yield of both fresh (53.20 g/pt) and dry root weights (24.55 g/pt) were produced by the plants cultivated in the field plots. Similar results were also observed from the 12-month derris roots, the highest yield in both fresh

(145.00 g/pt) and dry root weights (65.53 g/pt) were collected from the plant cultivated in 13"x 26" plastic bags, although they showed no-significant difference among plants grown in various sizes of containers. However, the significantly lowest yield in both fresh (76.68 g/pt) and dry root weights (34.68 g/pt) were still detected from the plants cultivation in the field plots.

Under field condition, the derris root system was able to penetrate deeper in the ground and provided more branch and fibrous roots. To pull out the whole root system from deeper ground level was time and labor consuming and quite difficult tasks. Whereas, the derris root system was easily to harvest with less root damage when the plant grown in planting material filled in various sizes of containers, thus providing more biomass of plant root yields.

Tongma *et al.* (2004) confirmed from the previous study that the twelve-month old derris grown in the field produced dry root weight of only 65.5 g/pt, while derris root cultivated in 16" x 32" (40 x 80 cm) circular cement pot reached 192.1 g/pt. The planting materials in the cement pot were soil mixed with rice husk alone and soil mixed with rice husk in combination with charcoal and soil mixed with

Table 3 Total fresh and dry weights (gram per plant) observed from 6-, 9-, and 12-month derris plants in relation to treatments.

Treatment	6 months		9 months		12 months	
	Fresh	Dry	Fresh	Dry	Fresh	Dry
10"x 20" plastic bag	189.00 ^c	52.05 ^c	317.00 ^b	78.40 ^d	460.00 ^b	123.20 ^c
13"x 26" plastic bag	275.00 ^b	81.70 ^b	388.00 ^b	149.77 ^b	598.00 ^b	286.40 ^{ab}
15"x 15" plastic pot	133.00 ^c	52.52 ^c	359.00 ^b	110.00 ^c	510.00 ^b	204.00 ^{bc}
Field	391.00 ^a	146.05 ^a	505.00 ^a	188.05 ^a	837.00 ^a	339.00 ^a

*Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at LSD 0.05

coconut pericarp powder in the ratio of 1:1. Once more, higher level of biomass of plant root yields including, branches, leaves, root length, number of root per plant, root diameter, and rotenone concentration obtained from derris plants cultivated in 40 x 80 cm cement pot than the plants developed in the field plots, though no significant difference were observed among different types of soil mixtures. Root-harvesting from the 16" x 32" (40 x 80 cm) circular cement pot filled with soil mixtures was much more convenient than harvested from the field plots. The insecticide formulated from water extraction obtained from only four-month derris root grown in cement pot demonstrated satisfactory protection of the flea beetle (*Phyllotreta* sp.). Srijukavan *et al.* (1988) reported that eighteen-month dry weight of derris root grown in the field was 65.00 g/pt which closed to 12-month dry weight root derris developed in the plastic container.

Total fresh weights recorded from 12-month derris plants cultivated in 10"x 20", and 13"x 26" plastic bags, 15"x 15" plastic pot, and grown under field condition were 460.00, 598.00, 510.00, and 837.00 g/pt, respectively (Table 3). Meanwhile,

total dry weights detected from the same treatments were 123.20, 286.40, 204.00, and 339.00 g/pt, respectively. Both total fresh weights and total dry weights were non-significant difference among derris plants cultivated in various sizes of containers; nevertheless, they demonstrated significantly highest levels with the plants cultivated in the field.

Conclusion

Overall, the plant biomass in terms of total fresh and dry weights of each plant (g/pt); the root biomass in terms of root fresh and dry weights (g/pt); and rotenone content in fibrous and branch roots are normally increased with age, hence, the twelve-month derris plants exhibited significantly the highest levels. Types of containers either plastic bags or plastic pots showed no significant effect, although the biggest values of tested variables were recorded in the plant cultivated in the bigger size container (13"x 26"), they demonstrated no-significant difference to certain variables of plants developed in smaller size containers.

Among the twelve-month derris plants, the plant cultivated in the field displayed the highest total dry weight (339.00 g/pt), and rotenone content in both fibrous (3.86%) and branch root (5.00%), although, they exhibited no-significant difference to the same variables obtained from plants grown in 13"x 26" plastic bags. Besides, these treatment also provided the highest root biomass of fresh (145 g/pt) and dry weights (65.53 g/pt), while the significantly lowest levels of root biomass for fresh (76.68 g/pt) and dry weights (34.68 g/pt) were also detected from the field plants. The only significantly different category observed on 12-month field derris plants as compare to the plants grown in the 13"x 26" plastic bags was the total fresh weight (837.00: 598.00 gm/pt). When considering root harvesting advantage, the bigger size, especially 13"x 26" container, provided convenient harvest with less time and labor consuming and with less root damage than collecting from the field derris plants. Hence, the twelve-month derris plant developed in 13"x 26" container is highly recommended for better root biomass and higher rotenone quantity. Recently, the highest derris root yield was observed from the derris plant grown in 16" x 32" (40 x 80 cm) circular cement pot (192.1 g/pt) with 7.7% rotenone content (Tongma *et al.*, 2004). Thus, the appropriate container size and harvesting time for maximizing rotenone content level of the derris root need to be further investigated.

Acknowledgement

The authors would like to express their sincere gratitude to Dr. Sanit Ratanabhumma, Associate Professor in Entomology, for his constructive criticism and invaluable advice in preparation of this manuscript.

References

- EPA, 2002. Controlling pests with rotenone. (Online). Environment Protection Agency. Fact Sheets, Office of Pesticide Programs, U.S.A. Available: http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/facsheets/rotenone_fs.pdf (November 17, 2007)
- Pitiyont, V. and A. Sangwanich. 1997. Extraction, isolation and identification of pesticidal compounds from *D. elliptica*. The Second Conference of Agricultural Toxic Substance Division, Department of Agriculture, Bangkok. pp. 84-92.
- Sangmaneeet, S., K. Kanistanon, P. Papirom, and T. Tessiri. 2005. Uses of Thai medicinal herb (*Derris elliptica* (Roxb.) Benth) in control of fly larva population and its application in the treatment of cutaneous myiasis in animals. KKU. Res. J. 10(1): 22-30.
- Srijukavan, S., A. Kasampasart, P. Kaidisiri and N. Yudjan. 1988. Growth and rotenone content in various age of derris. Kasetsart Sci. J. 21(3): 166 – 175.
- Tongma, S., A. Sottikul, Y. Kaosumain, and N. Tiengburanaturm. 2004. Appropriate cultural practice for derris root production. LARTC. Rajamongala Institute of Technology. Report. 48 p.

อิทธิพลของการเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน ต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของปทุมมา

Influence of Night Break Treatment on Photosynthetic Rate of *Curcuma alismatifolia* Gagnep.

พัชรี สิริตรากุลศักดิ์^{1/} สาวิตร์ มีจ้อย^{2/} และ ไสระยา ร่มรังษี^{1/3/}
Phatchari Siritrakulsak^{1/}, Sawit Meechoui^{2/} and Soraya Ruamrungsri^{1/3/}

Abstract: Effect of night break treatment on photosynthesis of *Curcuma alismatifolia* Gagnep. was carried out. Planting was done on June 8, 2007, with average temperature 25 to 34 °C, relative humidity (RH) 57.73 % and 12 hours of day length. When shoot sprouted about 1 inch, the plants were transferred to two treatments. The first treatment, the plants were grown under natural condition (control). The second treatment, the plants were grown under night break treatment during 08.00 - 10.00 pm for 2 hours using 100 Watts incandescence lamp as light source. The results showed that plants grown in night break treatment were significantly higher in plant height than the control treatment. Number of leaves per plant, number of plants per cluster, number of days to the first floret opening and leaf color were not significantly different between treatments. Night break increased length of flower stalk higher than the control treatment. On the other hand, night break did not significantly affect number of length of spike, coma bracts and green bracts. Photosynthetic rate in both treatments were greatest at 10.00 am at 3rd fully expanded leaf stage. Chlorophyll fluorescence was not significantly different between treatments. Photosynthetically active radiation (PAR) was highest at 2.00 pm. Night break increased photosynthetic rate at 09.00 pm, significantly higher than the control treatment.

Keywords: *Curcuma alismatifolia* Gagnep., night break , photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{2/}สถาบันวิจัย และฝึกอบรมเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนาลำปาง จ. ลำปาง 52000

^{3/}ศูนย์บริการการพัฒนายายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจากพระราชดำริ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

^{2/}Lampang Agricultural Research and Training Center, Rajamangala University of technology Lanna, Lampang , 52000, Thailand

^{3/}H.M. The King's Initiative Centre for Flower and Fruit Propagation, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

บทคัดย่อ: ผลของการเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืนต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของปทุมมา ดำเนินการโดยปลูกปทุมมา เมื่อ 8 มิถุนายน 2550 ในสภาพอุณหภูมิเฉลี่ย 25 - 34 °C ความชื้นสัมพัทธ์ (RH) 57.73 % ความยาววัน 12 ชั่วโมง เมื่อต้นพืชเริ่มออกประมาณ 1 นิ้ว จึงย้ายต้นกล้ามาให้ได้รับกรรมวิธีทดลอง 2 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1) ปลูกพืชโดยให้แสงธรรมชาติ (กรรมวิธีควบคุม) กรรมวิธีที่ 2) การปลูกโดยให้แสงไฟคั่นช่วงกลางคืน (night break) ในช่วงเวลา 20.00 - 22.00 น. นาน 2 ชั่วโมง ด้วยหลอดอินแคนเดสเซนต์ (incandescent) 100 วัตต์ เป็นแหล่งให้แสงไฟ จากการทดลองพบว่า การให้แสงไฟคั่นช่วงกลางคืนมีผลต่อความสูงของต้นปทุมมา ทำให้มีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนจำนวนใบต่อดัน จำนวนต้นตอกอ จำนวนวันที่ดอกจริงดอกแรกบาน และสีใบ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ การให้แสงไฟคั่นช่วงกลางคืน ทำให้ความยาวก้านดอกดีกว่ากรรมวิธีควบคุม แต่ความยาวช่อดอก จำนวนกลีบประดับชมพูและกลีบประดับเขียว ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ส่วนอัตราการสังเคราะห์แสงของปทุมมา พบว่า มีค่าสูงสุดในช่วง 10.00 น. ของระยะการเจริญเติบโตเมื่อใบ 3 ใบคลี่เต็มที่ในทั้งสองกรรมวิธี คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งสองกรรมวิธี ส่วนค่าปริมาณความเข้มแสงบนผิวใบพืช (PAR) มีค่าสูงสุดในช่วง 14.00 น. โดยกรรมวิธีให้แสงไฟคั่นช่วงกลางคืน ช่วยให้มีความยาวก้านดอกดีกว่ากรรมวิธีควบคุม เมื่อเวลา 21.00 น. โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม

คำสำคัญ: ปทุมมา การให้แสงไฟคั่นช่วงกลางคืน อัตราการสังเคราะห์แสง คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์

คำนำ

ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลำต้นสะสมอาหารอยู่ใต้ดินแบบเหง้า และมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศแถบอินโดจีน (Hagiladi et al., 1997a, and 1997b) การเจริญเติบโตของปทุมมาในสภาพธรรมชาตินั้น มีการเจริญทางลำต้น และให้ดอกในช่วงฤดูฝน ประมาณเดือนกรกฎาคมถึงสิงหาคม จากนั้นทั้งใบจนหมดแล้ว พักตัวตลอดช่วงฤดูหนาวประมาณเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม เมื่อถึงฤดูฝนจึงเจริญเติบโตและออกดอกอีกครั้ง (อรรณพ, 2548)

จากการศึกษาการเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน นาน 2 ชั่วโมง ในช่วงเวลา 20.00 - 22.00 น. พบว่า ช่วยเพิ่มความสูง และคุณภาพดอกของปทุมมาที่ปลูกนอกฤดูในช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน (Ruamrungsri et al., 2005) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพืชมีระยะเวลาการสังเคราะห์แสงได้ยาวนานขึ้นอีก 2 ชั่วโมง เช่นเดียวกับ Chang (2000) ศึกษาการปลูกปทุมมาในได้หวัน พบว่า ปทุมมาพักตัวในช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน เมื่อทำการคั่นช่วงกลางคืนตั้งแต่วันที่ 22.00 - 02.00 น.

โดยการให้แสงไฟเพิ่มช่วยเพิ่มความยาวก้านดอก เส้นผ่านศูนย์กลางดอก Stirling et al. (2002) ได้ศึกษาการปลูก myoga (*Zingiber mioga* Roscoe.) ภายใต้สภาพความยาววันแตกต่างกัน 3 แบบ ได้แก่ 1) วันยาว (แสง 16 ชั่วโมง) 2) วันสั้น (แสง 8 ชั่วโมง) และเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน (night break) และ 3) สภาพที่ได้รับวันสั้น (แสง 8 ชั่วโมง) เพียงอย่างเดียว พบว่าต้นที่ปลูกภายใต้สภาพวันยาว (แสง 16 ชั่วโมง) และเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน พืชสามารถสร้างตาออกได้ ส่วนต้นที่ปลูกภายใต้สภาพวันสั้น ไม่มีการสร้างตาออก

การสังเคราะห์แสงของพืช เป็นกระบวนการสรีรวิทยาที่พืชสีเขียวดูดซับพลังงานแสงแล้วเปลี่ยนเป็นพลังงานเคมีสะสมไว้ในรูปสารประกอบคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารประกอบคาร์บอนที่มีพลังงานสูง อาทิเช่น น้ำตาลและแป้ง แล้วนำไปใช้ในกระบวนการสรีระต่าง ๆ ของพืช โดยผ่านกระบวนการหายใจ (นิวัติ, 2535) การสังเคราะห์แสงได้รับอิทธิพลจากปัจจัยหลายประการทั้งปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ ความเข้มแสง อุณหภูมิ และความชื้นในอากาศ เป็นต้น และปัจจัยภายในพืชที่สำคัญ ได้แก่ อายุใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบ เป็นต้น (พูนพิภพ, 2549) สมบุญ (2548) รายงานว่า ใบพืชที่แก่

หรืออ่อนเกินไป มีความสามารถในการสังเคราะห์แสงต่ำ และมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช พืชพิภพ และคณะ (2536) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งใบ และอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบมันสำปะหลัง 3 พันธุ์ พบว่า อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิสูงสุด (P_{max}) ลดลงเมื่อตำแหน่งใบเพิ่มขึ้น โดย P_{max} เฉลี่ยของใบตำแหน่งที่ 8, 10 และ 12 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ ถ้ามีจำนวนใบมากหรือมีพื้นที่ผิวใบมาก มีผลทำให้ปริมาณการสังเคราะห์แสงของพืชมากตามไปด้วย (นิวัติ, 2535)

อย่างไรก็ตาม ถ้าจำนวนใบมากเกินไปจนเหมาะสม เกิดการบังกันของใบภายในต้น ก็จะมีผลทำให้การสังเคราะห์แสงของทรงพุ่มลดลง เช่น ในมังคุด ซึ่งมีทรงพุ่มใหญ่ทำให้เกิดการบังกันของใบภายในต้น ทำให้ใบที่อยู่ในร่มได้รับความเข้มแสงต่ำ และมีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิต่ำกว่าใบในแดดที่ได้รับแสงแดดเต็มที่ (สุนทร และพรณี, 2550) ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มแสงไฟในช่วงกลางวันกับการสังเคราะห์แสงของพืชมีไม่มากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาในปทุมมา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการอธิบายผลทางสรีรวิทยาของการให้แสงไฟในช่วงกลางวันต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดการสภาพแวดล้อม ที่ทำให้เกิดการสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตของปทุมมาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมหัวพันธุ์ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 – 2.0 เซนติเมตร และมีจำนวนตุ่มสะสมอาหาร 4 ตุ่มต่อหัว แช่น้ำนาน 3 วัน เปลี่ยนน้ำทุกวันเพื่อกระตุ้นการงอกของตา แล้วนำมาปลูกในถุงดำขนาด 6 x 12 นิ้ว ใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วยทราย : ถ่าน : แกลบ : เปลือกข้าวสุก : ดิน ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 : 1 โดยปริมาตร รดน้ำทุกวันให้ปุ๋ยสูตร 16-16-16 ในระยะคลีใบ และปุ๋ยสูตร 13-13-21 ในระยะมีดอกและระยะลงหัว (กรมวิชาการเกษตร, 2550) เมื่อยอดแทงออกมาสูงประมาณ 1 นิ้ว จึงคัดเลือกต้นมาใช้ในการทดลอง สำหรับ

การเพิ่มแสงไฟในช่วงกลางวัน โดยใช้หลอดไฟฟ้าแบบอินแคนเดสเซนต์ ขนาด 100 วัตต์ จำนวน 1 หลอดต่อตารางเมตร และใช้ผ้าสีดำคลุมพื้นที่ปลูกในช่วงกลางวัน ตลอดช่วงเวลาที่กำหนดไว้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยให้ได้รับกรรมวิธีทดลองแตกต่างกัน 2 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ 1) ปลูกในสภาพธรรมชาติ (ไม่ได้รับแสงไฟเพิ่มในช่วงกลางวัน) และกรรมวิธีที่ 2) ให้แสงไฟในช่วงกลางวันนาน 2 ชั่วโมง (เวลา 20.00 - 22.00 น.) ตั้งแต่ระยะงอกจนถึงระยะก่อนพักตัว

บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงด้านการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนใบต่อต้น จำนวนต้นต่อกอ คุณภาพดอก วัดอัตราการสังเคราะห์แสง โดยใช้เครื่องมือ Portable automatic leaf photosynthesis measurement (Model LCA4, ADC, Hoddesdon, Herts, England) และวัดประสิทธิภาพการทำงานของคลอโรฟิลล์โดยใช้เครื่องมือ Chlorophyll fluorescence measurement (Exciting Chlorophyll Fluorescence Meter, Handy-PEA Type, Hansatech Model, UK) โดยวัดใบที่ 3 คลี่เต็มที่ ที่เวลา 06.00 08.00 10.00 12.00 14.00 16.00 18.00 และ 21.00 น.

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเจริญเติบโต

ผลของการเพิ่มแสงไฟในช่วงกลางวันต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา ทำให้ความสูงของต้นปทุมมา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ได้รับแสงไฟช่วงกลางวันมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุม (ปลูกสภาพธรรมชาติ) มีค่า 43.96 และ 41.50 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับจำนวนใบต่อต้น จำนวนต้นต่อกอ จำนวนวันที่ดอกจริงดอกแรกบาน และความเขียวของสีใบ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) ให้ผลในทำนองเดียวกันกับงานทดลองของ Chidburee *et al.* (2007) รายงานว่าปทุมมาได้รับสภาพความยาววัน 13 ชั่วโมง มีความสูงมากกว่าได้รับสภาพความยาววัน 7 และ 10 ชั่วโมง นอกจากนี้ Kuehny *et al.* (2006) ได้ศึกษาในพืชสกุลขมิ้น ได้แก่ *Curcuma alismatifolia* พันธุ์ Siam Tulip, *C. petiolata*, *C. thorellii*

พันธุ์ Emperor, *C. cordata* และ *Kaempferia* sp. พันธุ์ Grande นาน 16 และ 20 ชั่วโมง พบว่าทุกชนิดมีความสูงจำนวนใบ จำนวนของหัว มากกว่าการให้แสงนาน 8 และ 12 ชั่วโมง เนื่องจากการเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน ช่วยให้พืชมีระยะเวลาการสังเคราะห์แสงได้ยาวนานขึ้น ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตทั้งด้านความสูงและคุณภาพของดอกดีขึ้น เช่นเดียวกับการเพิ่มแสงไฟให้กับมะเขือเทศช่วยเพิ่มผลผลิตและขนาดผล เนื่องจากการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น ทำให้มีปริมาณแป้ง และน้ำตาลในใบเพิ่มขึ้นด้วย (Gosselin *et al.*, 1996)

คุณภาพดอก

การวัดคุณภาพดอกของปทุมมาหลังจากการเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน ในกรรมวิธีที่ได้รับแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน มีความยาวก้านดอกสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม

เล็กน้อย โดยมีค่าเฉลี่ย 45.67 และ 44.92 เซนติเมตรตามลำดับ อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้พบว่า ความยาวช่อดอก จำนวนกลีบประดับสีชมพู และจำนวนกลีบประดับสีเขียว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1) สอดคล้องกับรายงานของ Ruamrungsri *et al.* (2005) พบว่าในช่วงเดือนสิงหาคมการเพิ่มไฟให้กับปทุมมา ไม่มีผลต่อจำนวนกลีบประดับของปทุมมา เนื่องจากปทุมมาจัดเป็นพืชในกลุ่ม facultative long day plants (Hagiladi *et al.*, 1997b) ซึ่งพืชกลุ่มนี้สภาพวันยาวจะช่วยเพิ่มคุณภาพดอกและส่งเสริมการออกดอก ดังนั้นการปลูกปทุมมาในช่วงนี้ พืชได้รับความยาววันประมาณ 12-13 ชั่วโมง เป็นระยะเวลานานเพียงพอกับความต้องการของพืช ทำให้การเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืนนั้น ไม่มีผลต่อคุณภาพของดอกมากนัก

Table 1 Growth of *C. alismatifolia* affected by night break treatments at flowering.

Treatment	Plants height (cm)	Number of leaves per plant	Number of plants per cluster	Leaf color	Number of days to the first floret opening (days)
Control	41.50b	3.33	3.25	63.33	83.67
Night break	43.96a	3.25	3.08	63.08	81.25
LSD _{0.05}	2.34	NS	NS	NS	NS

Mean within column followed by different letters are significantly different at P<0.05

Ns: not significantly different

Table 2 Flower qualities of *C. alismatifolia* affected by night break treatments.

Treatment	Length of flower stalk (cm)	Length of spike (cm)	Number of coma bracts	Number of green bracts
Control	44.92	16.54	9.92	8.58
Night break	45.67	16.46	10.00	8.50
LSD _{0.05}	NS	NS	NS	NS

Mean within column followed by different letters are significantly different at P<0.05

Ns: not significantly different



Figure 1 Length of spike (A) and length of flower stalk (B) of *C. alismatifolia* by night break treatment compared with control (no night break).

อัตราการสังเคราะห์แสง และประสิทธิภาพการทำงานของคลอโรฟิลล์

อัตราการสังเคราะห์แสงของใบพืช เป็นการวัดการสังเคราะห์แสงต่อหน่วยเวลาโดยคำนวณจากการดูดใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และการปลดปล่อยก๊าซออกซิเจน และการสร้างอาหารของพืช สำหรับค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (Fv/Fm) เป็นค่าที่แสดงประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสง โดยการวัดการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชที่เกิดจากความเครียดเนื่องจากสภาพแวดล้อม (Krause and Weis, 1991) ในการทดลองนี้วัดการสังเคราะห์แสงในช่วงระยะการเจริญเติบโตเมื่อพืชมีใบ 3 ใบคลี่เต็มที่ ตั้งแต่เวลา 6.00 - 21.00 น. จากการทดลอง พบว่าอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบปทุมมา (Pn) และค่าปริมาณความเข้มแสงบนผิวใบพืช (PAR) ทั้งกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ได้รับแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน (night break) มีค่าสูงที่สุดในช่วงเวลา 10.00 น. โดยอัตราการสังเคราะห์แสงสูงสุดมีค่า 6.58 และ 7.54 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ตามลำดับ (ภาพที่ 2)

เช่นเดียวกับอัตราการสังเคราะห์แสงของลำไยซึ่งสูงในช่วงเช้าประมาณ 10.00 น. และหลังจากนั้นอัตราการสังเคราะห์แสงจะลดลงเรื่อย ๆ บางครั้งอาจมีค่าติดลบ (ดารณี และตระกูล, 2545) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในการวัดอัตราการสังเคราะห์แสงที่ได้ วัดจากการลดลงของปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ใน chamber ของเครื่องอันเนื่องมาจากถูกใบนำไปใช้ในการสังเคราะห์แสงต่อหน่วยเวลานั้นเปลี่ยนแปลงไป เมื่ออุณหภูมิในช่วงกลางวันและช่วงบ่ายสูงขึ้น ทำให้อัตราการหายใจของใบสูงขึ้นและปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์จำนวนมากออกมาสู่ chamber เมื่อปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ใน chamber ยังคงสูงขึ้นเรื่อย ๆ จึงทำให้ค่าอัตราการสังเคราะห์แสงที่วัดได้จากเครื่องเป็นลบ แม้จะยังมีการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นก็ตาม นอกจากนี้ยังพบว่าในช่วงเวลากลางคืนเมื่อพืชได้รับแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน มีอัตราการสังเคราะห์แสงและค่าปริมาณความเข้มแสงบนผิวใบมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม มีค่าเฉลี่ย 1.59 และ 12.25 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 2 และ ภาพที่ 3)

สำหรับค่าความเข้มแสงบนผิวใบปทุมมาในรอบวันมีแนวโน้มสูงเพิ่มขึ้นมากที่สุดในกรรมวิธีควบคุม เมื่อเวลา 14.00 น. มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีที่ได้รับแสงไฟคั่นช่วงกลางวันอย่างมีนัยสำคัญ มีค่าเฉลี่ย 1701 และ 1309.6 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ตามลำดับ (ภาพที่ 3) โดยทั่วไปอัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้น ถ้ามีความเข้มของแสงมาก โดยอุณหภูมิกับความเข้มของแสงมีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงร่วมกัน ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นเพียงอย่างเดียว แต่ความเข้มของแสงน้อยจะไม่ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้น ซึ่งอัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงระดับหนึ่งแล้วอัตราการสังเคราะห์แสงจะลดต่ำลงตามอุณหภูมิและความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงพบว่าในช่วงเวลาตั้งแต่ 12.00-14.00 น. ปทุมมามีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลง เนื่องจากความเข้มแสงที่เพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 3) นอกจากนี้การที่พืชได้รับแสงที่มีความเข้มแสงมาก ๆ เป็นระยะเวลานานเกินไป รวมทั้งอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นในช่วงบ่ายทำให้พืชเกิดการปิดของปากใบเพื่อลดการคายน้ำ ซึ่งมีผลต่อการแพร่ของก๊าซออกซิเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านปากใบ ทำให้พืชสังเคราะห์แสงได้น้อยลงเพราะขาดคาร์บอนไดออกไซด์ (สมบุญ, 2548) สอดคล้องกับ Inamullah and Isoda (2005) ซึ่งรายงานว่าอัตราการสังเคราะห์แสงของฝ้ายลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำ โดยเฉพาะในช่วงบ่ายเนื่องจากอุณหภูมิที่ผิวใบเพิ่มสูงขึ้นทำให้เกิดการปิดของปากใบ

การศึกษาค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ เป็นการวัดอัตราส่วนของ F_v/F_m ซึ่งแสดงถึงความสามารถของ photosystem II (PSII) ในการรับพลังงานจากรังสีดวงอาทิตย์และการถ่ายทอดพลังงานไปสู่ photosystem I (PSI) ซึ่งอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมีผลต่อค่า F_v และ F_m ในพืช โดยค่า F_v มีค่าต่ำเมื่ออยู่ในสภาวะเครียด เช่น ความร้อน ส่วนค่า F_m ลดลงเมื่อความเข้มแสงสูง แต่ไม่เปลี่ยนแปลงโดยอุณหภูมิ ซึ่งอัตราส่วนระหว่าง F_v/F_m มีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการใช้แสง (Krause and Weis, 1991) จากผลการทดลอง พบว่าค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (F_v/F_m) ของใบปทุมมาในกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ได้รับแสงไฟคั่นช่วงกลางวัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 0.77 - 0.78 และ 0.76 - 0.77 F_v/F_m ตามลำดับ (ภาพที่ 4) ซึ่งค่า F_v/F_m ของใบปทุมมามีค่าสูงตลอดการทดลอง แสดงว่าพืชมีประสิทธิภาพในการใช้แสงสูงด้วย

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า กรรมวิธีที่ให้แสงไฟคั่นช่วงกลางวัน (กรรมวิธีที่ 2) สามารถเพิ่มการสังเคราะห์แสงให้กับพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ความสูงของต้นในกรรมวิธีนี้สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาต่อไปถึงผลของการให้แสงไฟคั่นช่วงกลางวัน หรือสภาพความยาววันต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาอื่น ๆ ของปทุมมา เช่น สอริโมนพืช และสารอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไป

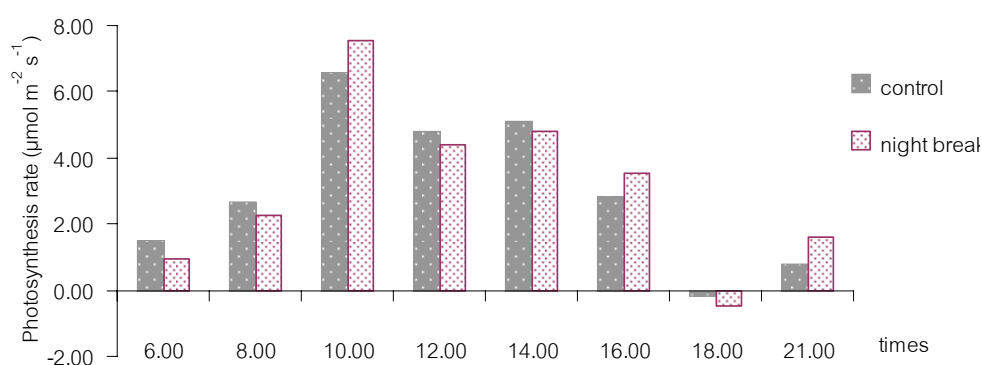


Figure 2 Photosynthetic rate of the 3rd fully expanded leaf stage effected by night break treatment.

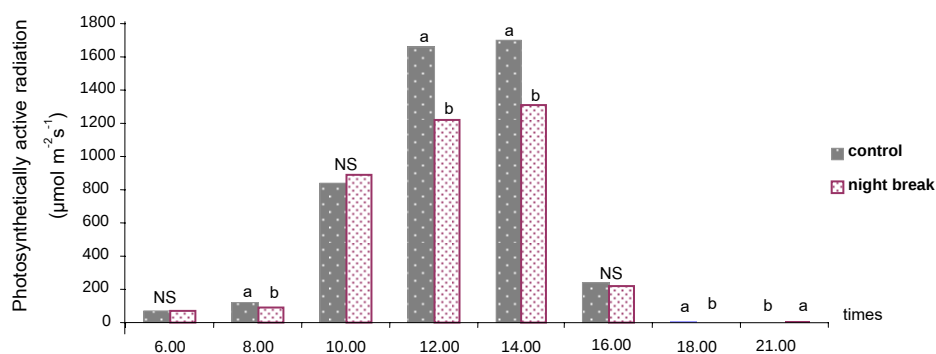


Figure 3 Photosynthetically active radiation of the 3rd fully expanded leaf stage effected by night break treatment.

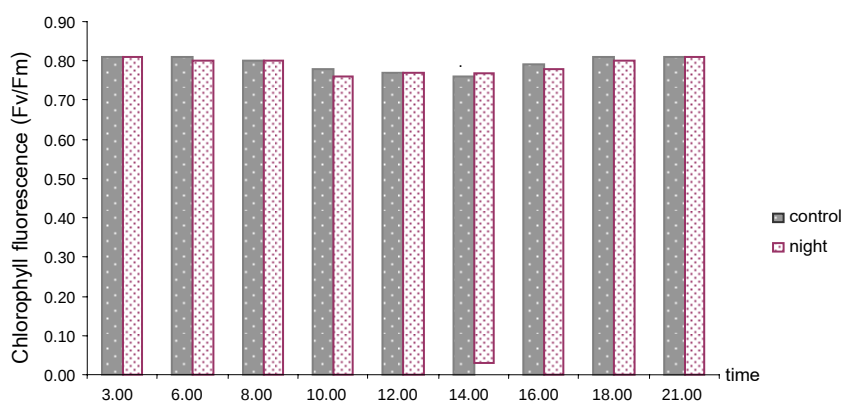


Figure 4 Chlorophyll fluorescence of the 3rd fully expanded leaf stage effected by night break treatment.

สรุป

ปทุมมามีอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิในรอบวันสูงที่สุดในช่วงเวลา 10.00 น. มีค่าเท่ากับ 7.54 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ดังนั้นช่วงเวลา 10.00 น. จึงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการวัดค่าอัตราการสังเคราะห์แสงของปทุมมา นอกจากนี้การเพิ่มแสงไฟคั่นช่วงกลางคืน ทำให้

ความสูง และความยาวก้านดอกของปทุมมาเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อความยาวช่อดอก จำนวนใบต่อดัน จำนวนต้นตอกอ จำนวนวันที่ดอกจริงดอกแรกบาน และความเขียวของสีใบ และการให้แสงไฟคั่นช่วงกลางคืน ช่วยเพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงให้กับปทุมมาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการพัฒนาอาจารย์สาขาขาดแคลน มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์บริการการพัฒนขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับบ้านไร่ อันเนื่องมาจากพระราชดำริที่ให้การสนับสนุนวัสดุการทดลองบางส่วน

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2550. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับการผลิตปทุมมา Good Agricultural Practice (GAP) For Curcuma. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.doa.go.th/gap/gap_Curcuma.html (10 มิถุนายน 2552).
- ดารณี เกียรติสกุล และตระกูล ต้นสุวรรณ. 2545. ผลของโปแตสเซียมคลอไรด์ต่ออัตราการสังเคราะห์แสง ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไนโตรเจนในลำไย. วารสารเกษตร 18(3):180-189.
- นิวัติ เรืองพานิช. 2535. วิทยาศาสตร์ทุ่งหญ้า. คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 260 หน้า.
- พูนพิภพ เกษมทรัพย์. 2549. ชีววิทยา 2 : สมดุลของน้ำในพืช ธาตุอาหารพืช การสังเคราะห์ด้วยแสง นิเวศชีววิทยาของการสังเคราะห์แสง การหายใจและเมแทบอลิซึมของไขมัน การเคลื่อนย้ายสารอาหารในพืช การเจริญเติบโตของพืช การเคลื่อนไหวของพืชและชีววิทยา การตอบสนองต่อปัจจัยภายนอก ออกซินควบคุมการเจริญเติบโตและพัฒนา ไซโตไคนินควบคุมการแบ่งเซลล์ จิบเบอเรลลินควบคุมความสูงของพืช เอทิลีนฮอร์โมนที่เป็นแก๊ส Abscissic acid ชีววิทยาของการควบคุมการออกดอก ชีววิทยาการตอบสนองต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม. มุลนิธิ สอวน., กรุงเทพฯ. 440 หน้า.

- พูนพิภพ เกษมทรัพย์ เจษฎาภัทรเลอพงษ์ เจริญศักดิ์ ไรจฤทธิพิเชษฐ์ และเพ็ญ สายขุนทด. 2536. รายงานเรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งใบและอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิของใบมันสำปะหลัง 3 พันธุ์. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 105-113 หน้า.
- สุนทรี ยิ่งชัชวาล และพรณี ชื่นนกร. 2550. ข้อมูลพื้นฐานทางสรีรวิทยาของมังคุดของพันธุ์. ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน. 60 หน้า.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 252 หน้า.
- อภิชาติ ชิดบุรี ฉันทนา สุวรรณธาดา วิวัฒน์ บัณฑิตย์ ทากุจิ โอยามา และโศระยา ร่วมรังษี. 2550. ผลของความยาววันต่อการเติบโต การสังเคราะห์แสง และการสะสมอาหารในปทุมมา. วารสารเกษตร 23(2) : 105 - 113.
- อรรธรณ วิชัยลักษณ์. 2548. ปทุมมา. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 136 หน้า.
- Chang, C. S. 2000. Dormancy in curcuma (*Curcuma alismatifolia*). [Online]. Available: <http://www.tndais.gov.tw/RBulletin/paper34.3.html>. May 20, 2009).
- Chidburee, A., W. Bundittaya, C. Suwanthada, N. Ohtake, K. Sueyoshi, T. Ohyama and S. Ruamrungsri. 2007. Effects of red light on growth, photosynthesis and food reserves in *curcuma alismatifolia* Gagnep. Thai Journal of Agricultural Science 40(1-2) : 57 - 63.
- Gosselin, A., H. L. Xu and M. Dafiri. 1996. Effects of supplemental lighting and fruit thinning on fruit yield and source- sink relations of greenhouse tomato plants. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 65 (3) : 595-601.

- Hagiladi, A., N. Umiel, X. H. Yang and Z. Gilad. 1997a. *Curcuma alismatifolia*. I. Plant morphology and effect of tuberous root number on flowering date and yield of inflorescences. *Acta Horticulturae* 747 - 753.
- Hagiladi, A., N. Umiel and X.H. Yang. 1997b. *Curcuma alismatifolia*. II. Effects of temperature and day length on the development of flower propagules. *Acta Horticulturae* 430: 755-761.
- Inamullah, A. and A. Isoda. 2005. Adaptive changes in soybean and cotton to water stress I. Transpiration changes in relation to stomatal area and stomatal conductance. *Plant Production Science* 8 : 16-26.
- Krause, G.H. and E. Weis. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* 42 : 313 - 349.
- Kuehny, J. S., M. Sarmiento, M. P. Paz, and P.C. Branch. 2006. Effect of light intensity, photoperiod and plant growth retardants on production of Zingiberaceae as pot plants. *Acta Horticulturae International Symposium on New Floricultural Crops*. [Online]. Available: http://www.actahort.org/books/683/683_14.htm.7 (August 22, 2007).
- Ruamrungsri, S., J. Uthai-butra, O. Wichailux, N. Ohtake, K. Sueyoshi and T. Ohyama. 2005. Effect of night break treatments on off-season flowering of *Curcuma alismatifolia* Gagnep. pp. 37 - 38. *In: The 1st International Symposium on Food Production and Environmental Conservation in East Asia*. Niigata University, Niigata. Japan.
- Stirling, K. J., R. J. Clark, P. H. Brown and S. J. Wilson. 2002. Effect of photoperiod on flower bud initiation and development in myoga (*Zingiber mioga* Roacoe). *Scientia Horticulturae* 95(3) : 261-268.
-

การรวบรวมและจำแนกสายพันธุ์เห็ดหอมที่เพาะเป็นการค้า ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี

Collection and Classification of Commercial Strain of Shiitake Mushroom by Molecular Marker; RAPD

เรือนแก้ว ประพฤติ^{1/} และ ปรีชา รัตน์^{2/}
Rueankaew Praphruet^{1/} and Pricha Rattanang^{2/}

Abstract: Forty-three commercial strains of shiitake mushroom, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. collected from northern area in Chiang Mai, Chiang Rai, Lampang and Lamphun, were evaluated the genetic diversity and strain identification by random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. Genomic DNA was extracted from fresh mushroom and RAPD analysis was performed using 27 decamer primers. 21 out of 27 primers produced 99 polymorphic bands. A total of 178 amplification products were scored of which 55.62% were polymorphic. Ten primers gave identical polymorphic band in a particular strain which could be used to distinguish that strain from the others. The identical bands were observed in four strains 'Royal project', 'Mit', 'Wilai' and 'Anuchit'. The genetic similarity index of these strains ranged from 0.311 to 0.963. A dendrogram generated by Unweighted Pair Group Method (UPGMA) analysis showed that the commercial strain of shiitake clustered into 6 groups. Molecular genetic markers obtained with the RAPD technique can be used to differentiate commercial strains of *L. edodes*.

Keywords: Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*), DNA fingerprinting, RAPD technique

^{1/}ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพและสถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์

^{2/}ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

^{1/}Biotechnology Center and Institute of Product Quality and Standardization

^{2/}Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

บทคัดย่อ: เห็ดหอมสายพันธุ์ที่เพาะเป็นการค้าจำนวน 43 ตัวอย่าง ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปางและลำพูน ได้นำมาศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์และจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี โดยการนำตัวอย่างดอกเห็ดสดมาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์แบบสุ่มขนาด 10 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 27 ไพรเมอร์ พบว่ามี 21 ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 178 เป็นแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 99 แถบ คิดเป็น 55.62 เปอร์เซ็นต์ มี 10 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่พบเฉพาะในบางสายพันธุ์เท่านั้น สามารถนำไปใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการแยกชนิดของสายพันธุ์เห็ดหอม 4 สายพันธุ์ออกจากตัวอย่างอื่นได้อย่างชัดเจน ได้แก่ สายพันธุ์ของโครงการหลวงหมอกจ๋าม สายพันธุ์ของผู้ใหญ่มิตร สายพันธุ์ของคุณวิไลวรรณและสายพันธุ์จากคุณอนุชิต การวิเคราะห์ค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0.311 – 0.963 เมื่อสร้างเป็นแผนภูมิแสดงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA สามารถแยกสายพันธุ์เห็ดหอมได้เป็น 6 กลุ่ม

คำสำคัญ: เห็ดหอม สายพันธุ์ดีเอ็นเอ เทคนิคอาร์เอฟดี

คำนำ

เห็ดหอม (*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.) เป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สำคัญ มีการเพาะเชิงพาณิชย์มากในภาคเหนือโดยเฉพาะในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แม่ฮ่องสอน เพราะมีสภาพอากาศค่อนข้างเย็น เหมาะต่อการเจริญของเห็ดชนิดนี้ ปัจจุบันปริมาณผลผลิตภายในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดต้องนำเข้าจากต่างประเทศเช่น จีน เกาหลี และญี่ปุ่น ทั้งในรูปดอกเห็ดสดและแห้งนับเป็นมูลค่าหลายสิบล้านบาท เห็ดหอมแบ่งออกเป็น 5 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ฮานาคอนโก พันธุ์ดอนโก พันธุ์โคตชูบุตองโก พันธุ์โกโก และพันธุ์โกชิน (ปัญญา และ ศิริพงษ์, 2537) พันธุ์โกชินยังแบ่งเป็นสายพันธุ์ย่อยตามคุณภาพดอกเห็ดอีก 2 สายพันธุ์คือ ใจโกชิน และ นามิโกชิน เกณฑ์ที่ใช้แยกสายพันธุ์ในปัจจุบันคือลักษณะหมวกเห็ด ขนาด รูปทรง และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การใช้ฐานฐานวิทยาแยกชนิดสายพันธุ์ทำให้การระบุสายพันธุ์เกิดความคลาดเคลื่อนได้ง่าย และอาจได้รับอิทธิพลจากปัจจัยของสภาพแวดล้อมเช่น แหล่งอาหาร อุณหภูมิ ความชื้นและแสง ฯลฯ มีการนำเทคนิคทางชีวเคมีเช่น รูปแบบของไอโซไซม์ (Ohmasa and Furukawa, 1986; Royse et al., 1983) และเทคนิคทางเครื่องหมายดีเอ็นเอ เช่น RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Vos et

al., 1995; Terashima and Matsumoto, 2004) และ RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Chiu et al., 1996; Kwan et al., 1992; Zhang and Molina, 1995) มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาด้านอนุกรมวิธานของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด การนำเทคนิคทางเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้ร่วมกับฐานฐานวิทยาจะทำให้การจำแนกสายพันธุ์มีความถูกต้องชัดเจนมากกว่าการใช้ลักษณะทางฐานฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว จากการศึกษาของ Ito et al. (1998) พบการใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มสามารถแยกเชื้อรา *Coprinus cinereus* จำนวน 5 strains ที่เก็บรวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ ออกจากกันได้ Ramirez et al. (2001) รายงานการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเออาร์เอฟดีในการศึกษาความสัมพันธ์เหมือนและต่างกันของสายพันธุ์เห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) พบว่ามีความเหมือนกันทางพันธุกรรมอยู่ในระดับค่อนข้างสูง งานวิจัยเกี่ยวกับการจำแนกสายพันธุ์เห็ดหอมยังมีรายงานไว้ไม่มากนัก งานวิจัยนี้จึงต้องการนำเทคนิคอาร์เอฟดีมาใช้เพื่อจำแนกสายพันธุ์และหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเห็ดหอม

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างเห็ด

ตัวอย่างดอกเห็ดหอมสดจากฟาร์มในพื้นที่จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง จำนวน 43 ตัวอย่าง

การสกัดดีเอ็นเอ

บดดอกเห็ดสดด้วยโกร่งไนไนโตรเจนเหลว นำผงบดละเอียดของดอกเห็ดประมาณ 100 มิลลิกรัม ทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB method ตามวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle (1987) ซึ่งมีขั้นตอนโดยสังเขปดังนี้

เติมสารละลาย 2X CTAB extraction buffer 700 ไมโครลิตร ลงไปในผงดอกเห็ดที่บดละเอียดแล้วในหลอดเขย่าเพื่อให้สารละลายผสมกันด้วยเครื่อง vortex mixer บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นสกัดด้วย phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25:24:1) ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดเก็บสารละลายส่วนใส จากนั้นสกัดด้วย chloroform : isoamyl alcohol (24:1) อีก 2 ครั้ง ดูดเก็บสารละลายส่วนใสมาตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย absolute ethanol ปริมาตร 2 เท่า และ 7.5M ammonium acetate ปริมาตร 0.3 เท่า ของปริมาตรสารละลายที่ดูดเก็บได้ บ่มที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ปั่นที่ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนของเหลวทิ้ง ปั่นล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปั่นที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 3 ครั้ง ผึ่งตะกอนดีเอ็นเอที่ก้นหลอดให้แห้ง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA) pH 8.0 เติมเอนไซม์ RNase 2 ไมโครลิตร และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ

นำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้มาเจือจางโดยเตรียม dilution 1 : 50 จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์

นำสารละลายดีเอ็นเอมาเจือจางให้มี ความเข้มข้น 40 นาโนกรัม/ไมโครลิตร (ng/μl) จากนั้นนำมาเพิ่ม ปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์แบบคู่ ความเข้มข้นของสารเคมีแต่ละชนิดมีดังนี้ 1X PCR buffer

(Invitrogen), 1.9 mM Mg₂Cl (Invitrogen), 1 mM dNTPs (Promega), 10 pmole RAPD primer (Bio basic Inc.), 1 unit Taq DNA polymerase (Invitrogen), 120 ng DNA template ปรับให้มีปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ด้วย deionized sterile water หยดน้ำมันแร่ลงในหลอดพีซีอาร์ 1 หยด จากนั้นนำหลอดไปใส่ในเครื่องเพิ่มปริมาณสาร พันธุกรรม (MJ Research รุ่น PCT-200 Peltier Thermal Cycler) โดยตั้งโปรแกรมการทำงานดังนี้ pre-denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 45 วินาที, annealing ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 1 นาที extension ที่ 72 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 2 นาที จำนวน 35 รอบ และ post-extension ที่ 72 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 10 นาที จำนวน 1 รอบ

การตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

นำสารละลายดีเอ็นเอที่ถูกเพิ่มปริมาณมาแยก แถบดีเอ็นเอด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis ใช้ agarose ความเข้มข้น 1.5% ในสารละลายบัฟเฟอร์ 0.5x TBE ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ใช้เวลา 90 นาที จากนั้นย้อมแถบดีเอ็นเอในสารละลายเอทیدیئمโบรไมด์ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร บันทึกภาพแถบดี เอ็นเอได้แสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่อง gel documentation

การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลจากแถบดีเอ็นเอ

บันทึกผลด้วยการให้คะแนนการเกิดแถบดีเอ็น เอของแต่ละสายพันธุ์ โดยเปรียบเทียบจากความเหมือน และความแตกต่างของรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น โดยสายพันธุ์ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ จะให้ คะแนนเป็น 1 ส่วนสายพันธุ์ที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ ตำแหน่งเดียวกันให้คะแนนเป็น 0 นำข้อมูลการให้คะแนน มาวิเคราะห์หาค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมด้วยวิธี Jaccard coefficient และแสดงในรูปแผนภูมิด้วยวิธี Unweighted Pair Group Method (UPGMA) วิเคราะห์ ผลข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) เวอร์ชัน 2.0 (Rohlf, 1998)

ผลการทดลอง	
การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี	ขนาดขึ้นดีเอ็นเอมีขนาดตั้งแต่ 2690 คู่เบสถึง 318 คู่เบส
จากการใช้ไพรเมอร์จำนวน 27 ไพรเมอร์ในการ	จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมด 178 แถบ โดยมีแถบ
เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอให้ดห้อมจำนวน 43 ตัวอย่าง พบว่ามี	ดีเอ็นเอที่แตกต่างจำนวน 99 แถบคิดเป็น 55.62%
21ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (polymorphism)	ค่าเฉลี่ยของการเกิดแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างเท่ากับ 4.95
	แถบต่อ 1 ไพรเมอร์ (ตารางที่ 1)

Table 1 Primers name, amplified fragments, total of amplified bands, number of polymorphic bands and percentage of polymorphic bands.

Primers name	Sequence (5' --->3')	Amplified fragments (bp)	Total of amplified bands	Number of polymorphism bands	Percentage of polymorphism bands
R3	AATCGGGCTG	2482-358	11	6	54.54
R2	AGTCAGCCAC	2690 - 396	9	4	44.44
R5	GCGATCCCCA	1650 - 519	8	3	37.50
S21	CAGGCCCTTC	1584 - 531	7	5	71.43
S22	TGCCGAGCTG	1348 - 370	8	4	50.00
S82	GGCACTGAGG	2477 - 727	9	3	33.33
S83	GAGCCCTCCA	2122 - 403	9	7	77.78
S84	AGCGTGTCTG	1620 - 539	8	6	75.00
S85	CTGAGACGGA	1490 - 471	7	4	57.15
S86	GTGCCTAACC	1000 - 700	5	3	60.00
S87	GAACCTGCGG	2194 - 318	5	4	80.00
S89	CTGACGTCAC	1718 - 577	6	4	66.67
S90	AGGGCCGTCT	1271 - 386	10	4	40.00
S91	TGCCCCGTCT	1790 - 822	9	4	44.44
S92	CAGCTCACGA	1032 - 403	6	2	33.33
S93	CTCTCCGCCA	1650 - 525	5	2	40.00
S94	GGATGAGACC	2179 - 684	8	4	50.00
S96	AGCGTCCTCC	1727 - 481	10	7	70.00
S97	ACGACCGACA	2658 - 714	8	6	75.00
S98	GGCTCATGTG	1695 - 703	10	7	70.00
S99	GTCAGGGCAA	805 - 452	5	3	60.00

ไพรเมอร์ 10 ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่พบเฉพาะในบางตัวอย่างเท่านั้นได้แก่ ไพรเมอร์ R3 และ S3 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 358 และ 403 คู่เบส ในตัวอย่างจากโครงการหลวงหมอกจ๋าม (Royal Project) เท่านั้น (ภาพที่ 1) ไพรเมอร์ S2, S12 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 727 และ 613 คู่เบส ที่พบเฉพาะในตัวอย่างของผู้ใหญ่มิตร (Mit) เท่านั้น (ภาพที่ 2) ไพรเมอร์ S4 และ S5 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 957 และ 598 คู่เบส พบเฉพาะในตัวอย่างของคุณวิไลวรรณ (Wilai) เท่านั้น (ภาพที่ 2) ไพรเมอร์ R5, S17, S5, S11, S12 และ S14 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 783, 2182, 724, 1112, 738 และ 993 คู่เบส ตามลำดับ ที่พบเฉพาะในตัวอย่างจากคุณอนุชิต (Anuchit-1 และ Anuchit-2) เท่านั้น (ภาพที่ 3)

ส่วนสายพันธุ์ที่เหลืออีก 39 สายพันธุ์จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 27 ไพรเมอร์ ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่แสดงเอกลักษณ์

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากผลของอาร์เอพีดี

ผลจากการจัดจำแนกตัวอย่างเห็ดหอมจำนวน 29 ตัวอย่าง โดยการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS version 2.01 พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมตั้งแต่ 0.311 – 0.963 จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธี UPGMA และแสดงเป็น dendrogram สามารถแบ่งเห็ดหอมทั้ง 29 ตัวอย่างได้เป็น 6 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 มีจำนวน 11 ตัวอย่าง ได้แก่ RAT-5, Jumput, Mit, LungAir-2, Kruban, Bouloung, Bouloung2, Prakorn-1, Prakorn-Golden, Malai และ LungAir-1 กลุ่มที่ 2 มีจำนวน 6 ตัวอย่าง ได้แก่ Prakorn-2, Vichan-9, Top-15, Tanom-17, Winai และ Prakorn-26 กลุ่มที่ 3 มีจำนวน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ Dept.Agi, RAT-6, Hongkria และ Wilai กลุ่มที่ 4 มีจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ AG-7, AG-8, Vichan-10, Top-16 และ Jack-11 กลุ่มที่ 5 มีจำนวน 2 ตัวอย่าง ได้แก่ Anuchit-1 และ Anuchit-2 และ กลุ่มที่ 6 มีจำนวน 1 ตัวอย่าง ได้แก่ Royal.Pro (ภาพที่ 4)

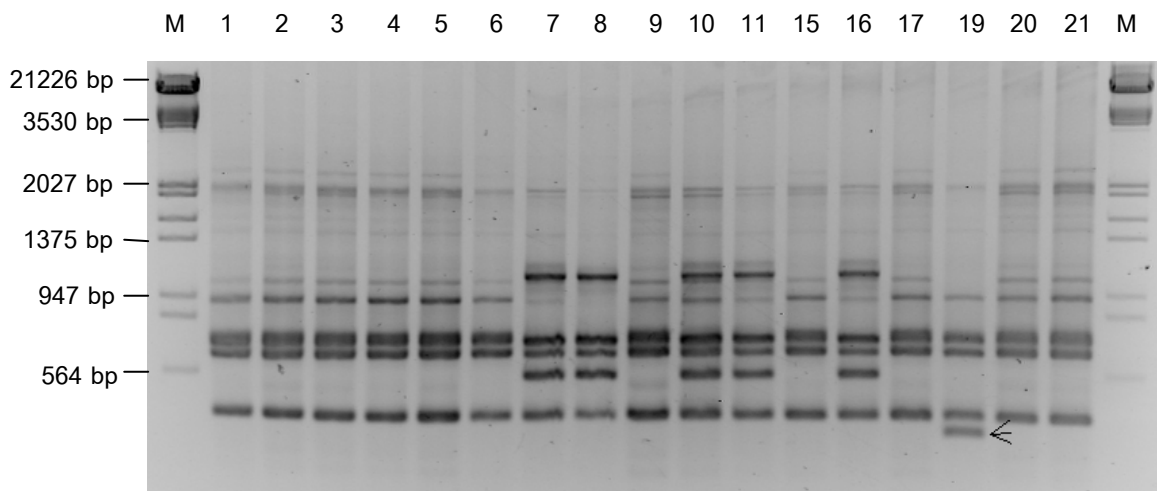


Figure 1 RAPD fingerprints of *Lentinus edodes* obtained from primer R3, M = molecular marker Lambda DNA/EcoRI+HindIII, lane 1-21 = *L. edodes* strains, arrow indicated fragment size 358 bp.

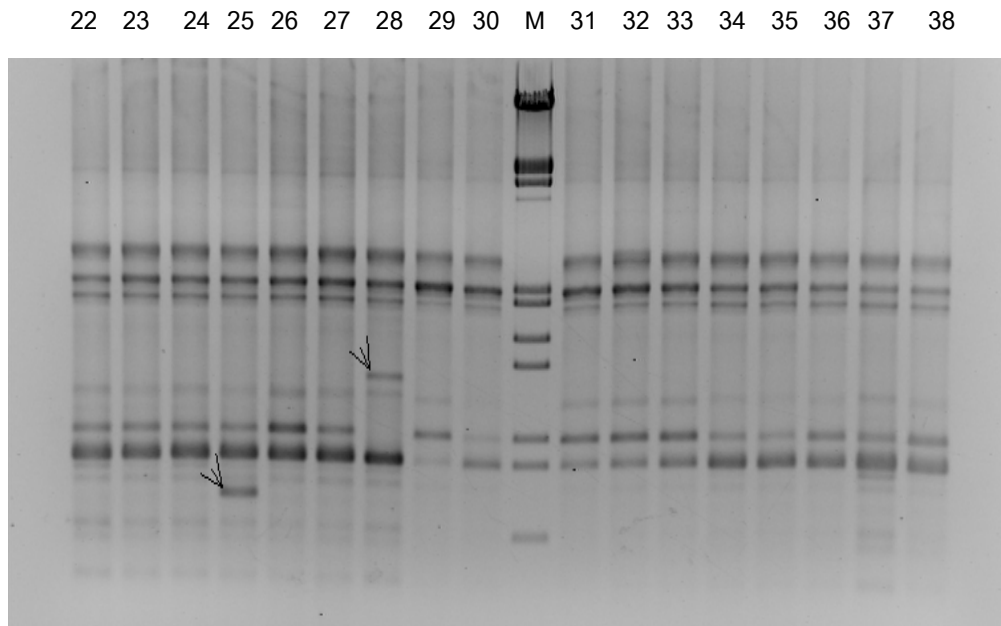


Figure 2 RAPD fingerprints of *Lentinus edodes* obtained from primer S82, M = molecular marker Lambda DNA/EcoRI+HindIII , lane 22-38 = *L. edodes* strains, arrow indicated fragments size 727 and 1296 bp.

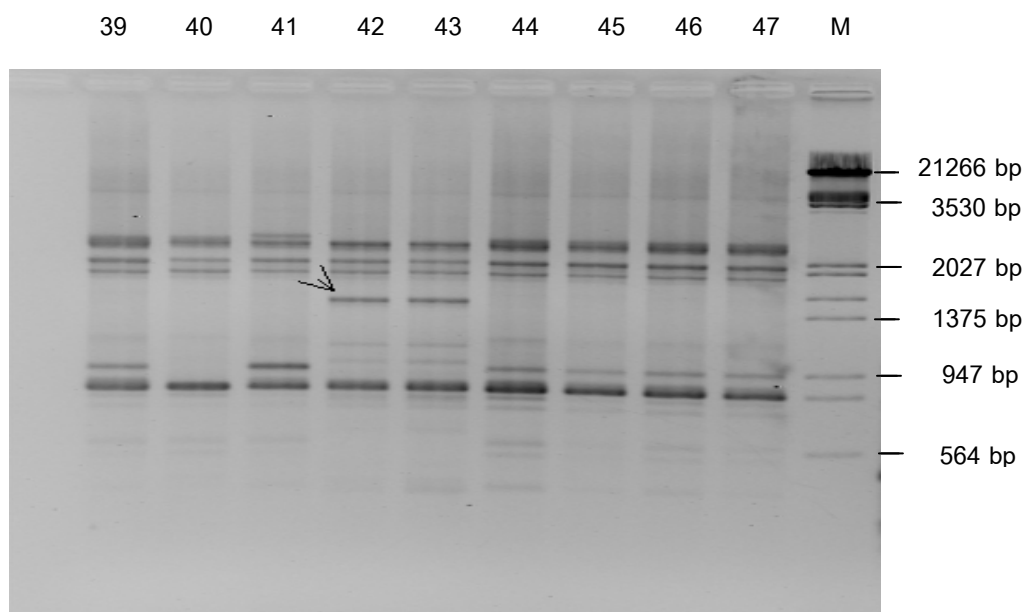


Figure 3 RAPD fingerprints of *Lentinus edodes* obtained from primer S82, M = molecular marker Lambda DNA/EcoRI+HindIII , lane 39-47 = *L. edodes* strains, arrow indicated fragment size 1584 bp.

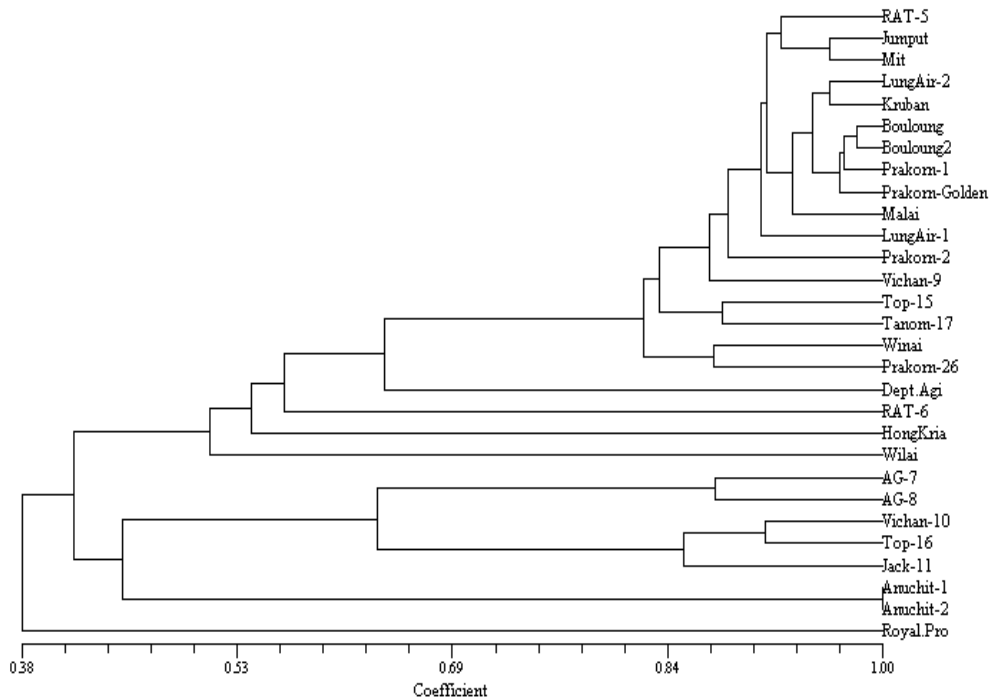


Figure 4 Dendrogram of genetic similarity between the commercial strains of *Lentinus edodes* generated by UPGMA analysis.

วิจารณ์

จากการใช้ไพรเมอร์จำนวน 27 ไพรเมอร์ เพื่อคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอระบุเอกลักษณ์ของสายพันธุ์ พบว่ามี 4 สายพันธุ์ที่ไพรเมอร์จำนวน 10 ไพรเมอร์ สามารถระบุสายพันธุ์เห็ดหอมได้ ได้แก่ สายพันธุ์จากโครงการหลวงหมอกจ๋าม (Royal Project) ซึ่งเก็บตัวอย่างจากโครงการหลวงหมอกจ๋าม อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย เทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมเพียง 38 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น สายพันธุ์นี้ได้จากการคัดแยกจากดอกเห็ดในป่าธรรมชาติ ทำให้สายพันธุ์นี้มีฐานพันธุกรรมต่างจากสายพันธุ์อื่นๆ ค่อนข้างมาก สายพันธุ์ที่ 2 คือสายพันธุ์ของผู้ใหญ่มิตร (Mit) เก็บตัวอย่างจาก ผู้ใหญ่มิตรพุทธเมืองขึ้น อำเภอแม่ทะ จังหวัดลำปาง พิจารณาจากค่าความเหมือนทางพันธุกรรม

เปรียบเทียบกับตัวอย่าง Jumput, LungAir-1, LungAir-2, Malai, Kruban, Bouloung และ Bouloung-2 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งเดียวกัน พบว่า ค่าดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมสูงมากคืออยู่ระหว่าง 0.907-0.962 แต่พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างหรือไม่พบแถบดีเอ็นเอในสายพันธุ์ที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 จากการสอบถามที่มาของสายพันธุ์ทราบว่าได้มาจากบ้านนาคด ในขณะที่สายพันธุ์อื่นส่วนใหญ่ได้สายพันธุ์มาจากบ้านปางมะโอ จากผลการศึกษาในเบื้องต้นคาดว่าเห็ดหอมที่เพาะในอำเภอแม่ทะน่าจะมีสายพันธุ์หลักอยู่ 2 สายพันธุ์คือสายพันธุ์จากบ้านปางมะโอและบ้านนาคด สายพันธุ์ของคุณวิไลวรรณ (Wilai) เก็บตัวอย่างจาก คุณวิไลวรรณ แปงใจ อำเภอแม่ทะ จังหวัดลำปาง ได้สายพันธุ์มาจากสวนเห็ดนงนุช จังหวัดลำพูน ถ้าพิจารณาจากการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแล้วจะเห็นว่าไม่สอดคล้องกับแหล่งที่เก็บ

ตัวอย่าง สายพันธุ์ที่เก็บจากอำเภอแม่ทะทุกตัวอย่าง ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 ยกเว้นสายพันธุ์วิไลวรรณ ทั้งนี้เพราะสายพันธุ์ดั้งเดิมนั้นได้มาจากจังหวัดลำพูน ซึ่งพันธุกรรมย่อมแตกต่างจากสายพันธุ์จากบ้านปางมะโอและบ้านนาคด สายพันธุ์ อนุชิต-1 (Anuchit-1) และ อนุชิต-2 (Anuchit-2) ลักษณะแถบตีเอ็นเอที่แตกต่างออกจากตัวอย่างอื่น ๆ ค่อนข้างชัดเจน ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมประมาณ 0.45 (45%) ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ดอกมีขนาดใหญ่กว่าสายพันธุ์ท้องถิ่น ดอกมีลักษณะรอยแตกเป็นร่องลึกเห็นได้อย่างชัดเจน ผิวห่มวกเห็ดแตกเป็นลาย มีสีซีด เนื้อห่มวกหนา ก้านดอกสั้น สอบถามไปยังแหล่งที่มาของตัวอย่างพบว่า เป็นสายพันธุ์ที่มีการนำเข้าจากประเทศจีน แล้วนำมาแบ่งบรรจุจำหน่าย

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบแถบตีเอ็นเอของสายพันธุ์อนุชิต-1 และอนุชิต-2 จากการใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 21 ไพรเมอร์ พบว่าให้แถบตีเอ็นเอที่เหมือนกันทุกประการ แต่เมื่อพิจารณาลักษณะดอกพบว่ามีความต่างกันอย่างชัดเจน อนุชิต-1 ห่มวกดอกมีรอยแตก เป็นร่องลึกเห็นชัดเจน ขณะที่อนุชิต-2 ดอกไม่ปรากฏรอยแตก ผิวห่มวกเรียบเสมอกัน เป็นการยืนยันได้อย่างชัดเจนว่าลักษณะสัณฐานวิทยาไม่สามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้เสมอไป ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะสัณฐานวิทยาได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม

พิจารณาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจาก dendrogram ซึ่งจัดแบ่งเห็ดหอมได้เป็น 6 กลุ่มใหญ่นั้น มีความสอดคล้องกับแหล่งหรือพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง เช่น กลุ่มที่ 1 มีสายพันธุ์ที่มาจากอำเภอแม่ทะถึง 8 ตัวอย่างในจำนวนทั้งหมด 9 ตัวอย่าง ในกลุ่มนี้มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมสูงถึง 95% กลุ่มที่ 2,3 และ 4 ซึ่งมี 13 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์ที่มาจากจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของกลุ่มนี้ค่อนข้างสูงประมาณ 85% จากการสอบถามถึงแหล่งที่มาของสายพันธุ์ ทุกฟาร์มบอกว่าได้มาจากที่เดียวกันคือฟาร์มของคุณประภรณ์ แต่ได้เปลี่ยนชื่อใหม่ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการกระจายตัวของสายพันธุ์เห็ดหอมในพื้นที่ผลิตทางภาคเหนือตอนบนมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ แหล่งที่มาของหัวเชื้อมาจากการแลกเปลี่ยนกันในกลุ่มผู้เพาะเห็ดหอม คนรู้จักหรือใน

เครือข่ายโดยเฉพาะที่อยู่ในพื้นที่ใกล้เคียงกัน เกษตรกรยังไม่มีความมั่นใจที่จะนำสายพันธุ์ต่างถิ่นมาทดลองเพาะเพราะเชื่อว่าสายพันธุ์ที่ใช้ในปัจจุบันมีความเหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศในพื้นที่นั้น ๆ อยู่แล้ว การใช้สายพันธุ์เดิมอยู่ตลอดและต่อเนื่องกันนานขึ้น อาจทำให้ผลผลิตค่อย ๆ ลดลง การเปลี่ยนแปลงนี้อาจใช้ระยะเวลานานหลายเดือนหรือเป็นปี การลดลงของผลผลิตเป็นเรื่องที่ซับซ้อนและควบคุมไม่ได้ ดังนั้นการผลิตเห็ดหอมเชิงการค้าควรมีสายพันธุ์ที่หลากหลายเพื่อการผลิตที่มีเสถียรภาพ (Albert, 1993) การสร้างความหลากหลายของสายพันธุ์เห็ดหอมให้มากขึ้นนั้น ควรมีการนำมาปรับปรุงสายพันธุ์ให้ฐานพันธุกรรมของเห็ดชนิดนี้มีความหลากหลายมากขึ้น เช่น นำสายพันธุ์ไปมาปรับปรุงพันธุ์ร่วมกับสายพันธุ์ที่เพาะในปัจจุบัน เช่นสายพันธุ์จากโครงการหลวงหมอกจ๋าม สายพันธุ์จากฟาร์มอนุชิต สายพันธุ์ของคุณวิไลวรรณและของผู้ใหญ่มิตร สายพันธุ์เหล่านี้ควรได้รับการศึกษาถึงลักษณะดีเด่น นำมาปรับปรุงพันธุ์ร่วมกับสายพันธุ์เดิมที่มีอยู่แล้ว เพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีรวมลักษณะที่ดีไว้ด้วยกัน

สรุป

การรวบรวมสายพันธุ์เห็ดหอมที่เพาะเป็นการค้าในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน จำนวน 43 ตัวอย่าง นำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์แบบสุ่มพบว่ามี 10 ไพรเมอร์ ที่ให้แถบตีเอ็นเอที่พบเฉพาะในบางสายพันธุ์เท่านั้น แถบตีเอ็นเอที่เกิดขึ้นนี้สามารถนำไปใช้เป็นเครื่องหมายโมกุลในการแยกสายพันธุ์เห็ดหอม 4 สายพันธุ์ออกจากสายพันธุ์อื่นได้อย่างชัดเจน ได้แก่ สายพันธุ์จากโครงการหลวงหมอกจ๋าม สายพันธุ์ของผู้ใหญ่มิตร สายพันธุ์ของคุณวิไลวรรณ และสายพันธุ์จากคุณอนุชิต จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าสายพันธุ์เห็ดหอมที่เพาะเพื่อการค้าในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน มีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำสามารถแบ่งได้เป็น 6 กลุ่ม

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจาก
งบประมาณสนับสนุนการวิจัยผ่านคณะกรรมการการวิจัย
และสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัย
แม่โจ้ คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณทุกท่านที่ได้ช่วย
ประสานงานเป็นอย่างดี ไว้ ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

- ปัญญา โพธิ์จูติรัตน์ และศิริพงษ์ ศิริวานิชกุล. 2537.
เทคโนโลยีการเพาะเห็ด. ภาควิชาเทคโนโลยีการ
ผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 421 หน้า.
- Albert, H.E. 1993. Breeding for mushroom product in
Lentinus edodes. pp.111-122. In : S.T.
Chang, J.A. Buswell and P.G. Miles (eds.).
Genetics and Breeding of Edible
Mushroom. Gordon and Breach,
Philadelphia.
- Chiu, S.W., A.M. Ma, F.C. Lin and D. Moore. 1996.
Genetic homogeneity of cultivated strain of
shiitake (*Lentinus edodes*) used in China as
revealed by the polymerase chain reaction.
Mycol Res. 100: 1393-1399.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA
isolation procedure for small quantities of
fresh leaf tissue. Phytochemistry Bull. 19:
11-15.
- Ito, Y., T. Fushimi and O.Y. Sonoe. 1998.
Discrimination of species and strains of
basidiomycete genus *Coprinus* by random
amplified polymorphic DNA (RAPD)
analysis. Mycosci. 39: 361-365.
- Kwan, H.S., S.W. Chiu, K.M. Pang and S.C. Cheng.
1992. Strain typing in *Lentinula edodes* by
polymerase chain reaction. Exp. Mycol. 16:
163-166.
- Ohmasa, M. and H. Furukawa. 1986. Analysis of
esterase and malate dehydrogenase
isozymes of *Lentinula edodes* by isoelectric
focusing for the identification and
discrimination of stocks. Trans. Mycol.
Soc.Jap. 27: 79-90.
- Ramirez, L., V.Muez and M. Alfonso. 2001. Use of
Molecular Markers to Differentiate between
Commercial Strains of the Button Mushroom
Agaricus bisporus. FEMS Microbiol. Lett.
198: 45-48.
- Rohlf, F.J. 1998. NTSYS-pc Numerical taxonomic and
multivariate analysis system. Version 2.01.
Applied Biostatistics, Inc., New York. 78 p.
- Royse, D.J., M.C. Spear and B. May. 1983. Single
and joint segregation of marker loci in the
shiitake mushroom, *Lentinus edodes*. J.
Gen. Appl. Microbiol. 29: 217-222.
- Terashima, K. and T. Matsumoto. 2004. Strain typing
of shiitake (*Lentinus edodes*) cultivars by
AFLP analysis, focus on heated-dried
fruiting body. Mycosci. 45: 79-82.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de
Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J.
Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995.
AFLP : A new technique for DNA
fingerprinting. Nucleic Acids Res. 23: 4407-
4414.
- Zhang, Y. and F.I. Molina. 1995. Strain typing of
Lentinula edodes by random amplified
polymorphic DNA assay. FEMS Microbiol.
Lett. 131: 17-20.

ผลของระดับแคลเซียมและแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโต ของคะน้าจีนที่ปลูกด้วยระบบไฮโดรโพนิิกส์

Effect of Calcium and Magnesium Levels on Growth and Development of Chinese Kale Grown in Hydroponics System

สุภกิจ ไชยพุ่ม^{1/} และ ไสระยา ร่วมรังษี^{2/}
Supakid Chaipoot^{1/} and Soraya Ruamrungsri^{2/}

Abstract: Effects of calcium and magnesium levels on growth and development of Chinese Kale grown in hydroponic system were examined. The Plants were supplied with different concentrations of calcium combined with magnesium i.e. 1) three levels of magnesium ; 63 (concentration in CMU#2 formula as control treatment), 94.5 and 127 mg/l 2) two levels of calcium ; 85 (CMU#2 formula as control treatment) and 127 mg/l. The results showed that plant height, number of leaves per plant and fresh weight at harvest were not affected by increasing of calcium and magnesium concentration. Calcium treatment did not affect leaf color. But increased levels of magnesium at 94.5 and 126 mg/l enhanced a green color of leaf. Chinese Kale supplied with 63 mg/l of magnesium showed magnesium deficiency symptom with interveinal chlorosis and average leaf color of 34.25 SPAD unit. The result of leaf analysis showed that increasing of calcium levels significantly decreased magnesium concentration in leaves. Conversely, increased levels of magnesium tended to decrease calcium concentration in leaves.

Keywords: Calcium, magnesium, chinese kale, hydroponics

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

^{2/}หน่วยวิจัยธาตุอาหารพืชและการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

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

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของระดับแคลเซียมและแมกนีเซียมในสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของคะน้าจีนที่ปลูกโดยระบบไฮโดรโปนิคส์ ดำเนินการโดยให้พืชได้รับความเข้มข้นของแคลเซียม และแมกนีเซียมแตกต่างกัน ดังนี้ 1) แมกนีเซียม 3 ระดับ คือ 63 (ความเข้มข้นในสารละลายสูตร CMU#2 ใช้เป็นกรรมวิธีควบคุม), 94.5 และ 126 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2) แคลเซียม 2 ระดับ คือ 85 (ความเข้มข้นในสารละลายสูตร CMU#2 กรรมวิธีควบคุม) และ 127 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียมที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตทางความสูงของลำต้น จำนวนใบ และ น้ำหนักสด เมื่อเก็บเกี่ยว ระดับแคลเซียมไม่มีผลต่อความเข้มข้นของสีใบแต่การให้แมกนีเซียมเพิ่มขึ้นที่ระดับ 94.5 และ 126 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ใบมีสีเขียวเพิ่มขึ้นกว่าคะน้าที่ได้รับแมกนีเซียมที่ระดับ 63 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแสดงอาการขาดธาตุแมกนีเซียม เนื้อใบมีสีเหลือง ขณะที่เส้นใบยังมีสีเขียว วัดความเข้มข้นสีใบได้ 34.25 SPAD unit ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบพบว่าระดับแคลเซียมที่มากขึ้น ส่งผลให้ความเข้มข้นของแมกนีเซียมในใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทางกลับกัน เมื่อระดับแมกนีเซียมเพิ่มขึ้นส่งผลให้แนวโน้มของแคลเซียมในใบลดลง

คำสำคัญ: แคลเซียม แมกนีเซียม คะน้าจีน ไฮโดรโปนิคส์

คำนำ

คะน้าจีนจัดอยู่ในวงศ์ Cruciferae และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* var. *albograba* มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย (เมืองทองและสุรินทร์, 2532) จัดเป็นพืชเมืองร้อน เป็นผักที่บริโภคใบ และลำต้น คะน้าจีนปลูกได้ตลอดปี แต่จะให้ผลผลิตดีที่สุดในเดือนตุลาคมถึงเมษายน สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ต้องการแสงมาก อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 20-25 องศาเซลเซียส (อัญชัญ, 2544) เป็นผักที่นิยมบริโภคมากเนื่องจากมีรสชาติดีและมีคุณค่าทางอาหารสูง คือ วิตามินเอ วิตามินซี คาร์โบไฮเดรต โปรตีน แร่ธาตุพวกแคลเซียม และฟอสฟอรัส (इन, 2542)

ผู้ปลูกบางรายนิยมผลิตผักในระบบไฮโดรโปนิคส์ เนื่องจากเป็นระบบที่มีการใช้น้ำและปุ๋ยเคมีอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมปัจจัยสภาพแวดล้อมในการปลูกเลี้ยงได้ ซึ่งงานทดลองในโรงเรียนปฏิบัติการการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินพบว่าการใช้สารละลายสูตร CMU#2 ที่มีปริมาณธาตุอาหารเพียงพอสำหรับพืชตระกูลสลัด เมื่อนำมาใช้กับการปลูกคะน้าจีนกลับพบการแสดงอาการขาดธาตุแมกนีเซียม ลักษณะใบเหลืองเกิดอาการ interveinal chlorosis ปรากฏตามใบที่ขยายขนาดเต็มที่ ซึ่งหน้าที่สำคัญของแมกนีเซียมคือ

เป็นอะตอมกลางของโมเลกุลคลอโรฟิลล์ นอกจากนี้ยังมีหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างไรโบโซมในกระบวนการสร้างโปรตีน เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการคาร์โบไฮเดรตเมแทบอลิซึม (โสระยา, 2548) ซึ่งแมกนีเซียมที่พืชสามารถดูดซึมได้อยู่ในรูปแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) การดูดซึมแมกนีเซียมจะลดลงหากมีปริมาณของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) มากขึ้นเนื่องจากไอออนของแคลเซียมแสดงภาวะปฏิปักษ์ต่อการดูดซึมแมกนีเซียม (ยงยุทธ, 2543) แคลเซียมมีหน้าที่สำคัญในการแบ่งเซลล์ และการยึดเยื่อของเซลล์ นอกจากนี้แคลเซียมยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์และมีบทบาทในการสร้างโปรตีน (โสระยา, 2548) โดยความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนจะมีมากในบริเวณมิดเดิลลามา (middle lamella) และผิวหนังนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) ซึ่งควบคุมความสามารถในการให้สารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความแข็งแรง (Marschner, 1997) โดยสารละลายมาตรฐานสูตร CMU#2 มีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียม 85 และ 63 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ Hoagland และ Arnon ซึ่งมีความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียม 200 และ 48 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (โสระยา, 2548) ซึ่งระดับของแคลเซียมและแมกนีเซียมที่เหมาะสมในสารละลายธาตุอาหาร

สำหรับปลูกพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และระดับของธาตุทั้งสองชนิดควรอยู่ในระดับสมดุล เพื่อไม่ให้เกิดสภาวะการปฏิบัติการต่อการดูดซึมในอีกธาตุหนึ่ง ดังนั้น การศึกษาทดลองครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาระดับของ แคลเซียม และแมกนีเซียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของคะน้าจีนในระบบไฮโดรโปนิกส์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เพาะเมล็ดคะน้าจีนในแผ่นฟองน้ำที่ตัดเป็นชิ้นเล็กขนาด 1 ลูกบาศก์นิ้ว รดน้ำให้ชุ่มจนกระทั่งเมล็ดงอก จากนั้นให้ต้นพืชได้รับสารละลายสูตร CMU#2 ซึ่งประกอบไปด้วย ไนโตรเจน 131.06, ฟอสฟอรัส 36.63, โพแทสเซียม 185.00, แคลเซียม 85.00, แมกนีเซียม 63.00, กำมะถัน 77.62, เหล็ก 20.00, โมลิบดีนัม 0.006, ทองแดง 0.01, สังกะสี 0.02, โบรอน 0.21 และ แมงกานีส 0.31 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลดความเข้มข้นลงครึ่งสูตร จนเมื่อต้นกล้าอายุครบ 14 วัน จึงย้ายปลูกลงระบบ Dynamic Root Floating System (DRF) และให้พืชได้รับสารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียมต่างกัน ได้แก่ แคลเซียม 2 ระดับ คือ 85 และ 127 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ แมกนีเซียม 3 ระดับ คือ 63, 94.5 และ 126 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารละลายสูตร

CMU#2 (แคลเซียม 85 มิลลิกรัมต่อลิตร และแมกนีเซียม 63 มิลลิกรัมต่อลิตร) รวม 6 กรรมวิธี ๆ ละ 10 ข้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD

บันทึกผลการทดลอง ได้แก่ ความสูงของต้น (ซม) จำนวนใบต่อต้นทุก 7 วัน น้ำหนักสด และวัดความเข้มของสีใบด้วยเครื่อง SPAD-502 : MINOLTA Chlorophyll meter เมื่อเก็บเกี่ยว วิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียมในใบพืชเมื่อเก็บเกี่ยวด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (Model AA-640, Shimadzu, Japan)

ผลการทดลอง

1. การเจริญเติบโตทางลำต้น

ความสูง (เซนติเมตร)

ผลของแคลเซียม จากผลการทดลองพบว่าหลังย้ายปลูก 1 สัปดาห์ พืชมีอายุ 21 วันนับจากวันเพาะเมล็ด คะน้าที่ได้รับแคลเซียม 85 มิลลิกรัมต่อลิตรมีความสูงมากกว่าการได้รับแคลเซียมที่ระดับ 127 มิลลิกรัมต่อลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 1) แต่หลังจากนั้น ในช่วงอายุ 28-42 วัน จนกระทั่งเก็บเกี่ยว (45วัน) พบว่าความสูงของคะน้าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ภาพที่ 1, ตารางที่ 1)

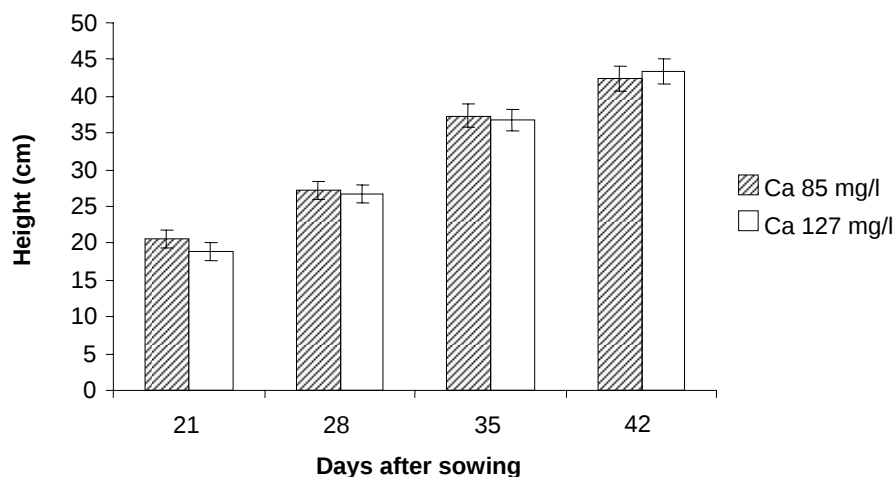


Figure 1 Effect of calcium concentration on plant height. Vertical bars represent the standard error (n=10).

Table 1 Effect of calcium and magnesium levels on plant height (cm) at harvest (45 days after sowing).

Magnesium concentration (mg/l)	Calcium concentration (mg/l)		Average ^{ns} (cm)
	85	127	
63.0	43.58	43.54	43.56
94.5	42.99	42.61	42.80
126.0	40.60	43.83	42.22
Average ^{ns} (cm)	42.39	43.33	

ns = not significantly different

ผลของแมกนีเซียม การเพิ่มความเข้มข้นของแมกนีเซียม ในทุกระดับไม่ทำให้ความสูงของคะน้ามืดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดจนการทดลองจนกระทั่งเก็บเกี่ยว (ภาพที่ 2 และ ตารางที่ 1)

ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย ผลของปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างแคลเซียมและแมกนีเซียมพบว่าระดับความแตกต่างของแคลเซียมทั้ง 2 ระดับเมื่อให้ร่วมกับแมกนีเซียม 3 ระดับไม่ทำให้พืชมีความสูงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1)

จำนวนใบต่อต้น

ผลของแคลเซียม จากผลการทดลองพบว่า หลังย้ายปลูก 1 สัปดาห์ พืชมีอายุ 21 วันนับจากวันเพาะเมล็ดจนกระทั่งเก็บเกี่ยวเมื่ออายุครบ 45 วัน คะน้าที่ได้รับแคลเซียม 85 และ 127 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่ทำให้จำนวนใบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยคะน้ามีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย 9.86-10.23 ใบต่อต้น (ภาพที่ 3 และ ตารางที่ 2)

ผลของแมกนีเซียม การให้ปริมาณแมกนีเซียมทั้ง 3 ระดับ พบว่า จำนวนใบต่อต้นของคะน้าตั้งแต่ 21 วันหลังวันเพาะเมล็ดจนกระทั่งเก็บเกี่ยว (45วัน) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4 และ ตารางที่ 2)

ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย อิทธิพลร่วมระหว่างแคลเซียมและแมกนีเซียมไม่ทำให้จำนวนใบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

น้ำหนักสด (กรัม)

ผลของแคลเซียม จากผลการทดลองพบว่าเมื่อครบระยะการเก็บเกี่ยว คะน้าที่ได้รับแคลเซียม 85 และ 127 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่ทำให้น้ำหนักสดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ผลของแมกนีเซียม ในส่วนของการให้ปริมาณแมกนีเซียมทั้ง 3 ระดับ พบว่า น้ำหนักสดของคะน้าเมื่อเก็บเกี่ยวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย อิทธิพลร่วมระหว่างแคลเซียมและแมกนีเซียมไม่ทำให้น้ำหนักสดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ความเข้มของสีใบ

ผลของแคลเซียม การให้แคลเซียมทั้ง 2 ระดับ ความเข้มข้น ไม่ได้ทำให้ความเข้มของสีใบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวัดระดับความเข้มของสีใบได้ 34.25-55.58 (ตารางที่ 3)

ผลของแมกนีเซียม การให้แมกนีเซียมทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ส่งผลต่อความเข้มของสีใบโดยพบว่าที่ระดับแมกนีเซียม 94.5 และ 126 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้พืชมีสีเขียวของใบเข้มกว่าที่ระดับ 63 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) คะน้าที่ได้รับแมกนีเซียม 63 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงอาการขาดธาตุอาหาร โดยเนื้อใบมีสีเหลือง เส้นใบเขียว (interveinal chlorosis) (ภาพที่ 5)

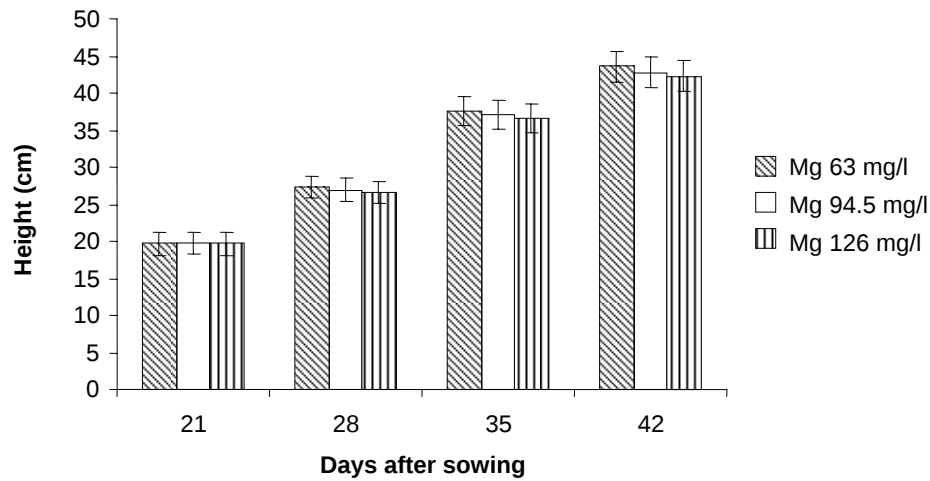


Figure 2 Effect of magnesium concentrations on plant height. Vertical bars represent the standard error (n=10).

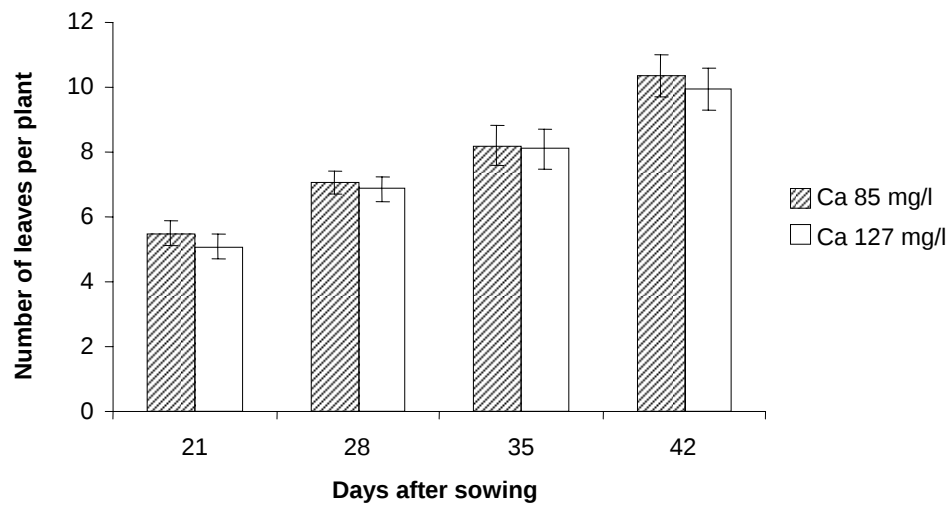


Figure 3 Effect of calcium concentrations on number of leaves per plant. Vertical bars represent the standard error (n=10).

Table 2 Effect of calcium and magnesium levels on fresh weight per plant at harvest.

Magnesium concentration (mg/l)	Fresh weight / plant ^{ns} (g)		Average ^{ns} (g)
	Ca 85 mg/l	Ca 127 mg/l	
63.0	147.89	96.30	122.09
94.5	113.29	111.50	112.39
126.0	143.17	140.06	141.62
Average ^{ns} (g)	134.78	115.95	

ns = not significantly different

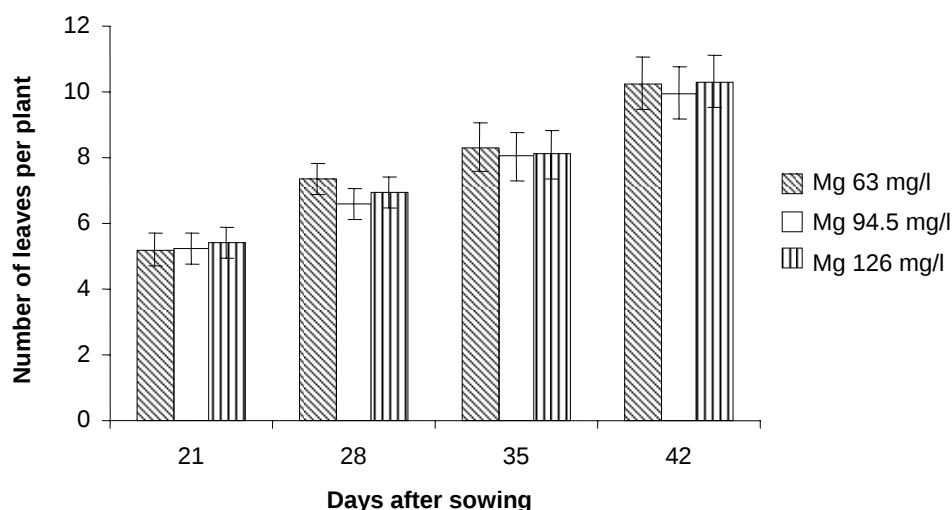


Figure 4 Effect of magnesium concentrations on number of leaves per plant. Vertical bars represent the standard error (n=10).

Table 3 Effect of calcium and magnesium levels on leaf color.

Magnesium concentration (mg/l)	Leaf color (SPAD unit)		Average ^{1/} (SPAD unit)
	Ca 85 mg/l	Ca 127 mg/l	
63.0	23.77b	44.73a	34.25x
94.5	58.13a	53.03a	55.58y
126.0	46.67a	53.00a	49.83xy
Average ^{ns} (SPAD unit)	42.86	50.26	

^{1/}Means in each of combination factors followed by the different character showed the significant difference among treatments by LSD-test at $P \leq 0.05$

ns = not significantly different.

ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย อิทธิพลร่วมระหว่างแคลเซียมและแมกนีเซียม พบว่าพืชที่ได้รับแคลเซียมเข้มข้น 85 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ แมกนีเซียม 63 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้พืชมีความเข้มของสีใบน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีความเข้มสีใบเฉลี่ย 23.77 ส่วนกรรมวิธีอื่นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3)

2. ความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโบ

ผลของแคลเซียม จากผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารไนโบค่น้ำจืดเมื่อพิจารณาแต่ละปัจจัยพบว่ากรรมวิธีที่ได้รับแคลเซียมเพิ่มมากขึ้นมีแนวโน้มให้ความเข้มข้นของแคลเซียมไนโบเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 4) ในทางตรงข้ามเมื่อพืชได้รับความเข้มข้นของแคลเซียมเพิ่มขึ้นจาก 85 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 127 มิลลิกรัมต่อลิตร

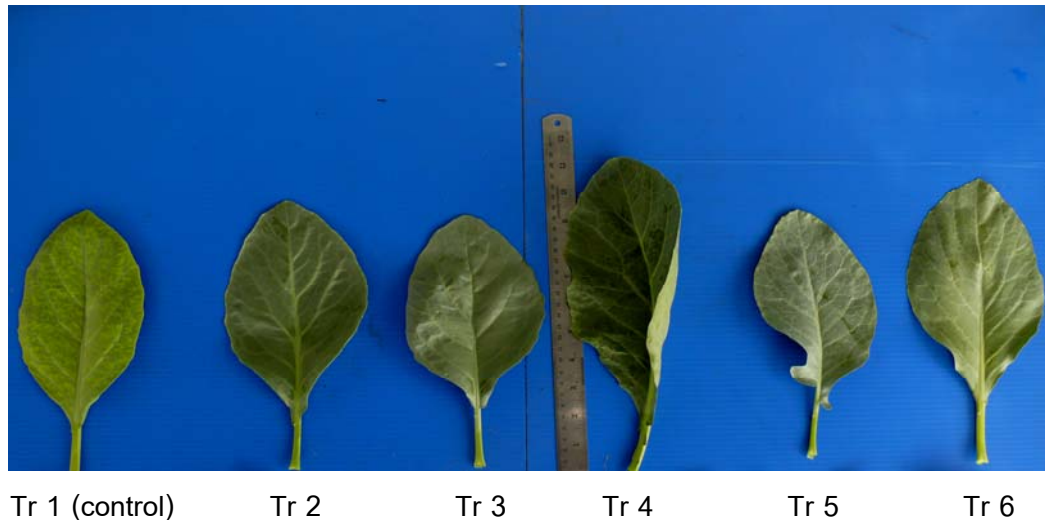


Figure 5 Leaves color after treated with various magnesium and calcium concentrations (Tr1 = Mg 63: Ca 85 mg/l, Tr2 = Mg 63: Ca 127 mg/l, Tr3 = Mg 94.5: Ca 85 mg/l, Tr4 = Mg 94.5: Ca 127 mg/l, Tr5 = Mg 126: Ca 85 mg/l, Tr6 = Mg 126: Ca 127 mg/l)

Table 4 Effect of calcium and magnesium levels on calcium concentration in leaves.

Magnesium concentration (mg/l)	Calcium concentration in leaves (mg/gDW)		Average ^{ns} (mg/gDW)
	Ca 85 mg/l	Ca 127 mg/l	
63.0	329.74a	296.78ab	313.26
94.5	202.07b	330.58a	316.33
126.0	306.56ab	292.98ab	299.77
Average ^{ns} (mg/gDW)	279.46	306.78	

Means in each of combination factors followed by the different character showed the significant difference among treatments by LSD-test at $P \leq 0.05$

ns = not significantly different

กลับทำให้ความเข้มข้นของแมกนีเซียมในใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 75.14 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เป็น 44.56 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 5)

ผลของแมกนีเซียม การให้ระดับแมกนีเซียมเพิ่มขึ้นไม่ทำให้ความเข้มข้นของแคลเซียมในใบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ทำให้ความเข้มข้นของแมกนีเซียมในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย

พบว่า การให้แมกนีเซียมที่ระดับ 94.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีระดับความเข้มข้นของแมกนีเซียมในใบ 60.81 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากการได้รับแมกนีเซียมที่ระดับ 123.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4 และ ตารางที่ 5)

ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย อิทธิพลร่วมระหว่างแคลเซียมและแมกนีเซียม พบว่าต้นพืชใน

Table 5 Effect of calcium and magnesium levels on magnesium concentration in leaves.

Magnesium concentration (mg/l)	Magnesium concentration in leaves (mg/gDW)		Average ^{1/} (mg/gDW)
	Ca 85 mg/l	Ca 127 mg/l	
63.0	70.65ab	25.07a	47.86x
94.5	69.38ab	52.23b	60.81xy
126.0	85.40a	56.38b	70.89y
Average ^{1/} (mg/gDW)	75.14A	44.56B	

^{1/}Means in each of combination factors followed by the different character showed the significant difference among treatments by LSD-test at $P \leq 0.05$

กรรมวิธีที่ได้รับแคลเซียมเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณแมกนีเซียม ที่วิเคราะห์ได้ลดลงในทุกๆ ระดับของกรรมวิธีที่ได้รับแมกนีเซียม เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 5)

วิจารณ์ผลการทดลอง

การปลูกคะน้าในระบบ Dynamic Root Floating System (DRF) โดยให้พืชได้รับความเข้มข้นของแคลเซียมในสารละลายแตกต่างกันสองระดับ คือ 85 และ 127 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ แมกนีเซียม 63, 94.5 และ 126 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ระดับของแคลเซียมและแมกนีเซียมที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตทางลำต้น ทั้งความสูง (เซนติเมตร) จำนวนใบต่อต้น และน้ำหนักสด เมื่อเก็บเกี่ยว ดิเรก (2547) แนะนำว่าช่วงความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียมที่นิยมใช้ในการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินอยู่ในช่วง 100-200 และ 30-70 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของแคลเซียมและแมกนีเซียมในการทดลองนี้จึงไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความสูง จำนวนใบต่อต้น และน้ำหนักสดของคะน้า

อย่างไรก็ตามพบว่า ความเข้มข้นของสีใบ (SPAD unit) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกรรมวิธีที่ได้รับแมกนีเซียม 63 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น อาจเป็นผลมาจากแมกนีเซียมเป็นอะตอมแกนกลางของโมเลกุลคลอโรฟิลล์ที่มีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์แสง (โสระยา, 2548) ซึ่ง

มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของสีใบ (SPAD unit) กับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของต้นข้าวสาลี และ มะเขือเทศ โดยพบว่าค่าความเข้มของสีใบเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น (Udding *et al.*, 2007) ดังนั้นการได้รับแมกนีเซียมความเข้มข้นต่ำเกินไป จึงทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงส่งผลให้สีของใบพืชเหลือง (ภาพที่ 5) มากกว่ากรรมวิธีอื่น แม้ว่าการเจริญเติบโตทางลำต้นจะไม่แตกต่างกันด้วยข้อมูลข้างต้น

จากการวิเคราะห์ธาตุอาหารในใบพบว่า ปริมาณธาตุอาหารในใบที่ได้รับแคลเซียมมากขึ้นส่งผลให้ความเข้มข้นของแมกนีเซียมในใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและระดับแมกนีเซียมในสารละลายธาตุอาหารที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีความเข้มข้นของแมกนีเซียมในใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากแมกนีเซียมไอออนเป็นแคตไอออนที่เป็นปฏิปักษ์ต่อแคลเซียมไอออน ทำให้เกิดการแย่งกันเข้าสู่รากพืช (ยงยุทธ, 2543) สอดคล้องกับการทดลองของ Asemaneh and Ghaderian (2007) ที่ทดลองสมดุลของแคลเซียมและแมกนีเซียมในตระกูลผักเสี้ยนพบว่า เมื่อพืชได้รับแมกนีเซียมเพิ่มขึ้นส่งผลให้ระดับแคลเซียมในยอดและรากของผักตระกูลผักเสี้ยนลดลง ซึ่ง Supanjani *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาผลของแคลเซียมต่อปริมาณผลผลิต และการดูดซึมธาตุอาหาร ในต้นเบญจมาศที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ โดยให้ความเข้มข้นของแคลเซียมเพิ่มขึ้นจาก 10 ถึง 70 มิลลิโมล พบว่า ที่ปริมาณแคลเซียม

ในสารละลายเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณแมกนีเซียมทั้งในใบ
และดอกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป

ระดับแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อการ
เจริญเติบโต แต่จะส่งผลให้ความเข้มข้นของแมกนีเซียม
ในใบลดลง ส่วนของระดับแมกนีเซียมที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผล
ต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นเช่นกันแต่ส่งผลต่อความเข้ม
ของสีใบที่เพิ่มขึ้น โดยความเข้มข้นของแคลเซียมร่วมกับ
แมกนีเซียมที่เหมาะสมของการปลูกคะน้าจีนในระบบ
DRF คือ 85 และ 94.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

ไฉน ยอดเพชร. 2542. พืชผักในตระกูล cruciferae.
สำนักพิมพ์วิบูลย์, กรุงเทพฯ. 195 หน้า.
ดิเรก ทองอร่าม. 2547. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. ธรรม
รักษการพิมพ์, ราชบุรี. 724 หน้า.
เมืองทอง ทวนทวี และสุรรัตน์ ปัญญาโตนะ. 2532. สวน
ผัก. โรงพิมพ์กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ.
325 หน้า.
ยงยุทธ โอสดสภา. 2543. ธาตุอาหารพืช. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 424
หน้า.

โสระยา ร่วมรังษี. 2548. การผลิตพืชสวนแบบไม่ใช้ดิน.
ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
เชียงใหม่. 122 หน้า.
อัญชัญ วิรัชลาภ. 2544. การเพาะเลี้ยงอับละของเรณูและ
การรวมโปรโตพลาสต์คะน้าจีนและบร็อคโคลี่.
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 90 หน้า.
Asemaneh, T. and S.M. Ghaderian. 2007.
Responses to Mg/Ca balance in an Iranian
serpentine endemic plant, *Cleome
heratensis* (Capparaceae) and a related
non-serpentine species, *C.foliolosa*. Plant
Soil 293: 49-59.
Marschner, H. 1997. Mineral nutrition of higher
plants. Academic press, London. 889 p.
Supanjani, A.R.M. Tawaha, M.S. Yang, H.-S. Han and
K.D. Lee. 2005. Calcium effects on yield,
mineral uptake and terpene components of
hydroponic *Chrysanthemum coronarium* L.
J. Agric. & Biol. Sci. 1(2): 146-151.
Udding, J., J. Gelang-Alfredsson, K. Piikki and H.
Pleijel. 2007. Evaluating the relationship
between leaf chlorophyll concentration and
SPAD-502 chlorophyll meter readings.
Photosynth Res. 91: 37-46.

ผลของระดับแคลเซียมและแมกนีเซียมต่อ การเจริญเติบโตของแวนดาสันทรายบลู

Effects of Calcium and Magnesium Levels on Growth and Development of *Vanda* 'Sansai Blue'

ชัยพร อนูวงศ์^{1/} และ ไสระยา ร่วมรังษี^{1/2/}
Chamaiporn Anuwong^{1/} and Soraya Ruamrungsri^{1/2/}

Abstract: Effects of calcium and magnesium concentrations on growth and development of *Vanda* 'Sansai Blue' were studied, using one year old of *Vanda* 'Sansai Blue' as plant materials in two experiments. Experiment 1, plants were supplied with 6 different concentrations of calcium (0, 100, 200, 300, 400 and 500 mg/l) in nutrient solution. It was found that the greatest plant height was found in calcium 200 mg/l application. Experiment 2, plants were supplied with 6 different concentrations of magnesium (0, 100, 200, 300, 400 and 500 mg/l) in nutrient solution. It was found that magnesium at 100 mg/l produced greatest of plant height, number of leaves per plant, leaf width, leaf length and leaf thickness of *Vanda* 'Sansai Blue'.

Keywords: Calcium, magnesium, growth and development, *Vanda*

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

^{2/}หน่วยวิจัยธาตุอาหารพืชและการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

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

^{2/}Plant Nutrition and Hydroponics Research Unit, Institute for Science and Technology, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของแวนดาสันทรายบลู ใช้ต้นอายุ 1 ปี เป็นพืชทดลอง แบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ให้สารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมต่างกัน 6 ระดับ (0, 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าสารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของแคลเซียม 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ความสูงของต้นมากที่สุด การทดลองที่ 2 ให้สารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของแมกนีเซียมต่างกัน 6 ระดับ (0, 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า สารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของแมกนีเซียม 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความสูงต้น จำนวนใบต่อต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความหนาใบของแวนดาสันทรายบลูมากที่สุด

คำสำคัญ: แคลเซียม แมกนีเซียม การเจริญเติบโต แวนดา

คำนำ

กล้วยไม้สกุลแวนดา (*Vanda*) เป็นกล้วยไม้ซึ่งการเจริญเติบโตไปทางยอดหรือที่เรียกว่า โมโนโพเดียล (monopodial) บางชนิดมีแหล่งกำเนิดทางภาคเหนือเป็นที่นิยมและปลูกเลี้ยงกันมาก เช่น แวนดาฟ้ามุ่ย แวนดาเอื้องสามปอย เป็นต้น (ผ่องพรรณ, 2549 ; ไชยา, 2534) กล้วยไม้สกุลแวนดามีระบบรากเป็นรากอากาศแท้ซึ่งรากบางส่วนจะเกาะยึดอยู่กับวัสดุปลูกหรือต้นไม้ การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้กลุ่มนี้ไม่ได้ปลูกในดิน ทำให้มักเกิดปัญหาขาดแคลนธาตุอาหาร เมื่อธาตุอาหารมีไม่เพียงพอส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตทำให้ผลผลิตลดน้อยลง (สมบุญ, 2538) โดยทั่วไปผู้ปลูกกล้วยไม้มักมีการให้ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมอย่างเพียงพออยู่แล้ว แต่ปุ๋ยบางสูตรไม่มีองค์ประกอบของแคลเซียม หรือแมกนีเซียมอยู่ด้วย จึงอาจทำให้เกิดการขาดธาตุเหล่านี้ได้

ธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม เป็นธาตุที่พืชต้องการมาก และความเข้มข้นในเนื้อเยื่อพืชมีสูงกว่า 500 มิลลิกรัม/ กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง แคลเซียมมีบทบาทสำคัญช่วยทำให้ผนังเซลล์ เนื้อเยื่อและต้นพืชแข็งแรง (ยงยุทธ, 2543) ส่วนแมกนีเซียมช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการหายใจ การสังเคราะห์แสง และยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของคลอโรฟิลล์ (พูนพิภพ, 2549) การนำแมกนีเซียมมาใช้ของพืชมีภาวะปฏิปักษ์ (antagonism) กับแคลเซียม ซึ่งหากมีแคลเซียมในระดับสูงจะทำให้การดูดซึมแมกนีเซียมของพืชลดลง (ยงยุทธ, 2543) จากการศึกษา

ปลูกกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนนอปซิสในสารละลายที่ขาดธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม พบว่า ทำให้การเจริญเติบโตของใบหยุดชะงักก่อนที่พืชจะแสดงอาการขาดธาตุอาหารตามมา (Hew and Yong, 2004) ดังนั้นการจัดการระดับธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียมในสารละลายธาตุอาหารที่เหมาะสม จึงมีความสำคัญและเป็นประโยชน์ต่อการปลูกแวนดาให้ได้คุณภาพดี งานวิจัยนี้ จึงมุ่งศึกษาระดับของธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แวนดา เพื่อนำมาปรับใช้เป็นสารละลายสูตรปุ๋ยที่เหมาะสม อันจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ชนิดนี้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองนี้ได้ปลูกแวนดาสันทรายบลู อายุประมาณ 1 ปี ลงในตะกร้าพลาสติกสีดำ ขนาด 4 นิ้ว โดยไม่มีวัสดุปลูก นำมาวางเรียงบนชั้นวาง ให้ดินได้พักฟื้น 3 สัปดาห์ จึงเริ่มให้สารละลายธาตุอาหารตามกรรมวิธี ดังนี้ การทดลองที่ 1 ให้สารละลายธาตุอาหารที่มีแคลเซียมความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ 0, 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนธาตุอื่นพืชได้รับเท่ากัน ในทุกกรรมวิธี (ไนโตรเจน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัส 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โพแทสเซียม 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และแมกนีเซียม 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้ธาตุอาหารรองอย่างเพียงพอต่อความต้องการของพืช) การทดลองที่ 2 ให้สารละลายธาตุอาหารที่มี

แมกนีเซียมความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ 0, 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนธาตุอื่นพืชได้รับเท่ากัน ในทุกกรรมวิธี โดยให้แคลเซียม 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัสละลายธาตุอาหาร 20 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 2 ครั้งต่อสัปดาห์ นาน 4 เดือน บันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงของต้น จำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ และความหนาใบ เดือนละครั้ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design : CRD) จำนวน 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 15 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistic (SXW Tallahassee, FL, USA)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของแคลเซียมที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้วนดา

จากการศึกษาถึงผลของแคลเซียมที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้วนดา พบว่า กรรมวิธีที่ได้รับแคลเซียม ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงต้นและความยาวใบมากที่สุด ส่วนต้นที่ได้รับแคลเซียมในระดับสูงกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป ทำให้จำนวนใบและความหนาใบลดลง และแคลเซียมที่ระดับ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลให้ต้นตายในที่สุด ในเวลา 4 เดือนหลังจากปลูก (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับการศึกษากับกล้วยไม้สกุลหวาย เมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมสูงขึ้น มีระดับการเจริญเติบโตลดลง (Dematte, 2000) แต่จากการศึกษาของอภิรยา (2549) ในกล้วยไม้สกุลหวายนั้น พบว่า ระดับของแคลเซียม 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่ทำให้การเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน ทั้งนี้การได้รับแคลเซียม 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์อมโจ เอียร์สกุล และพันธุ์ชาวินไวท์มีเปอร์เซ็นต์การเกิดช่อดอก และการเกิดลำลูกกล้วยใหม่สูงกว่ากรรมวิธีอื่น โดยปกติแคลเซียมมีบทบาทสำคัญในการแบ่งเซลล์ การยืดยาวของเซลล์ และเป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ นอกจากนี้มีบทบาทสำคัญในการสร้างโปรตีน (โสระยา, 2544) ในการทดลองนี้จึงอาจเป็นไปได้ว่า การได้รับแคลเซียมระดับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้นเพียงพอและเหมาะสมต่อ

การเจริญเติบโต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านความสูงของต้น และความยาวใบ (ภาพที่ 1) ส่วนการได้รับแคลเซียมสูงมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับที่มากเกินไป ทำให้สมดุลธาตุอาหาร และการลำเลียงอาหารสะสมผิดปกติ ถึงแม้ว่ายังไม่พบรายงานที่กระทบการเจริญเติบโตอย่างแน่ชัด อาการของพืชที่แสดงออกถึงการขาดธาตุอาหารนั้น ๆ มาจากผลกระทบต่อสมดุลของธาตุอาหารที่เกิดขึ้นได้ (ยงยุทธ, 2543) การได้รับแคลเซียม 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก และตายในที่สุด (ตารางที่ 1) สำหรับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้รับแคลเซียมนั้น ถึงแม้ว่าพืชไม่แสดงอาการขาดธาตุแคลเซียมแต่มีความสูงน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ได้รับแคลเซียม 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จากผลการวิเคราะห์ธาตุแคลเซียม ในน้ำที่ใช้รดให้กับพืชทดลองในชุดควบคุม พบว่า มีปริมาณแคลเซียมอยู่ 23.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเพียงพอในระยะแรกของการเจริญเติบโต พืชจึงไม่ปรากฏอาการขาดธาตุอาหาร แต่ถ้าปลูกเลี้ยงเป็นระยะเวลานานขึ้น พืชอาจจะแสดงอาการขาดธาตุอาหารให้สังเกตได้

ผลของแมกนีเซียมที่มีต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้วนดา

การศึกษาผลของการให้แมกนีเซียมกับวนดาสันทรายบลูที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่า กรรมวิธีที่ได้รับแมกนีเซียม ระดับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้วนดาสันทรายบลูมีความสูง จำนวนใบต่อต้น ความกว้างใบ ความยาวใบและความหนาใบ มากที่สุด (ตารางที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากแมกนีเซียมเป็นอะตอมแกนกลางของโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ และยังเป็นตัวเชื่อมระหว่างไรโบโซมในกระบวนการสร้างโปรตีน เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการคาร์โบไฮเดรตเมแทบอลิซึม ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการหายใจของเซลล์ (โสระยา, 2544) จึงช่วยให้พืชมีการเจริญเติบโตดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้รับแมกนีเซียม (ชุดควบคุม) จากการศึกษาค้นคว้าของแมกนีเซียมในกล้วยไม้ 3 สกุล ได้แก่ แคทลียา ฟาแลนนอปซิส และซิมีบิเดียมนั้น เมื่อมีการให้แมกนีเซียมที่สูงกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป ทำให้ขนาดของใบและการเจริญเติบโตลดลง หรือ

Table 1 Plant height, number of leaves, leaf width, leaf length and leaf thickness of *Vanda* 'Sansai Blue' after treated with various calcium concentrations for 4 months.

Calcium concentrations (mg/l)	Plant height ^{2/} (cm)	Number of leaves ^{2/} per plant	Leaf width ^{2/} (cm)	Leaf length ^{2/} (cm)	Leaf thickness ^{2/} (cm)
0	2.93b	8.00a	1.73a	14.64ab	0.12ab
100	2.83b	8.54a	1.70ab	15.85ab	0.13a
200	3.74a	7.69ab	1.71ab	16.23a	0.11bc
300	2.57b	6.46c	1.53b	14.25b	0.10c
400	2.57b	6.73bc	1.65ab	15.96ab	0.10c
500	- ^{1/}	- ^{1/}	- ^{1/}	- ^{1/}	- ^{1/}
LSD _{.05}	0.60	1.09	0.19	1.75	0.01

^{1/}Plant death.^{2/}Means with the same column followed by different characters showed significant difference between treatments by LSD test at $p \leq 0.05$ Figure 1 *Vanda* 'Sansai Blue' in each treatment after treated with various calcium concentrations for 4 months.

ถ้าให้ในระดับที่สูงกว่านั้นอาจจะเป็นอันตรายแก่พืชได้ โดยระดับของแมกนีเซียมที่เหมาะสม คือ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร (Poole and Seely, 1978) ซึ่งการทดลองดังกล่าวให้ผลแตกต่างจากการทดลองนี้ ซึ่งพบว่า การให้ระดับของแมกนีเซียม 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้แวนดาสันทรายบลูมีการเจริญเติบโตดี ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากพืชต่างชนิดกัน จึงมีความต้องการธาตุอาหารในระดับที่ต่างกัน (สมบุญ, 2538) ในรายงานของ Dematte (2000) ศึกษาในกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับความเข้มข้นของแมกนีเซียมเพิ่มขึ้น พบว่า พืชมีการเจริญเติบโตลดลง แม้ว่าโดยทั่วไปอาการที่แสดงความเป็นพิษจากการได้รับแมกนีเซียมมากเกินไปยังไม่มีรายงานมากนัก ส่วนใหญ่มักพบอาการ

ที่เกิดจากความไม่สมดุลของธาตุอื่นมากกว่า (มุกดา, 2544) แต่ในการทดลองนี้พบว่า แวนดาสันทรายบลูที่ได้รับแมกนีเซียม 500 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงอาการเป็นพิษ โดยทำให้พืชหยุดเจริญ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2) จากการวิเคราะห์น้ำที่ใช้รดให้กับพืช มีปริมาณของแมกนีเซียม 3.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งทำให้แวนดาสันทรายบลูที่ไม่ได้รับแมกนีเซียม (กรรมวิธีควบคุม) มีความสูงและความยาวใบน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น ดังนั้นจากการศึกษานี้กล่าวได้ว่าระดับแคลเซียมที่เหมาะสมต่อการปลูกเลี้ยงแวนดาสันทรายบลูในระยะต้นกล้า คือ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมที่ระดับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากการทดลองนี้ศึกษาในระยะที่กล้วยไม้

Table 2 Plant height, number of leaves, leaf width, leaf length and leaf thickness of *Vanda* 'Sansai Blue' after treated with various magnesium concentrations for 4 months.

Magnesium concentrations (mg/l)	Plant height ^{1/} (cm)	Number of leaves per plant ^{1/}	Leaf width ^{1/} (cm)	Leaf length ^{1/} (cm)	Leaf thickness ^{1/} (cm)
0	2.89bc	8.15ab	1.69a	14.34c	0.11b
100	3.85a	8.85a	1.71a	17.37a	0.13a
200	3.32ab	7.92ab	1.62ab	14.92bc	0.12ab
300	2.92bc	7.08bc	1.57ab	15.05bc	0.10b
400	3.45ab	7.69ab	1.63a	16.53ab	0.11b
500	2.37c	6.38c	1.44b	14.02c	0.08c
LSD _{.05}	0.62	1.18	0.19	1.76	0.02

^{1/}Means with the same column followed by different characters showed significant difference between treatments by LSD test at $p \leq 0.05$



Figure 2 *Vanda* 'Sansai Blue' in each treatment after treated with various magnesium concentrations for 4 months.

ยังเป็นต้นอ่อน จึงไม่มีการออกดอก จึงควรมีการศึกษาใน
ระยะออกดอกเพื่อให้ได้สูตรสารละลายปุ๋ยที่เหมาะสมต่อ
การผลิตกล้วยไม้ชนิดนี้ต่อไป

สรุป

จากการทดลองถึงผลของแคลเซียมและ
แมกนีเซียมที่มีต่อการเจริญเติบโตของแวนดาสันทรายบลู
พบว่า การให้แคลเซียมที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำ
ให้ต้นมีความสูง และความยาวใบมากกว่ากรรมวิธีอื่น
อย่างมีนัยสำคัญ และการให้แมกนีเซียมที่ระดับ 100
มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ดังนั้น

ระดับของแคลเซียมและแมกนีเซียม 200 และ 100
มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ น่าจะเป็นระดับเหมาะสม
ที่สุดต่อการเจริญเติบโตของแวนดาสันทรายบลูในระยะ
ต้นกล้าให้มีการเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี และช่วยลด
ต้นทุนปุ๋ยได้ และถ้ามีการใช้ปุ๋ยทั้งสองชนิดในอัตรา
มาก มีผลลดการเจริญเติบโตลงได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุน
ค่าใช้จ่ายบางส่วนและขอบคุณโครงการพัฒนาไม้ดอก
เศรษฐกิจ (กล้วยไม้) เพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออกที่
ให้การสนับสนุนต้นพันธุ์ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ไชยา ลาวัลย์. 2534. แวนดา. สำนักเกษตรกรรม, กรุงเทพฯ. 95 หน้า.
- ผ่องพรรณ สร้อยอุบล. 2549. กล้วยไม้. เกษตรสยามบุ๊คส์, กรุงเทพฯ. 96 หน้า.
- พูนพิภพ เกษมทรัพย์. 2549. ชีววิทยา 2. โครงการตำราวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ มูลนิธิ สอวน. ด้านสุขภาพการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 440 หน้า.
- มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 368 หน้า.
- ยงยุทธ โอสมภพ. 2543. ธาตุอาหารพืช. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 424 หน้า.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2538. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 213 หน้า.
- โสระยา ร่วมรังษี. 2544. การผลิตพืชสวนแบบไม่ใช้ดิน. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 88 หน้า.
- อภิรยา เทพสุคนธ์. 2549. ผลของแคลเซียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวาย. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 30 หน้า.
- Dematte, M. E. S. P. 2000. Growth of *Dendrobium nobile* Lindl. as related with nutrient concentration in the growing media. Acta Hort. 511: 265-270.
- Hew, C. S. and J. W. H. Yong. 2004. The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry. World Scientific Publishing, New Jersey. 370 p.
- Poole, H. A. and J. G. Seeley. 1978. Nitrogen, potassium and magnesium nutrition of three orchid genera. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 103(4): 485-488.

ความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC5R* ต่ออัตรา การเจริญเติบโตในไก่พื้นเมือง (ประดู่หางดำ)

Genetic Polymorphism of *MC5R* Gene on Growth Rate of Indigenous Chicken (Praduhangdum)

วิทย์พงษ์ เปี้ยวงศ์^{1/} ปุณเรศวร์ รัตนประดิษฐ์^{1/} และ สัญชัย จตุรสีทธา^{1/}
Wittapong Peawong^{1/}, Punnares Ratanapradit^{1/} and Sanchai Jaturasitha^{1/}

Abstract: The *melanocortin-5 receptor (MC5R)* gene is a key factor in the regulation of exocrine gland function which controls gastric juice production and cooperates with enzyme from pancreas. In this study, the genetic polymorphisms of *MC5R* genes in 220 indigenous chickens (Praduhangdum) were identified. The associations of *MC5R* genes with growth Rate in indigenous chickens were studied. Three single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the chicken *MC5R* genes were found in 5'-flanking regions at the position of 78(A>G), 249(A>G), and 388(T>A). One position of SNPs was developed as the simple DNA marker for genotyping. The *Hin6I* Restriction enzyme was used to detect SNPs at the position of 249(A>G). The allele frequencies were 0.52 for A and 0.48 for G. The results indicated that the polymorphisms of *MC5R* markers associated with average daily gain. It showed that average daily gain in indigenous chickens with genotype GG was higher than that of AA ($P<0.05$).

Keywords: genetic polymorphism, *MC5R*, Praduhangdum

^{1/}ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตวน้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

^{1/}Department of Animal Science and Aquaculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

บทคัดย่อ: ยีน Melanocortin-5 receptor (*MC5R*) มีบทบาทต่อการควบคุมการทำงานของต่อมมีท่อที่ควบคุมการสร้างนําย่อยและการทำงานร่วมกับเอนไซม์จากตับอ่อน การศึกษาครั้งนี้ต้องการค้นหาความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ประดู่หางดำ จำนวน 220 ตัวและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีน *MC5R* กับอัตราการเจริญเติบโต ผลการศึกษาพบว่ายีน *MC5R* ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ประดู่หางดำมี single nucleotide polymorphism (SNPs) ในบริเวณ 5' flanking region จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ 78(A>G), 249(A>G) และ 388(T>A) จากความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC5R* ดังกล่าว SNPs จำนวน 1 ตำแหน่ง ถูกคัดเลือกมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเออย่างง่ายเพื่อตรวจสอบจีโนไทป์โดยใช้ enzyme ตัดจำเพาะ *Hin6I* ตรวจสอบความผันแปรของ SNPs ที่ตำแหน่ง 249(A>G) พบว่ามีความถี่อัลลีล A และ G เท่ากับ 0.52 และ 0.48 ผลการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่าความผันแปรของเครื่องหมายโมเลกุล *MC5R* มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน โดยพบว่าไก่พื้นเมืองที่มีจีโนไทป์ GG มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงกว่าไก่พื้นเมืองที่มีจีโนไทป์ AA อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

คำสำคัญ: ความผันแปรทางพันธุกรรม, *MC5R*, ไก่ประดู่หางดำ

คำนำ

ปัจจุบันประชาชนนิยมรับประทานไก่พื้นเมืองกันมาก เนื่องจากมีรสชาติดี อร่อย เนื้อแน่น มีมันน้อย (Jaturasitha *et al.*, 2008) แต่ไก่พื้นเมืองก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ทั้งนี้เพราะไก่พื้นเมืองมีอัตราการเจริญเติบโตช้า ซึ่งเป็นข้อจำกัดทางด้านการผลิตที่สำคัญของไก่พื้นเมือง ในปัจจุบันองค์ความรู้พื้นฐานทางพันธุกรรม อนุพันธุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพ ได้เข้ามามีบทบาทในการศึกษาหน่วยทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุลของดีเอ็นเอเพื่อระบุตำแหน่งที่ตั้งของยีน รวมถึงการค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งเป็นสาเหตุโดยตรงของความผันแปรในลักษณะปรากฏ (ศุภมิตร, 2548) สำหรับช่วยคัดเลือกไก่พื้นเมืองเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

Melanocortin receptor (MCRs) เป็นยีนในกลุ่ม G protein coupled receptor superfamily (Voisey *et al.*, 2003) ยีน MCRs ประกอบไปด้วยยีนจำนวน 5 ยีนคือ *MC1R*, *MC2R*, *MC3R*, *MC4R* และ *MC5R* (Malek, 2001; Chaki and Okuyama, 2005; Cerda-Reverter *et al.*, 2003) *MC1R* มีผลต่อสีผิวและสีขน (Cone *et al.*, 1996) *MC2R* มีผลต่อการหลั่ง corticosteroid (Desarnaud *et al.*, 1994) และ steroid (Beuschlein *et al.*, 2001) *MC3R*

และ *MC4R* เกี่ยวข้องกับการควบคุมสมดุลพลังงาน (Roselli-Reh fuss *et al.*, 1993) *MC5R* มีการแสดงออกใน peripheral tissues (Chaki and Okuyama, 2005) exocrine gland และใน skeletal muscle (Chen *et al.*, 1997) การศึกษา ยีน *MC5R* พบว่าในหนูที่ถูก knockouts ยีน *MC5R* มีผลก่อให้เกิดความผิดปกติในการทำงานของต่อม exocrine gland และมีการผลิต sebaceous lipid ลดลง (Chen *et al.*, 1997) ส่วนการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของยีนในไก่พื้นเมืองยังไม่ปรากฏรายงานแต่อย่างใด ดังนั้นในการศึกษานี้จึงต้องการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมในระดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *MC5R* และความสัมพันธ์ของยีน *MC5R* กับอัตราการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ประดู่หางดำ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรม ในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีทดลอง

เก็บตัวอย่างเลือดและบันทึกลักษณะทางการผลิตที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ซึ่งประกอบด้วย น้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) รวมทั้งความกว้างหน้าอก และความยาวแข้งของไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ประดู่หางดำ จำนวน 220 ตัว และสกัด

ดีเอ็นเอ (DNA) จากเลือด โดยดัดแปลงจากวิธีการของ
ศิริลักษณ์ และคณะ (2539) ออกแบบไพรเมอร์ (Primer
design) จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *MC5R* ของไก่
ซึ่งมีความยาว 2033 bp (GenBank accession no. AB012868)
ให้มีขนาดประมาณ 400-500 bp ทั้งนี้ให้ครอบคลุมส่วน
ของ start codon open reading frame และ stop codon
(ตารางที่ 1) โดยใช้โปรแกรม Primer 3 เพื่อใช้เพิ่มปริมาณ
DNA ของยีน *MC5R* ด้วยปฏิกิริยา PCR ซึ่งมีปริมาตรรวม
20 µl ประกอบด้วย DNA template 50 ng, 1x PCR
buffer, 200 mM dNTPs, 2.5 mM MgCl₂, 4 µM primer
forward, 4 µM primer reverse, 5 U/µl Taq polymerase
(Fermentus) ทำปฏิกิริยา PCR ด้วยอุณหภูมิ (94 °C 30
วินาที/ 58 °C 30 วินาที / 72 °C 30 วินาที) จำนวน 35
รอบ และค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล DNA บนยีน *MC5R*
ด้วยเทคนิค single stranded conformation polymorphism
(SSCP) ในไก่ที่มีน้ำหนักตัวมาก-น้อย ในการตรวจสอบ
ความผันแปรทางพันธุกรรม ผลผลิต PCR ที่รูปแบบ
SSCP แตกต่างกันนำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์
(sequence analysis) ด้วยเครื่อง CEQ 8000 Automated
Sequencer จากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์เลือก restriction
enzyme ที่จำเพาะต่อ single nucleotide polymorphisms
(SNPs) ของแต่ละ fragment เพื่อพัฒนาเครื่องหมาย

โมเลกุล DNA อย่างง่าย จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์
ของอัลลีลจากยีน *MC5R* ที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต
ในไก่ประจวบคีรีขันธ์ด้วย general linear model โดยใช้
SPSS software package โดยมีโมเดลทางสถิติที่ใช้
ทดสอบความสัมพันธ์มีรายละเอียดดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Season}_i + \text{Sex}_j + \text{Genotype}_k + e_{ijk}$$

โดย Y_{ijk} คือ ลักษณะสมรรถภาพการเจริญเติบโต
 μ คือ ค่าเฉลี่ยของลักษณะที่ทำการศึกษา
 Season_i คือ fixed effect ของฤดูกาล
 Sex_j คือ fixed effect ของเพศ
 Genotype_k คือ fixed effect ของ genotype
 e_{ijk} คือ error

ผลการทดลอง

ผลผลิต PCR ของยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมือง

จากผลการทดลองได้ ผลผลิต PCR ของยีน
MC5R ที่ได้จากคู่ไพรเมอร์ทั้ง 4 คู่ (*MC5R-1-MC5R-4*)
มีความยาว 443, 479, 493 และ 518 bp ตามลำดับ
(ภาพที่ 1)

Table 1 Primer sequence of *MC5R1-4*.

Primer	Location	PCR Size (bp)	Sequence
<i>MC5R-1</i>	start codon	443	Forward: 5'- CCTCCTACTGATTCTGTAATC -3' Reverse: 5'- TTTTCTGCTCATCTGTACTGG -3'
<i>MC5R-2</i>	start codon - open reading frame	479	Forward: 5'- ATGTCTTCATTAGTCTGTGG -3' Reverse: 5'- TCTTGTTCCTTAATATTGCAC -3'
<i>MC5R-3</i>	open reading frame	493	Forward: 5'- GTTCCTAATCCTGGGCATTG -3' Reverse: 5'- GATGTACAGTGAAACCATGAG -3'
<i>MC5R-4</i>	stop codon	518	Forward: 5'- CACTATGTTTTTACCATGCTG -3' Reverse: 5'- GCCACAGAAATCTTGACAGC -3'

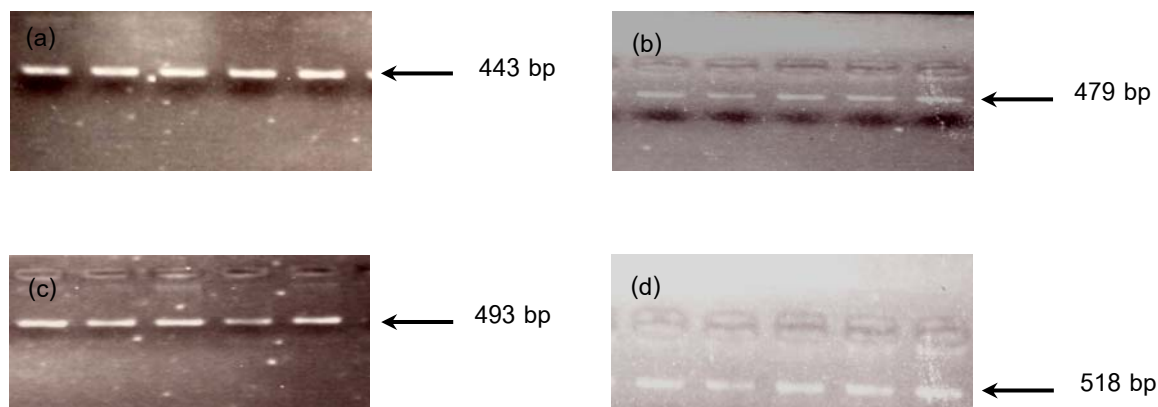


Figure 1 PCR product of (a) *MC5R-1*, (b) *MC5R-2*, (c) *MC5R-3* and (d) *MC5R-4* on agarose gel electrophoresis.

ผลการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล DNA บนยีน *MC5R* ด้วยเทคนิค SSCP

ตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC5R* ด้วยเทคนิค SSCP มีขั้นตอนดังนี้ ผลผลิต PCR ของยีน *MC5R* ทั้ง 4 คู่ไพรเมอร์ จำนวน 2 μ l ถูกผสมกับ SSCP loading buffer จำนวน 8 μ l และนำไป denature ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 5 นาที และแช่ในน้ำแข็งทันที เพื่อรักษาสภาพของ DNA ที่เป็นสายเดี่ยว (single-stranded DNA) จากนั้นนำส่วนผสมดังกล่าวจำนวน 5 μ l load บน non-denaturing gel electrophoresis (ความเข้มข้น 10%) ที่ควบคุมอุณหภูมิ 10°C และกระแสไฟฟ้า 120 V เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง จากนั้นย้อมสีด้วยวิธี silver staining ผลการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุล DNA บนยีน *MC5R* ในเบื้องต้นด้วยเทคนิค SSCP ในไก่พื้นเมืองพบว่า คู่ไพรเมอร์ *MC5R-1* และ *MC5R-3* ให้รูปแบบ SSCP ที่แตกต่างกัน จำนวน 3 รูปแบบ ส่วนคู่ไพรเมอร์ *MC5R-2* และ *MC5R-4* ให้รูปแบบ SSCP ที่ไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 2)

ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมือง

ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างไก่พื้นเมืองที่มีน้ำหนักตัวมาก และไก่พื้นเมืองที่มีน้ำหนักตัวน้อย พบ SNPs จำนวน 3 ตำแหน่ง โดยพบที่บริเวณ 5' flanking region คือ ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ 78(A>G), 249(A>G), 388(T>A)

การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล DNA อย่างง่าย

เครื่องหมายโมเลกุล DNA อย่างง่ายถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้จำแนก genotype ของ SNPs บนยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมือง จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมือง พบ SNPs จำนวน 3 ตำแหน่ง ซึ่งถูกครอบคลุมอยู่ในส่วนไพรเมอร์ *MC5R-1* และเอนไซม์ *Hin6I* สามารถตัดแถบ DNA ดังกล่าวได้ 1 ตำแหน่งคือ นิวคลีโอไทด์ที่ 243 ซึ่งเป็นตำแหน่งที่สอดคล้องกับตำแหน่ง SNPs ที่ 249(A>G) ของยีน *MC5R* ซึ่งปรากฏแถบ DNA ที่มีความยาวดังนี้ (ภาพที่ 3) ส่วนตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ 78(A>G) และ 388(T>A) ไม่พบเอนไซม์ที่สามารถตัดแถบ DNA ดังกล่าวได้

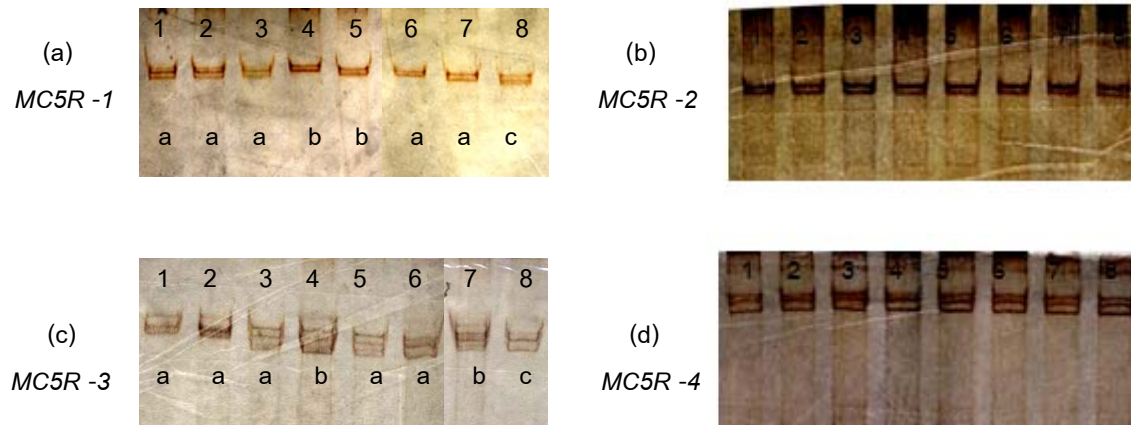


Figure 2 SSCP pattern form PCR products of (a) *MC5R* -1, (b) *MC5R* -2, (c) *MC5R* -3 and (d) *MC5R* -4 on non-denaturing gel electrophoresis.

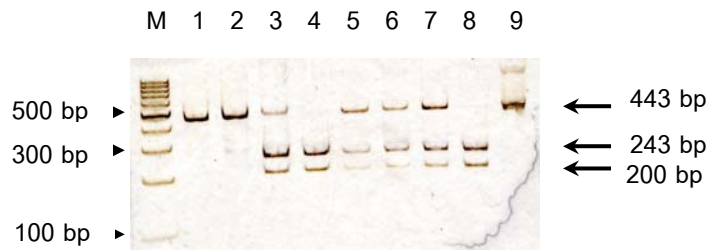


Figure 3 *Hin6I* restriction enzyme digest of *MC5R*-1 with Lane 1,2 and 9 show genotype AA; Lane 3, 5 ,6 and 7 show genotype G/A; Lane 4 and 8 show genotype GG; Lane M show 1kb ladder maker (Fermentus).

ผลการตรวจสอบ genotype ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล DNA ของยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมือง

ผลการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC5R* ที่ตำแหน่ง 249(A>G) ของยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมืองจำนวน 220 ตัว พบว่ามี genotype AA 66 ตัว genotype GA 97 ตัว และ genotype GG 57 ตัว คิดเป็นความถี่ genotype AA, GA และ GG มีค่าเท่ากับ 0.3, 0.44 และ 0.26 ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นความถี่อัลลีล G และ A มีค่าเท่ากับ 0.52 และ 0.48 ตามลำดับ

ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล DNA ของยีน *MC5R* กับสมรรถภาพการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมือง

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล DNA ของยีน *MC5R* กับลักษณะทางการผลิตในไก่พื้นเมืองจำนวน 220 ตัว ซึ่งประกอบด้วย น้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) รวมทั้งความกว้างหน้าอกโดยวัดความกว้างตั้งแต่โคนขาด้านซ้ายถึงโคนขาด้านขวา และความยาวแข้ง พบว่าเครื่องหมาย

โมเลกุล *Hin6I* มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของไก่พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงอายุ 4 สัปดาห์ (0-4, 4-8, 8-16, 16-20) ($P=0.018, 0.011, 0.005, 0.020$ และ 0.043) ตามลำดับ ช่วงอายุ 12 สัปดาห์ (0-12) ($P=0.001$) และช่วงอายุ 24 สัปดาห์ (0-24) ($P=0.020$) โดยไก่พื้นเมืองที่มี genotype เป็น GG มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน สูงที่สุดรองลงมาคือ genotype AA และ genotype AG มีลักษณะทางการผลิตต่ำ (ตารางที่ 3) แต่ความผันแปรของเครื่องหมายโมเลกุล *Hin6I* นั้นไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว (ตารางที่ 2) ความกว้างหน้าอก (ตารางที่ 4) และความยาวแข้งของไก่ (ตารางที่ 5)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการค้นหาความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมือง ซึ่งมีความยาว 2033 bp ถูกเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ให้ได้แถบ DNA ที่มีขนาดประมาณ 4 แถบ (*MC5R-1* ถึง *MC5R-4*) เพื่อใช้ศึกษารูปแบบของแถบ SSCP ที่ปรากฏแตกต่างกัน รวมถึงการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างไก่พื้นเมืองที่มีน้ำหนักตัวมากกับไก่พื้นเมืองที่มีน้ำหนักตัวน้อย พบว่าคู่ไพรเมอร์ *MC5R-1* และ *MC5R-2* ให้รูปแบบ SSCP ที่แตกต่างกันจำนวน 3 รูปแบบ ส่วนคู่ไพรเมอร์ *MC5R-3* และ *MC5R-4* ให้รูปแบบ SSCP ที่ไม่แตกต่างกัน เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบ single nucleotide polymorphisms (SNPs) ในบริเวณ 5' flanking region จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ 78(A>G), 249(A>G) และ 388(T>A) SNP ที่อยู่ใกล้กันมีแนวโน้มที่จะถูกถ่ายทอดไปด้วยกันเป็นชุดโดยไม่เปลี่ยนแปลง (haplotype) โดยเฉพาะเมื่อตรวจ SNP เหล่านั้นในกลุ่มประชากรที่ไม่มีการอพยพหรือเคลื่อนย้าย Takeuchi and Takahashi (1998) รายงานว่ายีน *MC5R* ในไก่พื้นเมืองของประเทศญี่ปุ่นมีการแสดงออกในตับ ไต สมอง เนื้อเยื่อไขมัน ต่อม adrenal gland และ ต่อม uropygial gland ซึ่งมีผลต่อการทำงานของสมอง และ เนื้อเยื่อ peripheral tissues ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ส่วนในมนุษย์ยีน *MC5R* มีการแสดงออกในม้าม ปอด รังไข่

อัณฑะ สมอง ต่อม adrenal cortex ต่อม thymus และ ต่อม pituitary gland (Chhajlani, 1996) และในปลาการ์ตูน *MC5R* มีการแสดงออกในสมอง ผิวหนัง ไต และต่อม pituitary gland (Juriaan *et al.*, 2005)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนยีน *MC5R* ระหว่างไก่ที่มีน้ำหนักตัวมาก และไก่ที่มีน้ำหนักตัวน้อย พบ SNPs จำนวน 3 ตำแหน่ง ในจำนวนนี้ถูกเลือกมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุล DNA อย่างง่าย (PCR-RFLP) จำนวน 1 ตำแหน่ง คือ SNPs ที่ตำแหน่ง 249(A>G) ซึ่งพบว่าสามารถตัดได้ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hin6I* สำหรับการจำแนก genotype ของ SNPs บนยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมืองด้วยการใช้เครื่องหมายโมเลกุล DNA อย่างง่ายถูกพัฒนาขึ้น พบว่าการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hin6I* บนแถบยีน *MC5R-1* นั้น สามารถจำแนก genotype ของ SNPs ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 249 (A>G) ได้รูปแบบ genotype AA, AG และ GG ความถี่อัลลีลของยีนเท่ากับ 0.3, 0.44 และ 0.26 ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นความถี่อัลลีล G และ A มีค่าเท่ากับ 0.52 และ 0.48 ตามลำดับ ในสุกร Kim *et al.* (2000) รายงานว่าพบ SNPs 2 ตำแหน่งบนยีน *MC5R* ที่ตำแหน่ง 303(A>G) และที่ตำแหน่ง 841(C>T) โดย SNPs ที่ตำแหน่ง 303(A>G) ทำให้กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 109 เปลี่ยนจาก Alanine เป็น Threonine (Ala109Thr)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล DNA บนยีน *MC5R* กับลักษณะทางการผลิตในไก่พื้นเมือง โดยพบว่าเครื่องหมายโมเลกุล *Hin6I* มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของไก่พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงอายุ 4 สัปดาห์ (0-4, 4-8, 8-16, 16-20) ($P=0.018, 0.011, 0.005, 0.020, 0.043$) ตามลำดับ ช่วงอายุ 12 สัปดาห์ (0-12) ($P=0.001$) และช่วงอายุ 24 สัปดาห์ (0-24) ($P=0.20$) โดยพบว่าไก่พื้นเมืองที่มี genotype GG มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงที่สุด รองลงมาคือ genotype AA และ genotype A/G มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันต่ำที่สุด ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุล *Hin6I* กับน้ำหนักตัว ความกว้างหน้าอกและความยาวแข้งไม่มีความสัมพันธ์กัน นอกจากนี้ในสัตว์ชนิดอื่นมีรายงานการศึกษาในหนูที่ถูก knockouts ยีน *MC5R* พบว่ามีผล

Table 2 Least square mean (mean $\pm$ standard error) of indigenous chicken body weight.

Weight (Weeks)	No.	Body weight (g)			P-value
		A/A	G/A	G/G	
0	220	32.701 $\pm$ 0.393	33.012 $\pm$ 0.320	32.115 $\pm$ 0.426	0.244
1	220	61.687 $\pm$ 0.951	61.482 $\pm$ 0.784	60.161 $\pm$ 1.027	0.494
2	220	107.677 $\pm$ 1.938	106.930 $\pm$ 1.597	105.01 $\pm$ 2.101	0.637
3	220	154.926 $\pm$ 3.338	157.911 $\pm$ 2.749	149.08 $\pm$ 3.642	0.156
4	220	226.125 $\pm$ 5.376	233.136 $\pm$ 4.479	220.48 $\pm$ 5.853	0.217
5	220	319.647 $\pm$ 7.296	374.934 $\pm$ 5.951	308.401 $\pm$ 7.910	0.249
6	220	401.088 $\pm$ 8.962	414.507 $\pm$ 7.347	408.431 $\pm$ 9.624	0.512
7	220	502.010 $\pm$ 10.715	515.868 $\pm$ 8.596	500.784 $\pm$ 12.170	0.474
8	220	611.593 $\pm$ 13.432	623.275 $\pm$ 10.957	606.797 $\pm$ 14.563	0.624
10	220	835.385 $\pm$ 16.511	838.875 $\pm$ 13.469	838.286 $\pm$ 17.902	0.986
12	220	1108.861 $\pm$ 20.208	1106.820 $\pm$ 16.110	1104.704 $\pm$ 21.347	0.990
14	220	1308.617 $\pm$ 25.077	1318.605 $\pm$ 19.731	1287.378 $\pm$ 25.250	0.622
16	220	1522.317 $\pm$ 28.979	1528.011 $\pm$ 22.898	1514.020 $\pm$ 28.383	0.929
20	220	1856.624 $\pm$ 31.372	1894.087 $\pm$ 25.642	1883.944 $\pm$ 32.843	0.648

Table 3 Least square mean (mean $\pm$ standard error) of indigenous chicken average daily gain (ADG).

Age (Weeks)	No.	ADG (g/d)			P-value
		A/A	G/A	G/G	
0-4	220	7.053 $\pm$ 0.202	6.697 $\pm$ 0.165	7.480 $\pm$ 0.219	0.018*
4-8	220	14.390 $\pm$ 0.414	13.116 $\pm$ 0.339	14.612 $\pm$ 0.454	0.011*
8-12	220	18.066 $\pm$ 0.488	16.447 $\pm$ 0.395	18.320 $\pm$ 0.525	0.005*
12-16	220	15.573 $\pm$ 0.606	13.681 $\pm$ 0.487	15.501 $\pm$ 0.639	0.020*
16-20	220	12.591 $\pm$ 0.675	11.351 $\pm$ 0.520	13.497 $\pm$ 0.700	0.043*
20-24	220	10.317 $\pm$ 0.980	10.293 $\pm$ 0.775	10.153 $\pm$ 0.981	0.991
0-12	220	13.231 $\pm$ 0.307	12.172 $\pm$ 0.249	13.656 $\pm$ 0.331	0.001*
12-24	220	13.058 $\pm$ 0.537	11.805 $\pm$ 0.442	13.309 $\pm$ 0.54	0.066
0-24	220	13.249 $\pm$ 0.415	12.197 $\pm$ 0.342	13.689 $\pm$ 0.448	0.020*

* $P < 0.05$

Table 4 Least square mean (mean $\pm$ standard error) of indigenous chicken breast width.

Age (Weeks)	No.	Breast width (cm)			P-value
		A/A	G/A	G/G	
8	220	4.122 $\pm$ 0.040	4.122 $\pm$ 0.033	4.117 $\pm$ 0.044	0.996
12	220	5.040 $\pm$ 0.042	4.990 $\pm$ 0.033	4.987 $\pm$ 0.044	0.591
16	220	5.810 $\pm$ 0.045	5.780 $\pm$ 0.036	5.817 $\pm$ 0.044	0.781
20	220	6.238 $\pm$ 0.050	6.347 $\pm$ 0.041	6.235 $\pm$ 0.053	0.136
24	220	6.527 $\pm$ 0.061	6.440 $\pm$ 0.048	6.401 $\pm$ 0.062	0.326

Table 5 Least square mean (mean $\pm$ standard error) indigenous chicken leg length.

Age (Weeks)	No.	Leg length (cm)			P-value
		A/A	G/A	G/G	
8	220	5.868 $\pm$ 0.046	5.940 $\pm$ 0.038	5.930 $\pm$ 0.050	0.455
12	220	7.646 $\pm$ 0.055	7.649 $\pm$ 0.044	7.666 $\pm$ 0.058	0.965
16	220	8.992 $\pm$ 0.065	9.061 $\pm$ 0.051	9.064 $\pm$ 0.064	0.651
20	220	9.446 $\pm$ 0.070	9.578 $\pm$ 0.057	9.512 $\pm$ 0.073	0.340
24	220	9.975 $\pm$ 0.087	10.012 $\pm$ 0.068	10.076 $\pm$ 0.088	0.713

ก่อให้เกิดความผิดปกติในการทำงานของต่อม exocrine gland และการลดลงของปริมาณไขมันในขนหนู (Chen *et al.*, 1997) ส่วนความบกพร่องบนยีน *MC5R* ในหนูนั้น ส่งผลต่อพฤติกรรมความก้าวร้าวอย่างเด่นชัด (Morgan and Cone, 2006) ในการศึกษาความผันแปรของยีน *MC5R* ในมนุษย์พบว่ามีความสัมพันธ์กับการสะสมไขมันในร่างกายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Morgan *et al.*, 2004)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *MC5R* ในไก่พื้นเมือง พบ single nucleotide polymorphisms (SNPs) ในบริเวณ 5' flanking region

จำนวน 3 ตำแหน่ง คือ 78(A>G), 249(A>G) และ 388(T>A) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ 249 ถูกตรวจสอบความผันแปรได้ด้วย restriction enzyme *Hin6I* ในไก่พื้นเมือง จำนวน 220 ตัว พบว่าเครื่องหมายโมเลกุล *Hin6I* มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในไก่พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีความถี่ genotype AA, GA และ GG เท่ากับ 0.3, 0.44 และ 0.26 ตามลำดับ คิดเป็นความถี่อัลลีล G และอัลลีล A เท่ากับ 0.52 และ 0.48 ตามลำดับ และพบว่าไก่พื้นเมืองที่มีจีโนไทป์ GG มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันสูงสุด เครื่องหมายโมเลกุลที่ค้นพบนี้อาจเป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรมที่มีศักยภาพสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองเพื่อคัดเลือกลักษณะการเจริญเติบโตต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

- ศิริลักษณ์ พรสุขศิริ เพทาย พงษ์เพียจันทร์ สุภูมิตร เมฆฉาย และสุรภี ทองหลอม. 2539. การประชุมเชิงปฏิบัติการ Molecular genetics in farm animal breeding. ภาควิชาสัตวศาสตร์ และโครงการจัดตั้งศูนย์บริการวิชาการ และเทคโนโลยีเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 20-27 พฤษภาคม 2539. 235 หน้า.
- สุภูมิตร เมฆฉาย. 2548. การปรับปรุงพันธุ์สัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 187 หน้า.
- Beuschlein, F., M. Fassnacht, A. Klink, B. Allolio and M. Reincke. 2001. ACTH-receptor expression, regulation and role in adrenocortical tumor formation. *Eur. J. Endocrinol.* 144: 199-206.
- Carte, I.F. and P.B. Siegel. 1968. Correlation-heritabilities of unselected traits: a check on procedure. *Poultry Sci.* 47: 1821 – 1827.
- Cerda-Reverter, J.M., M.K. Ling, H.B. Schioth and R.E. Peter. 2003. Molecular cloning, characterization and brain mapping of the melanocortin 5 receptor in the goldfish. *J. Neurochemistry.* 10: 1354-1366.
- Chaki, S. and S. Okuyama. 2005. Involvement of melanocortin-4 receptor in anxiety and depression. *Peptides.* 26: 1952-1964.
- Chen, W., M.A. Kelly, X.O. Araya, R.E. Thomas, M.J. Low and R.D. Cone. 1997. Exocrine gland dysfunction in MC5-R deficient mice:

evidence for coordinated regulation of exocrine gland function by melanocortin peptides. *Cell.* 91: 789-798.

- Chhajlani, V. and J.E. Wikberg. 1996. Molecular cloning and expression of the human melanocyte stimulating hormone receptor cDNA. *FEBS Lett.* 309: 417-420.
- Collins, W.M., C.I. Bliss and H.M. Scott. 1950. Genetic selection for breast width in a strain of Rhode Island reds. *Poultry Sci.* 29: 881 – 887.
- Cone, R. D., D. Lu, S. Koppula, D.I. Vage, H. Klungland, B. Boston, W. Chen, D.N. Orth, C. Pouton and R. Kestereson. 1996. The melanocortin receptors: agonist, antagonists, and the hormonal control of pigmentation. *Recent Prog. Horm. Res.* 51: 287-318.
- Desarnaud, F., O. Labbe, D. Eggerickx, G. Vassart and M. Parmentier. 1994. Molecular cloning, function expression and pharmacological characterization of a mouse melanocortin receptor gene. *Biochem. J.* 299: 367-373.
- Jaturasitha, S., T. Srikanthai, M. Kreuzer and M. Wicke. 2008. Differences in carcass and meat characteristics between chicken indigenous to northern Thailand (Black-boned and Thai native) and imported extensive breeds (Bresse and Rhode Island Red). *Poult. Sci.* 87: 160-169.
- Jurjaan, R.M., J. Edwin, W. Geven, H. Erwin and G. Flik. 2005. ACTH, α -MSH, and control of cortisol release: cloning, sequencing, and functional expression of the melanocortin-2 and melanocortin-5 receptor in *Cyprinus carpio*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 289: 814-826.
- Kim, H.S., S. Marklund and M.F. Rothschild. 2000. The porcine melanocortin-5 receptor (MC5R)

- gene: polymorphisms, linkage and physical mapping. *Anim. Genet.* 31: 230-231.
- Malek, Z.A. 2001. Melanocortin receptor: their functions and regulation by physiological agonists and antagonists. *Cell. Mol. Life Sci.* 58: 434-441.
- Morgan, C. and R.D. Cone. 2006. Melanocortin-5 receptor deficiency in mice blocks a novel pathway influencing pheromone-induced aggression. *Behav. Genet.* 36: 291-299.
- Morgan, C., R.E. Thomas and R.D. Cone. 2004. Melannocortin-5 receptor deficiency promotes defensive behavior in male mice. *Hormon. Behav.* 45: 58-63.
- Roselli-Rehfuss, L., K.G. Mountjoy, L.S. Robbins, M.T. Moutrud, M.J. Low, J.B. Tatro, M.L. Entwistle, R.B. Simerly and R.D. Cone. 1993. Identification of a receptor for γ malanotropin and other proopiomelanocortin peptides in the hypothalamus and limbic system. *Pro. Natl. Acad. Sci.* 90: 8856-8860.
- Takeuchi, S. and S. Takahashi. 1998. Melanocortin receptor genes in the chicken-tissue distributions. *Gen. Comp. Endocrinol.* 112: 220-231.
- Voisey, J., L. Carroll and A. Daal. 2003. Melanocortins and their receptors and antagonists. *Current Drug Targets.* 4: 586-597.
-

ผลผลิตไข่และต้นทุนการผลิตลูกของไก่พื้นเมือง ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ที่เลี้ยงในกรงตับ

Egg Production and Chick Production Cost of Indigenous Chicken (Praduhangdum Chiang Mai 1) Raised in Battery Cages

อำนวยการ เลี้ยวธารากุล^{1/} ชาตรี ประทุม^{1/} และ ศิริพันธ์ โมราธบ^{2/}
Amnuay Leotaragul^{1/}, Chatri Prathum^{1/}, and Siripun Morathop^{2/}

Abstract: Data are collected from 360 heads of Praduhangdum Chiang Mai 1 breeding hens, generation 6, being mated by artificial insemination and raised in single battery cages at Chiang Mai Livestock Breeding and Research Center. The result from 1 year laying period revealed that total egg production from month 1 to 6 and month 1 to 12 were 82.32 ± 21.90 , 146.95 ± 34.32 eggs/bird, respectively. Fertility, hatchability from fertile eggs and hatchability from egg set were 82.74 ± 2.96 , 82.39 ± 3.30 and 68.20 ± 3.85 %, respectively. Production cost of 1 day old chicks from breeding hens at 6 and 12 months of laying period were 10.40 and 9.89 baht/bird, respectively.

Keywords: Indigenous chicken, Praduhangdum , egg production, egg incubation, production cost

บทคัดย่อ: ข้อมูลรวบรวมจากแม่ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ ชั่วอายุที่ 6 จำนวน 360 ตัว ที่เลี้ยงในกรงตับขังเดี่ยว ผสมพันธุ์โดยการผสมเทียม เมื่อเลี้ยงไก่จนครบอายุการไข่ 1 ปี พบว่าผลผลิตของไก่เมื่อให้ไข่ได้ 6 และ 12 เดือน เท่ากับ 82.32 ± 21.90 , 146.95 ± 34.32 ฟอง/ตัว ส่วนอัตราการผสมติด อัตราการฟักออกจากไข่มีเชื้อ และ อัตราการฟักออกจากไข่เข้าฟัก เท่ากับ 82.74 ± 2.96 , 82.39 ± 3.30 และ 68.20 ± 3.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับต้นทุนการผลิตลูกไก่อายุ 1 วันเมื่อแม่ไก่ให้ไข่ 6 และ 12 เดือน เท่ากับ 10.40 และ 9.89 บาท/ตัว ตามลำดับ

คำสำคัญ: ไก่พื้นเมือง, ประดู่หางดำ, ผลผลิตไข่, การฟักไข่, ต้นทุนการผลิต

^{1/}ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อ. สันป่าตอง จ. เชียงใหม่ 50120

^{2/}กลุ่มงานวิจัยและพัฒนาสัตว์ปีก กรมปศุสัตว์ กรุงเทพฯ 10400

^{1/}Livestock Breeding and Research Center, Sanpatong, Chiang Mai 50120, Thailand

^{2/}Poultry Development and Research Section, DLD, Bangkok 10400, Thailand

คำนำ

ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 เป็นต้นมา กรมปศุสัตว์ได้ร่วมมือกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ดำเนินการวิจัยโครงการสร้างฝูงไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำสายพันธุ์เชียงใหม่ 1 ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ จนได้ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์แท้ ตามขั้นตอนการสร้างพันธุ์อย่างถูกหลักวิชาการ มีลักษณะประจำพันธุ์ทั้งลักษณะทางคุณภาพ (Qualitative traits) และ ลักษณะทางปริมาณ (Quantitative traits) เช่นเดียวกับไก่พันธุ์แท้ต่าง ๆ ทั่วโลก ซึ่งในแต่ละปีศูนย์ฯ เชียงใหม่ ได้ทำการผลิตลูกไก่พื้นเมืองประดู่หางดำพันธุ์แท้ เพื่อจำหน่ายจำนวนกว่า 50,000 ตัว และ ลูกผสมกว่า 100,000 ตัว ปัจจุบันไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 เป็นที่รู้จักและนิยมเลี้ยงกันมาก เนื่องจากมีสีดาทั้งที่ขนลำตัว ปากและแข้ง ทำให้ลูกไก่ที่เกิดขึ้นไม่ว่าจะเป็นพันธุ์แท้หรือลูกผสมฯ ให้ขนตัว สีแข้ง และสีปากสีดาเช่นเดียวกัน เป็นที่ต้องการของตลาดส่วนใหญ่ของประเทศไทย เนื่องจากผู้บริโภคมั่นใจได้ว่าเป็นไก่พื้นเมืองหรือลูกผสมพื้นเมืองฯจริง เพราะเมื่อชำแหละแล้วแม่สีขนและสีปากจะหายไป แต่สีแข้งยังคงเป็นสีดาอยู่

สำหรับข้อจำกัดอันหนึ่งของไก่พื้นเมืองไทยคือ ให้ไข่จำนวนน้อย ดังรายงานของศิริพันธ์และคณะ (2539) ที่เลี้ยงไก่แบบเชิงกรงตับในระบบฟาร์ม พบว่าไก่พื้นเมืองให้ไข่เท่ากับ 78.24 ± 42.23 ฟองต่อตัวต่อปี ซึ่งสอดคล้องกับที่ นิรัตน์และคณะ (2536) รายงานว่า ไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงในระบบฟาร์ม ให้ไข่เฉลี่ย 81.9 ± 7.6 ฟองต่อตัวต่อปี ขณะที่ สุภารัตน์ (2545) ศึกษาในไก่พื้นเมือง พบว่าจำนวนไข่สะสมเมื่อให้ไข่ถึงอายุ 10 เดือน เท่ากับ 27.25 ฟองเท่านั้น แต่ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ที่เลี้ยงในกรงตับเมื่อสร้างฝูงในชั่วอายุที่ 1 ถึง 5 สามารถให้ไข่ถึง 131 – 144 ฟอง/ปี (อำนวยและอรอนงค์, 2551; อำนวยและคณะ, 2552) จึงทำให้การผลิตไก่พื้นเมืองของไทยมีศักยภาพเพิ่มขึ้นอย่างมาก จากแต่เดิมไม่มีการผลิตไก่พื้นเมืองพันธุ์แท้ที่ฟักออกเป็นชุดและมีจำนวนมากพอที่เกษตรกรจะสามารถนำไปเลี้ยงเพื่อขายพันธุ์หรือเลี้ยงขุนส่งตลาดอย่างต่อเนื่องได้ เปลี่ยนเป็นการผลิตที่มีลูกไก่ออกเป็นรุ่น ๆ ตลอดทั้งปี ก่อให้เกิดอาชีพที่เกี่ยวกับไก่พื้นเมืองที่ยั่งยืนในชุมชน และจากการที่ความต้องการมีจำนวนมาก ทำให้

ปัจจุบันมีการผลิตลูกไก่ในระบบฟาร์มโดยเครือข่ายของศูนย์ฯ ด้วย ซึ่งถ้ามีการศึกษาถึงต้นทุนการผลิตลูกไก่พื้นเมืองพันธุ์นี้ในระบบฟาร์มร่วมกับข้อมูลอื่นๆที่จำเป็น จะทำให้สามารถสร้างความมั่นใจให้แก่เกษตรกรได้มากขึ้น ดังนั้นการศึกษารังนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ หาอัตราการไข่ อัตราการฟักออก และต้นทุนการผลิตลูกของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 เมื่อเลี้ยงในกรงตับในระบบฟาร์มของรัฐบาล

อุปกรณ์และวิธีการ

ในการศึกษาด้านผลผลิตไข่ อัตราการผสมติด และอัตราการฟักออกใช้ข้อมูลจากแม่พันธุ์ไก่พื้นเมืองประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ชั่วอายุที่ 6 จำนวน 360 ตัว ที่เลี้ยงที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ โดยในระยะแรกเกิดจนถึงอายุ 16 สัปดาห์ให้ถูกเลี้ยงแบบปล่อยพื้นชงคอก หลังจากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนกรงตับขังเดี่ยว มีน้ำ-อาหารให้กินแบบเต็มที่ และเสริมหญ้าสดให้กินทุกวัน อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารสำเร็จรูปของไก่ไข่ระยะต่าง ๆ ตามอายุของไก่ และมีการป้องกันโรคโดยให้วัคซีนตามโปรแกรมของกรมปศุสัตว์ ทำการเก็บสถิติการให้ไข่เป็นรายตัว ตั้งแต่เริ่มไข่ฟองแรกจนไข่ครบ 1 ปี ในระหว่างนั้นทำการผสมพันธุ์ด้วยวิธีผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อสดจาก พ่อพันธุ์มาผสมให้กับแม่พันธุ์ที่เลี้ยงขังในกรงตับ บันทึกปริมาณอาหารที่กิน อัตราการตายของแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์ไก่ อัตราการผสมติด และอัตราการฟักออกโดยใช้ตู้ฟักไฟฟ้า

สำหรับการศึกษาต้นทุนการผลิตลูกไก่ ได้ทำการเก็บข้อมูลจากแม่พันธุ์จำนวน 300 ตัว และพ่อพันธุ์จำนวน 40 ตัวตลอดระยะเวลาให้ไข่ 1 ปี แล้วนำมาคำนวณต้นทุนการผลิตลูกไก่อายุ 1 วัน โดยคำนึงถึงทั้งต้นทุนคงที่และต้นทุนผันแปร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. อัตราการไข่

ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำ ตั้งแต่เดือนแรกจนถึงเดือนที่สิบสองของการไข่ ได้สรุปไว้ใน ตารางที่ 1 แม่ไก่ให้ไข่เฉลี่ยอยู่ในช่วง 9.52 – 15.87 ฟอง/ตัว/เดือน

Table 1 Means and standard deviations of monthly and cumulative egg production of Praduhangdum Chiang Mai 1 breeding hens.

Traits (eggs/bird)	Month of laying											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Number of breeding hens (heads) ^y	360	356	351	340	333	319	289	271	259	230	229	227
Monthly egg production												
- Average	15.87	14.66	14.18	13.47	12.43	11.97	11.19	11.72	11.67	11.28	10.41	9.52
- SD	6.85	6.18	5.70	5.91	6.19	5.90	5.78	5.15	4.71	4.03	3.86	3.60
- CV	43.16	42.16	40.19	43.88	49.79	49.29	51.65	43.94	40.36	35.73	37.08	37.82
Cumulative egg production (eggs/bird)												
- Average												
- SD	15.87	30.51	44.65	58.07	70.42	82.32	93.60	105.24	116.67	127.62	137.94	146.95
- CV	6.85	10.70	12.90	15.51	18.80	21.90	24.57	26.35	28.76	29.50	31.61	34.32
	43.16	35.03	28.82	26.62	26.62	26.50	25.70	24.27	24.75	22.49	22.61	23.45

*some breeding hens died or being culled during the experiment

โดยมีแนวโน้มว่าการให้ไข่ลดลงตามลำดับเมื่อเทียบกับเดือนแรก ซึ่งต่างจากการให้ไข่ของไก่พันธุ์ไข่ ที่เดือนแรกจะให้ไข่ 34 % และจะเพิ่มสูงสุดถึง 90 % ในสัปดาห์ที่ 12 แล้วจึงค่อยลดลงจนเหลือ 64 % ในสัปดาห์ที่ 52 (North, 1984) เมื่อรวมการให้ไข่สะสมเป็นเวลา 6 และ 12 เดือนของไก่ชุดนี้พบว่าเท่ากับ 82.32 และ 146.95 ฟอง/ตัวตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการให้ผลผลิตไข่ของไก่พื้นเมืองโดยทั่วไป ดังที่ศิริพันธ์และคณะ (2539) รายงานว่าไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงเชิงกรดในระบบฟาร์ม ให้ไข่ 45.66 ฟองต่อตัวต่อ 6 เดือน และ 78.24 ฟองต่อตัวต่อปี ขณะที่ สุมนและคณะ (2536) พบว่าไก่พื้นเมืองที่ในสภาพขังคอกปล่อยพื้นที่ให้ผลผลิตไข่เท่ากับ 99.07 – 115.39 ฟองต่อตัวต่อปี และเมื่อเทียบกับที่อำนวยและอรอนงค์ (2551) และอำนวยและคณะ (2552) ที่รายงานไว้ว่าไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ช่วงอายุที่ 1 - 5 ให้ผลผลิตไข่ 12 เดือนอยู่ในช่วง 131 – 144 ฟอง/ปี จะเห็นได้ว่าช่วงอายุที่ 6 นี้ไก่ให้ไข่สูงขึ้น 2 – 12 เปอร์เซ็นต์

ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variation, CV) ของผลผลิตไข่อยู่ในช่วง 35.73 – 51.65 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าไก่เล็กฮอร์นที่ Lillpers และ Wilhelmson (1993) ได้รายงานไว้ว่าอยู่ในช่วง 22 – 29 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากไก่ประดู่ เป็นไก่พื้นเมืองซึ่งนอกจากเป็นไก่เนื้อแล้ว ยังเป็นไก่ที่มีถิ่นของการฟักไข่ตามธรรมชาติด้วย

2. อัตราการผสมติดและอัตราการฟักออก

ไก่ประดู่หางดำฯ ที่ผสมพันธุ์โดยการผสมเทียมและฟักไข่ในตู้ฟักไฟฟ้า เมื่อเฉลี่ยจากข้อมูลตลอดระยะเวลา 1 ปี พบว่ามีอัตราการผสมติด 82.74 ± 2.96 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอัตราการฟักออกจากไข่มีเชื้อ และอัตราการฟักออกจากไข่เข้าฟัก มีค่าเท่ากับ 82.39 ± 3.30 และ 68.20 ± 3.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีอัตราการผสมติดใกล้เคียงกับที่ เทวินทร์และคณะ (2550) รายงานว่าไก่พื้นเมืองที่ได้รับการผสมเทียม มีอัตราการผสมติดเท่ากับ 81.33 ± 6.10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอัตราการฟักออกสอดคล้องกับที่ Ensminger (1992) รายงานว่าอัตราการฟักออกจากไข่มีเชื้อของไก่พันธุ์เบา และไก่เนื้อเท่ากับ 90 และ 81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3. อัตราการคัดออก และอัตราการตายของพ่อ-แม่พันธุ์

จากแม่พันธุ์เริ่มต้น จำนวน 360 แม่ เมื่อให้ไข่ได้ครบ 1 ปี พบว่ามีแม่ไก่ตาย 22 ตัว คิดเป็นร้อยละ 6.11 แม่ไก่ถูกคัดออกเนื่องจากป่วยและสุขภาพไม่สมบูรณ์จำนวน 11 ตัว คิดเป็นร้อยละ 3.06 (การคัดออกไม่รวมไก่ที่สุขภาพสมบูรณ์ แต่ถูกคัดออกเนื่องจากสาเหตุอื่นหลักหรือ หยุดไข่ยาวนานเกิน 1 เดือน ฯลฯ) รวมจำนวนไก่ตายและคัดออกเท่ากับ 33 ตัว คิดเป็นร้อยละ 9.17 จะเห็นได้ว่าอัตราการตายของไก่ประดู่ฯ อยู่ในเกณฑ์ปกติคล้ายกับไก่พันธุ์อื่นๆ และใกล้เคียงกับเป้าหมายการเลี้ยงไก่ไข่ที่ควรมีอัตราการตายน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ (Ensminger, 1992)

4. ต้นทุนการผลิตลูกไก่

การเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ไก่พื้นเมืองเพื่อผลิตลูกไก่จำหน่าย ที่จะทำให้สามารถประกอบเป็นอาชีพได้อย่างยั่งยืนนั้น ต้องมีลูกไก่ที่เกิดเป็นรุ่นอย่างต่อเนื่อง และจำนวนลูกเกิดควรมีประมาณ 500 ตัวขึ้นไปต่อรุ่นฟัก จึงจะคุ้มค่าในการกก การเลี้ยงส่งตลาด ซึ่งการผลิตลูกไก่ต่อรุ่นให้ได้จำนวนดังกล่าว ต้องมีแม่พันธุ์ 300 ตัว และพ่อพันธุ์ 40 ตัว, โรงเรือนเลี้ยงไก่ขนาด 120 – 180 ตารางเมตร ตู้ฟักไข่ขนาด 5,000 ฟอง จึงจะทำให้สามารถผลิตลูกไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ได้เฉลี่ยประมาณ 570 – 640 ตัว/สัปดาห์ ซึ่งเมื่อใช้ฐานข้อมูลดังกล่าวมาคำนวณต้นทุนการผลิตลูกไก่ง่ายๆ จะแสดงใน ตารางที่ 3 พบว่า หากเลี้ยงไก่แม่พันธุ์นาน 6 เดือน จะมีต้นทุนการผลิตลูกไก่ 10.40 บาท/ตัว และถ้าเลี้ยงนาน 1 ปี ต้นทุนลูกไก่จะอยู่ที่ 9.89 บาท/ตัว ซึ่งเมื่อเทียบกับราคาขายของลูกไก่ลูกผสมพื้นเมืองฯ ในท้องตลาดทั่วไป ที่มีราคา 14 – 15 บาท/ตัวแล้วจะเห็นได้ว่าการผลิตลูกไก่พื้นเมืองประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 สามารถให้ผลตอบแทนแก่ผู้ผลิตได้ประมาณ 50% และจากการที่ลูกไก่ง่ายๆ เป็นไก่พื้นเมืองพันธุ์แท้ ซึ่งนอกจากจะสามารถจำหน่ายเป็นไก่พันธุ์ได้แล้ว ยังมีคุณภาพและรสชาติของเนื้อไก่ที่ดีกว่า จึงยังสามารถจำหน่ายได้ในราคาที่สูงกว่าลูกผสมด้วย

Table 2 Fertility and hatchability of Praduhangdum breeding hens (Means $\pm$ SD).

Traits	Total/average
No. of observation (eggs)	45,528
Fertility (%)	82.74 $\pm$ 2.96
Hatchability of fertile eggs (%)	82.39 $\pm$ 3.30
Hatchability of egg set (%)	68.20 $\pm$ 3.85

Table 3 Production cost of one day old Praduhangdum Chiang Mai 1 chicks.

Cost items	Laying period of breeding hens	
	1 - 6 months	1 - 12 months
<u>Variable costs</u>		
Breeding cocks (40 heads)	8,000	8,000
Breeding hens (300 heads)	45,000	45,000
Feed for breeding cocks	11,560	23,120
Feed for breeding hens	61,590	123,180
Labor	30,000	60,000
Vaccines and parasitocides	755	1,510
Electricity	12,960	25,920
Equipment	280	560
Total variable costs	170,145	287,290
<u>Fixed costs</u>		
Incubator	2,500	5,000
Housing	2,550	5,100
Total fixed costs	5,050	10,100
Total costs	175,195	297,390
Total chick production (heads)	16,840	30,065
Cost (baht/chick)	10.40	9.89

¹ Cost at October, 2009

Breeding cocks = 200 baht/bird, Breeding hens = 150 baht/bird

Breeding stock diets = 12.18 and 12.50 baht/kg

Incubator = 300,000 baht, Housing = 180,000 baht

สรุป

ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ 1 ที่เลี้ยงในกรงตับ มีผลผลิตไข่ที่สูงกว่าไก่พื้นเมืองทั่วไปที่เลี้ยงในระบบฟาร์ม ถึงกว่า 37 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การผลิตลูกไก่พื้นเมืองพันธุ์แท้ในระบบฟาร์มมีศักยภาพเพิ่มขึ้นอย่างมาก สามารถนำไปสู่การผลิตไก่พื้นเมืองในระดับอุตสาหกรรมได้ โดยหากเริ่มต้นจากการเลี้ยงแม่พันธุ์ 300 ตัว ต้นทุนการผลิตลูกไก่จะอยู่ที่ 9.89 – 10.40 บาท/ตัว ซึ่งสามารถให้ผลตอบแทนแก่ผู้เลี้ยงได้ดี เพราะสามารถจำหน่ายได้ในราคาสูงกว่าไก่ลูกผสมพื้นเมืองที่มีขายในท้องตลาดเนื่องจากข้อได้เปรียบของการเป็นไก่พื้นเมืองพันธุ์แท้ ซึ่งมีคุณภาพเนื้อที่ดีกว่า

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

เทวินทร์ วงษ์พระลับ, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, พิษณุรัตน์ แสนไชยสุริยา, สจ๊วต กัณหาเรียง และ ยุพิน ผาสุก. 2550. การศึกษาผลการผสมติดจากการผสมเทียมโดยน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 3. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. หน้า 180–187.

นิรัตน์ กองรัตนานันท์, รัตนา โชติสังกาศ และ สุภาพร อิศริโยดม. 2536. ผลผลิตไข่และส่วนประกอบฟองไข่ของไก่พื้นเมืองเปรียบเทียบกับของไก่พันธุ์แท้บางพันธุ์. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 161-171.

ศิริพันธ์ โมราถบ, อำนวย เลี้ยวธรากุล และ สวัสดิ์ ธรรมบุตร. 2539. การผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ไก่เนื้อพื้นเมือง สถาบันบำรุงพันธุ์สัตว์

มหาสารคาม 1.อายุและน้ำหนักเมื่อให้ไข่ฟองแรก. ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์ครั้งที่ 15. ประจำปี 2539 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 178 - 192.

สุภารัตน์ ศรีส่วย. 2545. การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจของแม่ไก่พื้นเมือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 60 หน้า.

สุมน โพธิ์จันทร์, นพวรรณ ชมชัย และ ประเสริฐ โพธิ์จันทร์. 2536. การใช้ใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารมันเส้นสำหรับเลี้ยงไก่พื้นเมือง. ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์ครั้งที่ 12. ประจำปี 2536. ณ โรงแรมเมเลีย จ. ประจวบคีรีขันธ์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 153-160.

อำนวย เลี้ยวธรากุล และ อรอนงค์ พิมพ์คำไหล. 2551. การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ. 124 หน้า.

อำนวย เลี้ยวธรากุล, อรอนงค์ พิมพ์คำไหล และ อุดมศรี อินทรโชติ. 2552. การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ 10. ลักษณะภายนอกและลักษณะทางเศรษฐกิจของไก่เมื่อถึงช่วงอายุที่ 5. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 247 - 254

Ensminger, M.E. 1992. Poultry Science. 3rd ed. Interstate Publishers, Inc., Danville, Illinois, USA. 469 p.

Lillpers, K. and M. Wilhelmson. 1993. Age-dependent changes in oviposition pattern and egg production traits in the domestic hen. Poultry Sci. 72 : 2005 – 2011.

North, M.O. 1984. Commercial Chicken Production Manual. 3rd ed. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. USA. 710 p.

สภาวะทางโภชนาการและค่าโลหิตวิทยาในฤดูกาลต่าง ๆ ของม้าแกลบในจังหวัดลำปาง

Nutritive Status and Blood Metabolites in Different Seasons of Pony Horses in Lampang Province

สุนทร วิทยาคุณ^{1/} เจริญ แสงดี^{1/} นรินทร์ กองเงิน^{1/} และ ปิยมาส ด้พันธ์เจริญรัตน์^{1/}
Suntorn Wittayakun^{1/}, Charoen Saengdee^{1/}, Nirandorn Kong-ngeon^{1/} and Piyamas Tancharoenrat^{1/}

Abstract: The objective of the experiment was to evaluate feeding management, feed nutritive value, and blood metabolites of pony horses in Lampang province in different seasons. It was found that feeding offered 1-3 times a day, composed of roughages on dry matter basis 3.95 kg or 1.2 percent of body weight. In addition either dry or high moisture concentrate feed was fed 1.76 kg of dry matter or 0.53 percent of body weight daily. The roughages were hay or green Pangola grass (*Digitaria eriantha*), green paragrass (*Brachiaria mutica*), and green baby corn-top. Crude protein and crude fiber of roughages were similar ($P>0.05$) among the cool, the summer and the rainy seasons. Paragrass in the cool and the rainy seasons as well as baby corn-top in the cool season had crude protein content higher than 10 percent on dry matter basis ($P<0.05$). Other nutrients were varied. The dry concentrate feed had the same amount of crude protein, crude fiber, calcium, and phosphorus in all seasons ($P>0.05$). However calcium and phosphorus in the high moisture concentrate feed in the rainy was higher than that in the summer ($P<0.05$). The roughage to concentrate ratio was approximately 2.24:1. Body weight of the horse the rainy season was not differ from that in the drought, i.e. 332.41 and 324.43 kg ($P>0.05$). No significant difference between seasons was found on blood glucose and blood urea ($P>0.05$). Total protein in blood in the drought was lower than that in the rainy season ($P<0.05$) while blood electrolytes including sodium and chloride were opposite. Seasons had no influence on potassium ($P>0.05$). A small amount of ketone was found in urine.

Keywords: Feeding, nutrition, pony horse, Lampang, blood parameter

^{1/}สาขาวิชาสัตวศาสตร์และประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง อ.เมือง จ.ลำปาง 52000

^{1/}Department of Animal Science and Fishery, Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Lampang Campus, Muang, Lampang 52000, Thailand

บทคัดย่อ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการจัดการให้อาหาร คุณค่าทางโภชนาการของอาหารและค่าโลหิตวิทยาของม้าแกลบในจังหวัดลำปางในฤดูกาลต่าง ๆ ม้าได้รับอาหารเฉลี่ยวันละ 1-3 ครั้ง คิดเป็นปริมาณอาหารหยาบเฉลี่ยวันละ 3.95 กิโลกรัมของน้ำหนักแห้งหรือ 1.2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวและอาหารข้นแบบแห้งหรือเปียกคิดเป็นน้ำหนักแห้งเฉลี่ยวันละ 1.76 กิโลกรัมหรือ 0.53 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ชนิดของอาหารหยาบที่ใช้เลี้ยงม้าทุกฤดูกาลคือ หญ้าแพงโกล่าสด หญ้าแพงโกล่าแห้ง หญ้าขนสด และยอดต้นข้าวโพดฝักอ่อน คุณค่าทางโภชนาการของอาหารหยาบมีโปรตีนหยาบ เยื่อใย ไม่แตกต่างกันทั้งในช่วงฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน ($P>0.05$) ยกเว้นหญ้าขนสดในฤดูหนาวและฤดูฝน และยอดต้นข้าวโพดสดในฤดูหนาวที่มีโปรตีนสูงกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ($P<0.05$) โภชนาอื่นในอาหารหยาบมีความแปรปรวนตามฤดูกาล อาหารข้นแห้งมีวิตามินดี โปรตีนหยาบ เยื่อใย แคลเซียมและฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันทั้ง 3 ฤดูกาล ($P>0.05$) ส่วนอาหารข้นเปียกมีแคลเซียมและฟอสฟอรัสในฤดูฝนสูงกว่าฤดูร้อน ($P<0.05$) สัดส่วนของอาหารหยาบต่ออาหารข้นมีค่าประมาณ 2.24:1 ม้าที่เลี้ยงในฤดูฝนและฤดูแล้งมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยไม่แตกต่างกันคือ 332.41 และ 324.43 กิโลกรัม ($P>0.05$) ระดับน้ำตาลกลูโคสและยูเรียในเลือดม้าในฤดูแล้งและฤดูฝนไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่โปรตีนในเลือดม้าในฤดูแล้งมีค่าน้อยกว่าฤดูฝน ($P<0.05$) อิเล็กโทรไลต์ในน้ำเลือดม้า ได้แก่ โซเดียมและคลอไรด์ในฤดูแล้งมีค่ามากกว่าในฤดูฝน ($P<0.05$) แต่โพแทสเซียมไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) พบสารคิตินเล็กน้อยในปัสสาวะของม้า

คำสำคัญ: การให้อาหาร โภชนาการ ม้าแกลบ ลำปาง ค่าโลหิตวิทยา

คำนำ

การเลี้ยงม้าของไทยมีมากที่สุดในภาคเหนือ โดยเฉพาะในเขตจังหวัดเชียงราย ลำปาง และเชียงใหม่ ตามลำดับ ภาคเหนือมีประชากรม้ามากที่สุดประมาณ 1,558 ตัวหรือ 41.22 เปอร์เซ็นต์ของม้าทั้งหมดในประเทศ มีครัวเรือนที่เลี้ยงม้ามากที่สุดประมาณ 577 ครัวเรือน หรือ 51.43 เปอร์เซ็นต์ของครัวเรือนผู้เลี้ยงม้าทั้งหมดในประเทศ จังหวัดลำปางมีการเลี้ยงม้ามากเป็นอันดับสองของภาคเหนือรองจากจังหวัดเชียงราย (กลุ่มสารสนเทศ และข้อมูลสถิติ ศูนย์สารสนเทศ กรมปศุสัตว์, 2551) "รถม้า" ซึ่งถือเป็นหนึ่งในเอกลักษณ์ที่สำคัญของจังหวัดลำปางที่นักท่องเที่ยวชาวไทยและชาวต่างประเทศรู้จักเป็นอย่างดีนั้น ม้าที่ใช้ในการลากจูงรถมีอายุประมาณ 4 ปีขึ้นไป ม้าส่วนใหญ่มีอายุการใช้งาน 10 ปีหรือมากกว่า ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพการให้อาหารและการจัดการเลี้ยงดู (ผู้จัดการออนไลน์, 2549) ม้าส่วนใหญ่เป็นม้าแกลบหรือม้าแคระ (pony horse) บางส่วนเป็นม้าแข่งที่ถูกปลดจากสนามแข่งม้า ปกติม้าแกลบมีความสูงประมาณ 14.2 แชนด์ (1.44 เมตร) หรือน้อยกว่า และมีน้ำหนักตัว 227-409 กิโลกรัม

(สุนทร, 2550) โอฟาร์และคณะ (2543) รายงานการศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลในประเทศไทยว่ามีผลต่อรูปแบบการผสมพันธุ์ของแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรตในฟาร์มเพาะพันธุ์โดยช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการจัดการผสมพันธุ์คือเดือนมีนาคมถึงตุลาคม อย่างไรก็ตามข้อมูลการศึกษาวิจัยด้านสภาวะทางโภชนาการของอาหารของม้าแกลบในประเทศไทยยังมีจำกัด การศึกษาดังนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณค่าทางโภชนาการของอาหารในฤดูกาลต่าง ๆ รวมทั้งค่าโลหิตวิทยาของม้าแกลบในจังหวัดลำปางเพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับการพัฒนาการจัดการให้อาหารและดูแลสุขภาพม้าแกลบต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเก็บข้อมูลการจัดการให้อาหารม้าในภาพรวมโดยใช้แบบสอบถามควบคู่กับการสัมภาษณ์เกษตรกรผู้เลี้ยงม้าในจังหวัดลำปาง จำนวน 37 ราย

ทำการสุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (purposive sampling) จากฟาร์มผู้เลี้ยงม้าของสมาคมผู้เลี้ยงม้าในจังหวัดลำปาง จำนวน 15 ฟาร์ม เพื่อประเมินคุณค่าทาง

โภชนะของอาหารม้าในช่วงเวลาต่างกัน 3 ฤดูกาล คือ 1) ฤดูร้อนระหว่างเดือน กุมภาพันธ์- พฤษภาคม 2) ฤดูฝนระหว่างเดือน มิถุนายน-กันยายน และ 3) ฤดูหนาวระหว่างเดือน ตุลาคม-มกราคม โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารหยาบและอาหารข้นที่ใช้เลี้ยงม้าแล้วนำมาวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีน หยาบ เยื่อใย แคลเซียม ฟอสฟอรัส และพลังงานรวม (gross energy) (AOAC, 1990) การวิเคราะห์ข้อมูลทำโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ซึ่งมีหุ่นจำลองทางสถิติ (statistical model) คือ $Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$ เมื่อ: Y_{ij} = ค่าสังเกต, μ = overall mean, τ_i = treatment effect, e_{ij} = random error ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป (SAS, 1985)

นอกจากนี้ทำการประเมินน้ำหนักตัวและวัดเส้นรอบอกรวมทั้งทำการเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะของม้าในช่วงเวลาต่างกัน 2 ช่วง คือ 1) ช่วงต้นฤดูฝน ระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม 2550 และ 2) ช่วงฤดูแล้งระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม 2551 การเก็บตัวอย่างเลือดม้าทำโดยเจาะเส้นเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein) หลังม้ากินอาหารประมาณ 2 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาได้แก่ กลูโคส โปรตีน ยูเรีย ซีเดียม โพแทสเซียมและคลอไรด์ โดยวิธี Enzymatic Method และ Kinetic Method ด้วยเครื่อง SYNCHRON LX ® System/Lxi725 (Beckman Coulter Inc, CA, USA) โดยใช้ร่วมกับน้ำยาซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของ Stanbio Laboratory (TX, USA) สำหรับตัวอย่างปัสสาวะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส สารคีโตน และโปรตีนโดยวิธี Rapid determination ด้วยน้ำยา CYBOW™ (reagent strips for urinalysis) ผลิตภัณฑ์ของ DFI CO., Ltd (Republic of Korea) การประเมินน้ำหนักตัวม้าคำนวณโดยใช้สมการ : น้ำหนักตัว (กิโลกรัม) = $\{[\text{ความยาวรอบอก (เซนติเมตร)}]^2 \times \text{ความยาวลำตัว (เซนติเมตร)}\} \div 8717$ (Pilliner, 1999) การวิเคราะห์ข้อมูลส่วนนี้ทำโดยวิธี T-test ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป (SAS, 1985)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการสุ่มสัมภาษณ์การจัดการให้อาหารม้าของเกษตรกรผู้เลี้ยงม้าจำนวน 37 ราย พบว่าเกษตรกรมีม้าในฟาร์มเฉลี่ย 4.50 ตัว ส่วนใหญ่เป็นเพศผู้ (ตารางที่ 1) ม้ามีน้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 328.42 กิโลกรัม ได้รับอาหารวันละ 1-3 ครั้งหรือเฉลี่ย 2.57 ครั้งต่อวัน เกษตรกรให้อาหารหยาบแก่ม้าคิดเป็นน้ำหนักสดเฉลี่ยวันละ 7.79 กิโลกรัมหรือประมาณ 2.37 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว หากคำนวณปรับเป็นน้ำหนักแห้งโดยใช้ค่าเฉลี่ยจากเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของอาหารหยาบทั้งหมดที่วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการพบว่าเกษตรกรให้อาหารหยาบแก่ม้าวันละ 3.95 กิโลกรัมหรือประมาณ 1.20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว NRC (1989) แนะนำว่าม้าที่ถูกใช้งานเบาถึงปานกลางควรกินอาหารหยาบได้ประมาณ 1.0-2.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ซึ่งลักษณะการใช้งานเบาได้แก่ การใส่ยานสำหรับจูงเดินหรือขี่ทั่วไป ส่วนการใช้งานปานกลาง ได้แก่ ใช้ในการเกษตร การไล่ต้อนฝูงสัตว์ การลากจูง เป็นต้น กรณีที่ใช้งานหนักเช่น ม้าแข่ง ควรกินอาหารหยาบลดลงเหลือประมาณ 0.75-1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ม้าลำปางถูกใช้งานปานกลาง ดังนั้นหากอาหารหยาบที่ม้าได้รับเป็นปริมาณที่ม้ากินได้ทั้งหมดคือ 1.0-2.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ก็นับว่าสอดคล้องกับคำแนะนำของ NRC (1989)

เกษตรกรให้อาหารข้นแก่ม้าเฉลี่ยวันละ 2.22 กิโลกรัมหรือประมาณ 0.67 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว หากปรับเป็นหน่วยน้ำหนักแห้งโดยอาศัยค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของอาหารข้นทั้งหมดที่ได้จากผลการวิเคราะห์จะเท่ากับ 1.76 กิโลกรัมหรือประมาณ 0.53 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ซึ่ง NRC (1989) แนะนำว่าม้าที่ถูกใช้งานเบาถึงงานปานกลาง และใช้งานหนัก ควรได้รับอาหารข้นประมาณ 0.5-1.0, 0.75-1.5 และ 1.0-2.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ตามลำดับ ม้าลำปางจัดว่าถูกใช้งานปานกลางจึงควรได้รับอาหารข้นเสริมเพิ่มขึ้นอีกวันละประมาณ 0.22 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวหรือวันละประมาณ 0.72 กิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง

Table 1 Characteristics of pony horse farms and feeding management.

Items	Mean
Pony horse per household, head	4.50±4.25
- Male horse, head	2.19±1.53
- Female horse, head	1.89±2.87
Body weight, kg	328.42±40.93
Feeding frequency, time/day	2.57±0.55
Roughage allowance, as fed basis	
- kg/day	7.79±6.08
- % body weight	2.37
Roughage allowance, dry matter basis	
- kg/day	3.95±2.10
- % body weight	1.20
Concentrate allowance, as fed basis	
- kg/day	2.22±1.93
- % body weight	0.67
Concentrate allowance , dry matter basis	
- kg/day	1.76±0.28
- % body weight	0.53
Roughage : concentrate ratio, dry matter basis	2.24 : 1
Frequency of water consume, time/day	2.47±1.95
Volume of water consume, l/day	27.67±14.04

ม้าลำปางมีความถี่ในการดื่มน้ำ 1-10 ครั้งต่อวันหรือเฉลี่ยประมาณวันละ 2.47 ครั้ง โดยดื่มน้ำเฉลี่ยครั้งละ 17.42 ลิตรหรือประมาณวันละ 43 ลิตร สอดคล้องกับ Cheeke (1999) ที่รายงานว่าม้าโตเต็มวัยมีความต้องการน้ำดื่มวันละประมาณ 30-45 ลิตร

ชนิดของอาหารหยาบที่ใช้เป็นอาหารม้าได้แก่ หญ้าแพงโกล่า (*Digitaria eriantha*) ในสภาพสดและแห้ง (ตารางที่ 2) หญ้าขนสด (*Brachiaria mutica*) และยอดข้าวโพดฝักอ่อนสด (ตารางที่ 3) ปกติอาหารหยาบมักมีโปรตีน (crude protein) ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้งและมีเยื่อใย (crude fiber) สูงกว่า 18 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้ง

ยกเว้นพืชตระกูลถั่วหรือใบพืชบางชนิด ที่มีโปรตีนมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้ง (Jurgens, 1993) อาหารชั้นที่ให้แก่ม้ามีทั้งอาหารชั้นทางการค้าและอาหารชั้นที่เกษตรกรผสมเองทั้งในรูปแบบแห้งและเปียก (ตารางที่ 4)

หญ้าแพงโกล่าสดที่ใช้เลี้ยงม้าในฤดูหนาว ฤดูร้อนและฤดูฝน (ตารางที่ 2) มีระดับโปรตีนหยาบ เยื่อใย และพลังงานรวมไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ในฤดูหนาวมีปริมาณวัตถุดิบแห้งและแคลเซียมต่ำกว่าแต่มีฟอสฟอรัสสูงกว่าในฤดูร้อนและฤดูฝน ($P<0.05$) ปริมาณวัตถุดิบแห้งของอาหารหยาบในภาพรวมมีค่าค่อนข้างสูง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากอาหารที่เกษตรกรคัดเตรียมไว้

Table 2 Nutritive values of Pangola grass (*Digitaria eriantha*) in different seasons, % DM.

Items	Cool	Summer	Rain	P-value
Green Pangola grass				
Dry Matter	34.52 ^a	57.01 ^b	50.36 ^{ab}	0.0253
Crude protein	6.45	7.23	8.11	0.3213
Crude fiber	32.91	31.51	29.99	0.3469
Calcium	0.17 ^a	0.59 ^b	0.61 ^b	0.0047
Phosphorus	0.26 ^a	0.17 ^b	0.15 ^b	0.0006
Gross energy, (Mcal/kg)	3614	3867	3743	0.4102
Pangola grass hay				
Dry Matter	96.43 ^a	87.99 ^a	78.30 ^b	0.0085
Crude protein	7.61	5.97	6.94	0.4275
Crude fiber	26.69	29.57	31.67	0.5493
Calcium	0.23 ^a	1.05 ^b	0.12 ^a	0.0149
Phosphorus	0.09 ^a	0.16 ^b	0.01 ^c	0.0003
Gross energy, (Mcal/kg)	3865 ^a	3935 ^b	3785 ^c	0.0065

^{ab} Means within row with unlike superscripts differ (P<0.05).

Table 3 Nutritive values of green para grass (*Brachiaria mutica*) and green baby corn top among seasons, % DM.

Items	Cool	Summer	Rain	P-value
Green para grass				
Dry Matter	13.10 ^a	38.9 ^b	31.29 ^{ab}	0.1286
Crude protein	13.66 ^a	6.53 ^b	11.07 ^{ab}	0.1106
Crude fiber	24.08	30.62	28.61	0.8332
Calcium	0.49 ^a	0.74 ^b	0.06 ^c	0.003
Phosphorus	0.30 ^a	0.06 ^b	0.10 ^c	0.0001
Gross energy, (Mcal/kg)	3563 ^a	3788 ^b	3784 ^b	0.0051
Green baby corn top				
Dry Matter	22.51	47.20	na	0.0521
Crude protein	11.52	9.90	na	0.4009
Crude fiber	27.08	24.79	na	0.3780
Calcium	0.39 ^a	0.72 ^b	na	0.0040
Phosphorus	0.26	0.22	na	0.1531
Gross energy, (Mcal/kg)	4001	3997	na	0.9977

^{abc} Means within row with unlike superscripts differ (P<0.05). ^{na} Not available data.

Table 4 Nutritive values of dry and high moisture concentrate in different seasons, % DM.

Items	Cool	Summer	Rain	P-value
Dry concentrate				
Dry Matter	88.89	87.66	88.29	0.8276
Crude protein	10.37	9.73	10.95	0.5382
Crude fiber	14.61	18.68	16.76	0.0658
Calcium	2.43	2.45	2.12	0.3747
Phosphorus	0.63	0.67	0.62	0.1166
Gross energy, (Mcal/kg)	3522 ^a	3818 ^b	3902 ^c	0.0001
High moisture concentrate				
Dry Matter	na	72.0	59.98	0.4984
Crude protein	na	9.25	10.28	0.5927
Crude fiber	na	20.15	24.08	0.3032
Calcium	na	0.79 ^a	1.92 ^b	0.0096
Phosphorus	na	0.44 ^a	0.54 ^b	0.0050
Gross energy, (Mcal/kg)	na	3843	3845	0.8491

^{ab} Means within row with unlike superscripts differ ($P < 0.05$). ^{na} Not available data.

ไม่ได้ตัดสดจากแปลงหญ้า ซึ่งเกษตรกรแต่ละรายมีการตัดอาหารหยาบเตรียมไว้เป็นเวลานานแตกต่างกัน ทำให้มีการสูญเสียความชื้นและมีวัตถุแห้งค่อนข้างสูง

หญ้าแพงโกล่าแห้งที่ใช้เลี้ยงม้าทั้ง 3 ฤดู มีระดับโปรตีนและเยื่อใยไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) (ตารางที่ 2) โดยในฤดูร้อนมีแคลเซียม ฟอสฟอรัสและพลังงานรวมมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับในช่วงฤดูกาลอื่น ($P < 0.05$) พืชอาหารสัตว์ในจังหวัดลำปางอาจมีแคลเซียมค่อนข้างแปรปรวนเนื่องจากดินในลำปางบางส่วนจัดเป็นดินชุดสันป่าตองที่มีแร่โดโลไมท์ (dolomite) ซึ่งเกิดจากตะกอนของแคลเซียมและแมกนีเซียมทับถมกันและมีแคลเซียมสูง (กำชัยและคณะ, 2541) ปกติระดับแคลเซียมในพืชอาหารสัตว์ทั่วไปมีค่าเฉลี่ยประมาณ 0.28-2.50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับสภาพของดินและการจัดการเขตกรรม (พิไลพรธนะและคณะ, 2532)

หญ้าขนสดที่ใช้เลี้ยงม้าในฤดูหนาวและฤดูฝน (ตารางที่ 3) มีโปรตีนสูงกว่าช่วงฤดูร้อนอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ระดับเยื่อใยในหญ้านี้ทั้งสามฤดูไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่ในฤดูร้อนมีปริมาณแคลเซียมมากที่สุด ($P < 0.05$) และต่ำสุดในช่วงฤดูฝน ฟอสฟอรัสมีปริมาณสูงสุดในฤดูหนาวแต่ต่ำสุดในฤดูร้อน ($P < 0.05$)

ยอดต้นข้าวโพดฝักอ่อนสดถูกนำมาใช้เป็นอาหารหยาบสำหรับม้าในฤดูร้อนและฤดูหนาวที่ขาดแคลนพืชอาหารสัตว์คุณภาพดี (ตารางที่ 3) มีระดับโปรตีนเยื่อใยและฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกัน ทั้งในฤดูหนาวและฤดูร้อน ($P > 0.05$) ยกเว้นแคลเซียมซึ่งในฤดูร้อนมีมากกว่าในฤดูหนาว ($P < 0.05$)

อาหารข้นแห้งที่ใช้เลี้ยงม้าทั้ง 3 ฤดูเป็นอาหารอัดเม็ดทางการค้ามีโปรตีนหยาบ เยื่อใย แคลเซียมและฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) (ตารางที่ 4) เกษตรกรบางรายนิยมผสมรำละเอียด เมล็ดข้าวโพดหรือกากเต้าหู้สด

ร่วมกับอาหารเม็ดเพื่อลดต้นทุนค่าอาหาร เนื่องจากวัตถุดิบอาหารเหล่านี้หาได้ง่ายในท้อง ถิ่น การเสริมรำละเอียดทำให้ฟอสฟอรัสในอาหารชั้นเพิ่มขึ้น เป็นเหตุให้สัดส่วนแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในอาหารไม่สมดุล ม้าแกลบในจังหวัดลำปางเคยประสบปัญหาการขาดแคลเซียม ทำให้มีอาการกระดูกเปราะบางแตกง่าย ฟันโยก และหน้าบวม เกษตรกรเรียกอาการนี้ว่า “ม้าหน้าโป” จึงมีการเสริมแคลเซียมค่อนข้างสูงในอาหารชั้นเพื่อป้องกันปัญหาดังกล่าว

อาหารชั้นความชื้นสูงหรืออาหารชั้นเปียกพบใช้เป็นอาหารม้าเฉพาะในฤดูร้อนและฤดูฝน (ตารางที่ 4) โดยเกษตรกรบางรายใช้อาหารอัดเม็ดผสมกับรำละเอียดหรือเมล็ดข้าวโพดแล้วเติมน้ำลงไปเล็กน้อยพอหมาด ๆ จากนั้นจึงคลุกให้เข้ากันเพื่อลดความเป็นฝุ่นของอาหาร ก่อนนำไปเลี้ยงม้า ผลการศึกษาพบว่าอาหารชั้นเปียกทั้งสองฤดูกาลมีคุณค่าทางโภชนาใกล้เคียงกัน ($P>0.05$) ยกเว้นแคลเซียมและฟอสฟอรัส ($P<0.05$)

NRC (1989) แนะนำว่าม้าสำหรับการลากจูงควรได้รับโปรตีนหยาบในอาหารทั้งหมดเท่ากับ 10.4 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้ง จากการศึกษาพบว่าอาหารหยาบได้แก่ หญ้าแพงโกล่าสดและแห้งทั้ง 3 ฤดูกาล (ตารางที่ 2) รวมทั้งหญ้าขนสดในฤดูร้อน (ตารางที่ 3) มีโปรตีนหยาบต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์และมีสัดส่วนการให้ค่อนข้างสูง ประกอบกับอาหารชั้นมีโปรตีนหยาบประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้งเท่านั้น (ตารางที่ 2) ดังนั้นเกษตรกรจึงควรพิจารณาเพิ่มระดับโปรตีนในอาหารชั้นสำหรับกรณีของแร่ธาตุ NRC (1989) แนะนำว่าระดับของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารม้าที่ใช้งานลากจูงควรมีค่าเท่ากับ 0.31 และ 0.23 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้งตามลำดับและมีสัดส่วนของแร่ธาตุดังกล่าวเท่ากับ 1.34:1 ผลการศึกษาพบว่าอาหารชั้นแห้งมีระดับแคลเซียมและฟอสฟอรัสเท่ากับ 2.12-2.45 และ 0.62-0.67 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้งหรือคิดเป็นสัดส่วนประมาณ 3.42-3.65:1 ในขณะที่อาหารหยาบทั้งหญ้าแพงโกล่าสด หญ้าแพงโกล่าแห้งและหญ้าขนสดมีแคลเซียมและฟอสฟอรัสเฉลี่ยประมาณ 0.45 และ 0.14 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้งตามลำดับ หากจัดให้ม้าได้รับอาหารหยาบและอาหารชั้นสัดส่วน 50:50 ตามคำแนะนำของ NRC (1989) ม้าจะได้รับแคลเซียม

และฟอสฟอรัสจากอาหารทั้งหมดประมาณ 1.36 และ 0.39 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้งตามลำดับ คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 3.48 : 1 ซึ่งสูงกว่าที่ NRC (1989) แนะนำไว้ Anonymous (2008) รายงานว่าสัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในลูกม้าและม้ารุ่นอาจสูงถึง 3 : 1 และ 6 : 1 ตามลำดับโดยไม่แสดงอาการเป็นพิษ ขณะที่ Cymbaluk *et al.* (1989) รายงานว่าหากลูกม้าได้รับอาหารที่มีแคลเซียมสูงอย่างต่อเนื่องอาจทำให้การพัฒนาของกระดูกผิดปกติ (Developmental orthopedic disease, DOD) สำหรับม้าที่มีอายุมากกว่า 20 ปี หรือม้าสูงอายุ (aged horse) จะมีความต้องการฟอสฟอรัสมากกว่าแคลเซียมจึงควรจำกัดให้ม้าสูงอายุได้รับแคลเซียมไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ของอาหารทั้งหมด เพื่อให้ได้ทำงานปกติ (Anonymous, 2008) ดังนั้นเกษตรกรผู้เลี้ยงม้าควรปรับปริมาณและสัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในอาหารม้าให้เหมาะสมมากขึ้น สำหรับพลังงานรวมในหญ้าแพงโกล่าสดในแต่ละฤดูกาลไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) หญ้าแพงโกล่าแห้งและหญ้าขนสดมีพลังงานรวมสูงสุดในฤดูร้อน ($P<0.05$) อาหารชั้นแห้งมีพลังงานรวมสูงสุดในช่วงฤดูฝน ($P<0.05$)

ค่าเมแทบอลิซึมในเลือดของม้าในช่วงแล้งเปรียบเทียบกับฤดูฝนแสดงดังตารางที่ 5 ม้าในช่วงฤดูฝนมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 332.41 กิโลกรัม ไม่แตกต่างจากช่วงฤดูแล้งที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 324.43 กิโลกรัม ($P>0.05$) ขนาดของความยาวรอบอกและระดับน้ำตาลกลูโคสในน้ำเลือด (plasma) ของทั้งสองฤดูก็ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) กลูโคสในเลือดเป็นตัวบ่งชี้สมดุลของอาหารคาร์โบไฮเดรตที่ม้าได้รับกับการใช้ประโยชน์จากน้ำตาลกลูโคสในร่างกายเนื่องจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ใช้กลูโคสเป็นพลังงานหลัก ปกติม้าแกลบมีระดับกลูโคสในเลือดเฉลี่ยประมาณ 50.4-59.4 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หลังกินอาหารกลูโคสในเลือดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยอาจสูงถึง 117 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรหรือมากกว่าภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากกินอาหาร จากนั้นจึงค่อย ๆ ลดลง (Frape, 1998) ม้าในช่วงฤดูฝนมีระดับโปรตีนในเลือดสูงกว่าในช่วงแล้ง ($P<0.05$) (ตารางที่ 5) ซึ่งอาจบ่งบอกได้ว่าในช่วงฤดูฝนม้าได้รับโปรตีนจากอาหารมากกว่าช่วงแล้ง หากม้าได้รับโปรตีนจากอาหารไม่เพียงพอจะทำให้โปรตีนในเลือดลดลงเพราะ

Table 5 Performances of pony horses and their metabolites in blood and urine between dry and wet periods.

Items	Dry period (February-March)	Wet period (June-July)	P-value
Body performances			
Body weight, kg	324.43	332.41	0.6162
Heart girth, cm	151.14	148.21	0.3473
Body length, cm	123.64 ^a	131.14 ^b	0.0017
Blood metabolites, mg/dl			
Glucose	83.15	80.50	0.5541
Total protein	6.60 ^a	7.40 ^b	0.0002
Urea	17.35	16.95	0.7790
Blood electrolytes, mEq/l			
- Sodium	140.05 ^a	136.20 ^b	0.0001
- Potassium	3.99	4.13	0.2307
- Chloride	107.60 ^a	104.10 ^b	0.0001
Metabolites in urine, mg/dl			
Glucose	negative	negative	na
Ketone	0.21	0.58	na
Protein	18.69	Negative-trace	na

^{ab} Means within row with unlike superscripts differ ($P < 0.05$). ^{na} Not available data.

กรดอะมิโนอิสระที่ได้รับจากอาหารได้แก่ ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไกลซีน เบนิลอะลานีน ทรีโอนีนและแวลีนลดลง (Frape, 1998) ยูเรียในเลือดม้าในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝนมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ซึ่งยูเรียในเลือดมีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนที่ได้รับจากอาหาร หากม้าได้รับโปรตีนเกินความต้องการร่างกายจะเปลี่ยนโปรตีนส่วนเกินเป็นยูเรียและขับออกทางปัสสาวะ (McDonald *et al.*, 2002) ปกติยูเรียในเลือดม้ามีค่าประมาณ 10-20 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Blood and Studdert, 1995)

ค่าอิเล็กโทรไลต์ในน้ำเลือดได้แก่ โซเดียมและคลอไรด์ในช่วงแล้งมีค่ามากกว่าช่วงฤดูฝน ($P < 0.05$) ยกเว้นโพแทสเซียมที่ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) (ตารางที่ 5) โซเดียมและคลอไรด์ทำหน้าที่ร่วมกันในการควบคุมสมดุลของแรงดันออสโมติกและปริมาตรของเหลวภายนอกเซลล์

ในขณะที่โพแทสเซียมทำหน้าที่ควบคุมแรงดันออสโมติกภายในเซลล์และควบคุมค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า (electrical potentials) ของเยื่อหุ้มเซลล์ การสูญเสียโซเดียม คลอไรด์ และโพแทสเซียมมักปะปนมากับปัสสาวะ เหงื่อและของเหลวที่หลังเข้าสู่ระบบลำไส้ Boswell and Schramme (2001) รายงานว่าระดับโซเดียม โพแทสเซียมและคลอไรด์ในเลือดม้าปกติมีค่าประมาณ 132-146, 2.4-4.7 และ 99-109 mEq/L ตามลำดับ อาจกล่าวได้ว่าทั้งในช่วงแล้งและฤดูฝนม้าได้รับโซเดียม โพแทสเซียมและคลอไรด์จากอาหารเพียงพอ

ผลการศึกษาไม่พบกลูโคสในปัสสาวะของม้า แต่พบสารคีโตนเล็กน้อย (ตารางที่ 5) หากม้าได้รับอาหารพลังงานเพียงพอจะไม่พบสารคีโตนในปัสสาวะ (Hillyer and Hillyer, 2001) ผลการศึกษาพบโปรตีนในปัสสาวะ

ม้าในช่วงแล้งเฉลี่ย 18.69 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรแต่ไม่พบในฤดูฝน ปกติอาจพบโปรตีนในปัสสาวะได้และมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่า 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หากโปรตีนในปัสสาวะมากกว่านี้ แสดงว่าอาจมีการอักเสบในไตหรือระบบทางเดินปัสสาวะ (Hillyer and Hillyer, 2001)

สรุป

ม้าแกลบในจังหวัดลำปางได้รับอาหารหยาบประมาณวันละ 1.2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวซึ่งเพียงพอสำหรับม้าที่ถูกใช้งานปานกลาง คุณภาพของอาหารหยาบส่วนใหญ่มีโปรตีน เยื่อใย ไม่แตกต่างกันทั้งในฤดูหนาว ฤดูร้อนและฤดูฝนยกเว้นหญ้าขนสดในฤดูหนาวและฤดูฝนและยอดต้นข้าวโพดสดในฤดูหนาวที่มีโปรตีนสูงกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง โภชนะอื่น ๆ ในอาหารหยาบมีความแปรปรวน ม้าได้รับอาหารข้นในรูปแบบแห้งหรือเปียกคิดเป็นวัตถุดิบแห้งเฉลี่ยวันละ 0.53 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวซึ่งค่อนข้างต่ำ จึงควรได้รับอาหารข้นเสริมอีกประมาณวันละ 0.22 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว อาหารข้นมีวัตถุดิบ โปรตีน เยื่อใยไม่แตกต่างกันในทุกฤดูกาล ม้าได้รับอาหารโปรตีนสูงในช่วงฤดูฝนจึงทำให้โปรตีนในเลือดสูงกว่าช่วงฤดูแล้ง อย่างไรก็ตามม้าอาจได้รับน้ำดื่มไม่เพียงพอในช่วงแล้งทำให้ความเข้มข้นของโซเดียมในเลือดสูง เกษตรกรควรลดระดับแคลเซียมในอาหารทั้งหมดลงให้มีค่าประมาณ 0.31 และ 0.23 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบแห้ง และควรจัดหาน้ำดื่มให้ม้าอย่างเพียงพอวันละ 30-45 ลิตรในทุกฤดูกาล

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ นายอัศวิน พิษณุกุล นายกสมาคมรมม้าจังหวัดลำปาง ม.ร.ว. ชายนพพันธ์ เกษมสันต์ คุณประจักษ์ ไจรมกุล คุณบุญเทพ วงศ์จำ และผู้เลี้ยงม้าของสมาคมรมม้าจังหวัดลำปางทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ ในการเก็บตัวอย่างอาหารและตัวอย่างเลือดม้าสำหรับการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่พิจารณาให้การ

สนับสนุนงบประมาณวิจัยประจำปี 2551 สำหรับการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ ศูนย์สารสนเทศ กรมปศุสัตว์. 2551. ข้อมูลจำนวนปศุสัตว์ในประเทศไทย ปี 2551. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : http://www.dld.go.th/ict/stat_web/yearly/yearly51/stock51.html (29 ตุลาคม 2552).
- กำชัย กาญจนธนเศรษฐ เมธิน ศิริวงศ์, เรวัต จิระสถาวร และ เจริญ เจริญจำรัสชีพ. 2541. การศึกษาชนิดและอัตราของปุ๋ยทางการเกษตรต่อการปรับปรุงสภาพความเป็นกรดของดินที่มีต่อระบบการปลูกข้าวโพดตามด้วยถั่วดำในชุดดินสนป่าตอง. กรมพัฒนาที่ดิน. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://e-library.idd.go.th/library/Abstract/ord/Aful/ F078.pdf> (18 พฤษภาคม 2553).
- ผู้จัดการออนไลน์. 2549. "รถม้า" เสน่ห์เมืองลำปางที่ยังมีลมหายใจ. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล : <http://www.Travel -Manager Online.htm> (19 มิถุนายน 2549).
- พิไลวรรณ พลพิช วลัยกานต์ เจียมเจตเจริญ และนาตยา สีนุรัตน์. 2532. วิถีวิเคราะห์หาแร่ธาตุในอาหารสัตว์ และชี้รั้วฝ่ายวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์, กรุงเทพฯ. 48 น.
- สุนทร วิทยาคุณ. 2550. โภชนศาสตร์และการให้อาหารม้า. จิตวัฒนาการพิมพ์, ลำปาง. 158 หน้า.
- โอฬาร กิจปรีดาบริสุทธิ์ สังวรณ รอดพิทักษ์ สุดารัตน์ อมรศักดิ์ ชยกฤต สีนุสิงห์ อารีย์ ไหลกุล. 2543. การศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลต่อรูปแบบของฤดูแห่งการผสมพันธุ์ของแม่ม้า. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 1-4 กุมภาพันธ์ 2543.
- Anonymous. 2008. Management and Nutrition : Nutrition : Horses : Nutritional Requirement. The Merck Veterinary Manual. (Online).

- Available: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/182602.htm> (April 20, 2008).
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Virginia. 1298 pp.
- Blood, D. C. and V. P. Studdert. 1995. Baillière's Comprehensive Veterinary Dictionary. 5th ed. Baillière Tindall, London. 1123 pp.
- Boswell, J. C. and M. C. Schramme. 2001. Fluid therapy. pp. 228-248. *In*: K. Coumbe (ed.). Equine Veterinary Nursing Manual. Blackwell Science, Oxford.
- Cheeke, P. R. 1999. Applied Animal Nutrition: Feeds and Feeding. Prentice Hall, New Jersey. 524 pp.
- Cymbaluk, N. F., G. I. Christison and D. H. Leach. 1989. Nutrient utilization by limit- and ad libitum-fed growing horses. J. Anim. Sci. 67:414-425.
- Frape, D. 1998. Equine Nutrition & Feeding. 2nd ed. Blackwell Science, Oxford. 564 pp.
- Hillyer, L. L. and M. H. Hillyer, 2001. Laboratory diagnosis. pp. 205-227. *In*: K. Coumbe (ed.). Equine Veterinary Nursing Manual. Blackwell Science. Oxford.
- Jurgens, M. H. 1993. Animal Feeding and Nutrition. 7th ed. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa. 580 pp.
- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh and C. A. Morgan. 2002. Animal Nutrition. 6th ed. Prentice Hall, Harlow. 693 pp.
- NRC. 1989. Nutrient Requirements of Horses. 5th revised ed. National Research Council. National Academies Press, Washington, D. C. 101 pp.
- Pilliner, S. 1999. Horse Nutrition and Feeding. 2nd ed. Blackwell Science, Oxford. 224 pp.
- SAS. 1985. SAS/STAT Guide for Personal Computers. 6th ed. SAS Institute, Inc., North Carolina. 378 pp.
-



ใบบอกรับเป็นสมาชิกวารสารเกษตร
ของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว (ชื่อ).....(สกุล).....

ในฐานะ ☐ ส่วนบุคคล

☐ องค์การ/หน่วยงาน (ชื่อ).....

การสื่อสารที่ติดต่อได้ ☐ โทรศัพท์..... ☐ โทรศัพท์มือถือ.....

☐ แฟกซ์..... ☐ e-mail.....

ที่อยู่ในการจัดส่งวารสาร :

.....

.....

มีความประสงค์ขอรับเป็นสมาชิกวารสารเกษตรเป็นเวลา (เห็นการเป็นสมาชิกตามระยะเวลาที่ต้องการ)

☐ สมาชิก 1 ปี ตั้งแต่ปี..... อัตราค่าสมาชิก 150 บาท

☐ สมาชิก 5 ปี ตั้งแต่ปี..... อัตราค่าสมาชิก 650 บาท

พร้อมนี้ข้าพเจ้าได้จัดส่ง ☐ ธนาณัติ ☐ ตัวแลกเงิน ☐ เงินสด มูลค่า.....บาท

ส่งจ่ายในนาม : คุณวิไลพร ธรรมตา

ที่ทำการไปรษณีย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เชียงใหม่ 50200

หมายเหตุ :

1. ส่งใบบอกรับเป็นสมาชิกวารสารเกษตรไปที่ : กองบรรณาธิการวารสารเกษตร งานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200
2. ท่านที่ประสงค์จะสั่งซื้อวารสารฉบับย้อนหลัง สามารถสั่งซื้อได้ในราคาฉบับละ 60 บาท (รวมค่าจัดส่ง)

JOURNAL OF AGRICULTURE

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Volume 26 No. 2 June 2010

Effects of Radio Frequency on the Milling Quality of Rice

Palakon Sumrerath Suchada Vearasilp Nattasak Krittigamas Dieter von Hörsten

Wolfgang Lücke and Sa-nguansak Thanapornpoonpong.....101

Somatic Embryo Induction in Vetiver Grass (*Vetiveria zizanioides* Nash) var. Songkhla 3

Laddawan Moosikapala and Sompong Te-chato.....107

Yield and Rotenone Content in Derris Root as Affected by Plant Age and Growing Conditions

Aroon Sottikul and Pittaya Srumsiri.....119

Influence of Night Break Treatment on Photosynthetic Rate of *Curcuma alismatifolia* Gagnep.

Phatchari Siritrakulsak Sawit Meechoui and Soraya Ruamrungsri.....127

Collection and Classification of Commercial Strain of Shiitake Mushroom by Molecular Marker, RAPD

Rueankaew Praphruet and Pricha Rattanang.....137

Effect of Calcium and Magnesium Levels on Growth and Development of Chinese Kale Grown in Hydroponics System

Supakid Chaipoot and Soraya Ruamrungsri.....147

Effects of Calcium and Magnesium Levels on Growth and Development of *Vanda* 'Sansai Blue'

Chamaiporn Anuwong and Soraya Ruamrungsri.....157

Genetic Polymorphism of *MC5R* Gene on Growth Rate of Indigenous Chicken (Praduhangdum)

Wittapong Peawong Punnares Ratanapradit and Sanchai Jaturasitha.....163

Egg Production and Chick Production Cost of Indigenous Chicken (Praduhangdum Chiang Mai 1) Raised in Battery Cages

Amnuay Leotaragul Chatri Prathum and Siripun Morathop.....173

Nutritive Status and Blood Metabolites in Different Seasons of Pony Horses in Lampang Province

Suntorn Wittayakun Charoen Saengdee Nirandom Kong-ngeon and Piyamas Tancharoenrat.....179

ISSN 0857-0841