วารสารเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURE

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 37 ฉบับที่ 3 กันยายน - ธันวาคม 2564

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีไบโอฟล็อคและน้ำหมักชีวภาพสำหรับการเลี้ยงปลานิลในที่ร่ม

ศรัณย์ รักษาพราหมณ์ วิจิตรา ตุ้งซี่ และ ณัฐพล ราชูภิมนต์....................................243

การใช้ก๊าซชีวภาพจากมูลสัตว์เป็นพลังงานทดแทนสำหรับเครื่องยนต์ของเครื่องบดข้าวโพดแบบ Hammer Mill

สุชน ตั้งทวีวิพัฒน์ กัญญารัตน์ พวกเจริญ องอาจ ส่องสี และ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล....................................255

การใช้เปลือกกล้วยหมักร่วมกับลูกแป้งและมันเส้นต่อการย่อยได้ของโภชนะ และค่าชีวเคมีของเลือดในแพะเนื้อ

ณรกมล เลาห์รอดพันธ์ วิโรจน์ ลิขิตตระกูลวงศ์ ทศพร อินเจริญ เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ และ สิริวดี พรหมน้อย....................................265

การพัฒนาชุดตรวจโรคเต้านมอักเสบในโคนมด้วยชุดตรวจแถบสีอิมมูโนโครมาโตกราฟิก โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ฉัตรศิริ ศิริวัฒนกุล ธารารัตน์ ซือตอฟ กฤษฎาภรณ์ พริ้งเพราะ และ ทฤษฎี คำหล่อ....................................277

การพัฒนาไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะจากยีน Cytochrome Oxidase I เพื่อตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) เพื่อส่งเสริมการส่งออก

ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ นพรัตน์ บัวหอม....................................289

สารต้านจุลินทรีย์หลากกลุ่มจาก *Streptomyces coerulescens* NN91

นันทวุฒิ นิยมวงษ์....................................305

ผลของการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดต่อความรู้ของผู้เข้ารับการอบรมที่อำเภอเชียงกลาง จังหวัดน่าน

ก้องภพ กุลสาริน จุฑาทิพย์ เฉลิมผล รุจ ศิริสัญลักษณ์ และ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์....................................317

ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่

นำโชค บุญมี พัฒนา สุขประเสริฐ สุวิสา พัฒนเกียรติ และ ศิรส ทองเชื้อ....................................327

การคัดเลือกแอคติโนแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าวที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

รัชนี มิ่งมา และ กรรณิการ์ ดวงมาลย์....................................337

ผลของการให้ปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนต่อคุณภาพของผลเมล่อน

ธีรยุทธ คล้ำชื่น นิยม บัวบาน พันทิพา ลิ้มสงวน และ จันทร์เพ็ญ ชัยมงคล....................................349

การบูรณาการเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศและการมีส่วนร่วมของชุมชนที่มีผลต่อการเพิ่มขึ้น ของพื้นที่ป่าไม้: กรณีศึกษาลุ่มน้ำยาง จังหวัดน่าน

สุประภัทร เขื่อนใจ และ ถาวร อ่อนประไพ....................................359

การตอบสนองของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ต่อปุ๋ยสังกะสีและทองแดงในดินนาต่างชนิด

ณัฐวดี อยู่เจริญกิจ ศุภิฌา ธนะจิตต์ และ สมชัย อนุสนธิ์พรเพิ่ม....................................371

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกและการประเมินพันธุกรรมของดาวเรืองอเมริกัน สายพันธุ์พ่อแม่โดยเทคนิคอาร์เอพีดี

กฤษฎา สุขวิวัฒน์ จุฑามาส คุ้มชัย วีณัน บัณฑิตย์ และ ณัฐา โพธาภรณ์....................................385

ISSN 0857-0841

TCI กลุ่มที่ 1

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เรื่องที่ตีพิมพ์

1. เป็นบทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการ ทางด้านเกษตรศาสตร์และสาขาที่เกี่ยวข้อง

2. ต้องไม่เคยได้รับตีพิมพ์มาก่อน (ต้นฉบับ หรือส่วนหนึ่งส่วนใดของต้นฉบับ) และต้นฉบับต้องไม่ได้อยู่ระหว่างกระบวนการพิจารณาลงตีพิมพ์ในวารสารหรือสิ่งตีพิมพ์อื่นใด

การเตรียมต้นฉบับ

1. **ภาษา** เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ

2. **การพิมพ์**

1) พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษขนาด A4 พิมพ์แนวตั้ง (portrait orientation) ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟต์ เวิร์ด (Microsoft Word for Windows) ตัวอักษรใช้ Cordia New โดยทั่วไปใช้ระยะบรรทัดปกติคือ 1 เท่า หรือ Single กำหนดระยะขอบทั้ง 4 ด้าน 1 นิ้ว (2.5 เซนติเมตร) ความยาวต้นฉบับไม่เกิน 10 - 12 หน้า

2) ชื่อเรื่องให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 18 points พิมพ์ตัวหนา (bold) และจัดกึ่งกลางหน้า กระดาษ สำหรับชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ กำหนดให้อักษรตัวแรกของคำให้พิมพ์ด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ (capital letter)

3) ชื่อผู้เขียนให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 15 points พิมพ์ตัวหนา และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ

4) ที่อยู่และที่อยู่อีเมลของผู้เขียนให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 12 points พิมพ์ตัวเอียงธรรมดา (normal italic) และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ

5) บทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 14 points พิมพ์ตัวธรรมดา (normal) ยกเว้นเฉพาะคำ บทคัดย่อ และ Abstract ให้พิมพ์ตัวหนา และจัดชิดซ้าย

6) เนื้อหาให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 14 points พิมพ์ตัวธรรมดา (normal)

7) หัวข้อหลัก ได้แก่ คำนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผลการทดลองและวิจารณ์ สรุป เอกสารอ้างอิง ให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 16 points พิมพ์ตัวหนา และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ

8) หัวข้อย่อย ให้พิมพ์ตัวหนาและจัดชิดซ้าย

9) คำอธิบายตารางและภาพให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร Cordia New ขนาด 14 points พิมพ์ตัวหนา โดยคำอธิบายตารางให้พิมพ์เหนือตารางและจัดชิดซ้าย ส่วนคำอธิบายภาพให้พิมพ์ใต้ภาพและจัดกึ่งกลางหน้า และคำอธิบายตารางและภาพถ้ามีมากกว่าหนึ่งบรรทัดให้เริ่มต้นพิมพ์บรรทัดถัดมาตรงกับข้อความของบรรทัดแรก

10) หากมีชื่อวิทยาศาสตร์ปรากฏในบทความ ให้เขียนตามหลักเกณฑ์การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ ในครั้งแรกที่ปรากฏชื่อนี้ให้สะกดเต็ม เช่น *Meloidogyne incognita* และหลังจากนั้นถ้ามีการระบุชื่อนี้อีกให้ย่อชื่อสกุล โดยเขียนเป็น *M. incognita*

11) คำว่า *et al.* และ *P* (*P*-value) ให้พิมพ์เอน

ข้อแนะนำการใช้ภาษา

1) ใช้คำศัพท์ตามพจนานุกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน และประกาศของราชบัณฑิตยสภา

2) การเขียนชื่อเฉพาะหรือคำแปลจากภาษาต่างประเทศ ควรพิมพ์ภาษาเดิมของชื่อนั้น ๆ ไว้ในวงเล็บในครั้งแรกที่ปรากฏในบทความ โดยพิมพ์เป็นอักษรตัวพิมพ์เล็กทั้งหมด ยกเว้นชื่อเฉพาะให้พิมพ์เฉพาะอักษรตัวแรกเป็นตัวพิมพ์ใหญ่

3) ไม่ควรใช้ภาษาต่างประเทศถ้ามีภาษาไทยใช้อยู่แล้ว

4) รักษาความสม่ำเสมอในการใช้คำ คำศัพท์ และตัวย่อ โดยตลอดทั้งบทความ

การเรียงลำดับหัวข้อ ให้เรียงตามลำดับดังนี้

1. **ชื่อเรื่อง** (Title) ควรสั้น ชัดเจน และต้องสื่อเป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัย ระบุชื่อเรื่องทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ต้นฉบับที่เป็นภาษาไทยให้พิมพ์ชื่อเรื่องเป็นภาษาไทยก่อน แล้วตามด้วยชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ ต้นฉบับที่เป็นภาษาอังกฤษให้พิมพ์ชื่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษก่อน แล้วตามด้วยชื่อเรื่องภาษาไทย

2. **ชื่อผู้เขียน** ใช้ชื่อผู้เขียนเต็มและระบุชื่อผู้เขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ใส่เครื่องหมายดอกจัน (*) กำกับไว้ที่ท้ายนามสกุลของผู้เขียนที่ให้ติดต่อ (corresponding author)

3. **ที่อยู่ หรือสังกัด** ระบุที่อยู่หรือสังกัดทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ หากที่อยู่หรือสังกัดมีหลายแห่ง ให้พิมพ์ภาษาไทยของที่อยู่หรือสังกัดแห่งแรกก่อนแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษ จากนั้นพิมพ์ภาษาไทยของที่อยู่หรือสังกัดแห่งที่สองแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษ ผู้เขียนมีหลายคนและมีที่อยู่หรือสังกัดแตกต่างกัน ให้ใช้เลขตัวยก (superscript) ที่ต่างกัน กำกับไว้ท้ายนามสกุลของผู้เขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ผู้เขียนคนเดียว หรือหลายคนแต่มีที่อยู่หรือสังกัดเดียวกัน ไม่ต้องใช้เลขตัวยก (superscript) กำกับท้ายนามสกุลของผู้เขียน ผู้เขียนเป็นนักศึกษา ให้ระบุที่อยู่หรือสังกัดตามหลักสูตรของนักศึกษา บรรทัดถัดจากที่อยู่ ให้พิมพ์ที่อยู่อีเมล์ (email address) ของผู้เขียนที่ให้ติดต่อ (corresponding author)

4. **บทคัดย่อ** (Abstract) ควรเป็นเนื้อหาที่สั้น ชัดเจนและเข้าใจง่าย รวมเหตุผลในการศึกษาวิจัย อุปกรณ์ วิธีการ ตลอดจนผลการศึกษาและสรุป ระบุบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ควรเกิน 250 คำ ต้นฉบับที่เป็นภาษาไทยให้พิมพ์บทคัดย่อภาษาอังกฤษก่อน แล้วตามด้วยบทคัดย่อภาษาไทย ต้นฉบับที่เป็นภาษาอังกฤษให้พิมพ์บทคัดย่อภาษาไทยก่อน แล้วตามด้วยบทคัดย่อภาษาอังกฤษ ระบุคำสำคัญ (keywords) ไว้ท้ายบทคัดย่อแต่ละภาษาด้วย คำสำคัญไม่ควรเกิน 5 คำ

5. **เนื้อหา** (Text) **ประกอบด้วย**

5.1 **คำนำ** (Introduction) แสดงความเป็นมาและเหตุผลที่นำไปสู่การศึกษาวิจัย อาจรวมการตรวจเอกสาร (review of literature) และวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยไว้ด้วย

5.2 **อุปกรณ์และวิธีการ** (Materials and Methods) ให้บอกรายละเอียดของวัสดุ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ ในการทดลอง ตลอดจนวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ และแบบจำลองการศึกษาวิจัยที่ชัดเจนและสมบูรณ์

5.3 **ผลการทดลองและวิจารณ์ หรือ ผลการศึกษาและวิจารณ์** (Results and Discussion) ให้บรรยายผลการศึกษาวิจัย พร้อมเสนอข้อมูลในรูปแบบตารางหรือภาพประกอบได้ โดยตารางหรือภาพ รวมทั้งคำอธิบายให้จัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด ถ้ามีตารางหรือภาพในบทความให้อ้างตารางหรือภาพนั้นในเนื้อหาด้วยโดยใช้เป็นภาษาอังกฤษ เช่น Table หรือ Figure สำหรับการวิจารณ์ ควรเชื่อมโยงกับผลการศึกษาว่าสอดคล้องกับสมมุติฐาน หรือแตกต่างไปจากผลงานวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหรือไม่อย่างไรและด้วยเหตุใด โดยมีพื้นฐานการอ้างอิงที่เชื่อถือได้

5.4 **สรุป** (Conclusion) เป็นการสรุปผลที่ได้รับจากการศึกษาวิจัย อาจมีข้อเสนอแนะ หรือระบุอุปสรรคและแผนงานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไป

5.5 **กิตติกรรมประกาศ** (Acknowledgement) อาจมีหรือไม่มีก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ให้ทุนวิจัย หรือผู้ที่ช่วยเหลือในงานวิจัย แต่ไม่ได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย

5.6 **เอกสารอ้างอิง** (References) ให้เรียงเอกสารตามตัวอักษรอังกฤษ

หลักการอ้างอิงและการเขียนเอกสารอ้างอิง

สืบเนื่องจากวารสารเกษตรมีความประสงค์ที่จะพัฒนาคุณภาพวารสารเพื่อปรับเข้าสู่ฐานข้อมูล ACI (ASEAN Citation Index) ซึ่งมีข้อกำหนดเกี่ยวกับรูปแบบในการจัดทำ เอกสารอ้างอิง (reference) โดยต้องจัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด ทั้งในเนื้อเรื่องและท้ายบทความ โดยหลักการอ้างอิงและการเขียนเอกสารอ้างอิง มีดังนี้

1. **การอ้างอิงในเนื้อเรื่อง** ระบบที่ใช้ในการอ้างอิงคือ ระบบชื่อ และปี (Name-and-year System) ให้ใช้ ชื่อสกุล และปี ค.ศ ดังนี้

1.1 ผู้เขียน มี 1 คน ตัวอย่าง Kubo (2003) รายงานว่า……หรือ……(Kubo, 2003)

1.2 ผู้เขียนมี 2 คน ให้ใช้คำว่า and คั่นกลาง ตัวอย่าง Muthita and Kuanprasert (2004) รายงานว่า……หรือ……(Muthita and Kuanprasert, 2004)

1.3 ผู้เขียนมีมากกว่า 3 คน ให้ใช้ชื่อคนแรกและตามด้วยคำว่า *et al.* ตัวอย่าง Bukhari *et al.* (2011) รายงานว่า……หรือ……(Bukhari *et al.*, 2015)

1.4 กรณีมีหลายรายงานอ้างอิงในเรื่องเดียวกัน ให้เรียงลำดับตามตัวอักษรภาษาอังกฤษ และใช้ (;) คั่นกลาง ตัวอย่าง (Bukhari *et al.* (2011); Kubo (2003); Muthita and Kuanprasert (2004))

1.5 กรณีผู้แต่งเดียวกัน และปีพิมพ์เดียวกัน ให้เพิ่มตัวอักษร a b c ต่อท้ายปี
ตัวอย่าง Tangtaweewipat *et al.* (2011a)……Tangtaweewipat *et al.* (2011b)……

1.6 กรณีผู้แต่งเดียวกัน แต่ปีพิมพ์ต่างกัน ให้เรียงลำดับตามปีพิมพ์
ตัวอย่าง (Tangtaweewipat *et al.* 2009; Tangtaweewipat *et al.* 2018)

(ดูคำแนะนำการเขียนเอกสารอ้างอิง การส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ และการพิจารณาบทความได้ที่ปกหลังด้านใน)

วารสารเกษตร
JOURNAL OF AGRICULTURE

ผู้จัดพิมพ์	คณะเกษตรศาสตร์	Publisher	Faculty of Agriculture,
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
กำหนดการพิมพ์	วารสารราย 4 เดือน (3 ฉบับ/ปี) คือ	Publication	Tri-annually
	ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน		Issue 1 January-April
	ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม		Issue 2 May-August
	ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม		Issue 3 September-December
วัตถุประสงค์	เพื่อเผยแพร่วิทยาการด้านการเกษตร	Objective	To disseminate academic knowledge in
	และสาขาที่เกี่ยวข้อง		agriculture and related fields

ที่ปรึกษา	คณบดีคณะเกษตรศาสตร์	Consultants	Dean, Faculty of Agriculture; Associate
	รองคณบดีฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ		Dean for Research and Academic Services
บรรณาธิการ	รศ.ดร. ณัฐา โพธาภรณ์	Editor	Nuttha Potapohn, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
รองบรรณาธิการ	ผศ.ดร. ชูชาติ สันธทรัพย์	Vice Editor	Choochad Santasup, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
กองบรรณาธิการ	ผศ.ดร. ต่อนภา ผุสดี	Editorial Board	Tonapa Pusadee, Ph.D., Assist. Prof.
ฝ่ายวิชาการ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	(Academic)	Chiang Mai University
	รศ.ดร. รุจ ศิริสัญลักษณ์		Ruth Sirisunyaluck, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	ผศ.ดร. บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล		Budsara Limnirankul, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	รศ.ดร. ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย		Chanakan Thebault Prom-u-thai, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	รศ.ดร. พิชญา พูลลาภ		Pichaya Poonlarp, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	ผศ.ดร. เยาวลักษณ์ จันทร์บาง		Yaowaluk Chanbang, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	ผศ.ดร. อรอุมา เรืองวงษ์		On-Uma Ruangwong, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	ผศ.ดร. ฉันทลักษณ์ ติยายน		Chantalak Tiyayon, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	ผศ.ดร. พิมพ์ใจ สีหะนาม		Pimjai Seehanam, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	ผศ.ดร. จิรวรรณ กิจชัยเจริญ		Jirawan Kitchaicharoen, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	ผศ.ดร. เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ		Saowaluck Yammuen-art, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University

	ผศ.ดร. มินตรา ศีลอุดม		Mintra Seel-audom, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่		Chiang Mai University
	รศ.ดร. ไสว บูรณพานิชพันธุ์		Sawai Buranapanichpan, Ph.D., Assoc. Prof.
	ข้าราชการเกษียณอายุ		Retired government official
	ศ.ดร. จรัญ จันทลักขณา		Charan Chantalakhana, Ph.D., Prof.
	ข้าราชการเกษียณอายุ		Retired government official
	ศ. ญาณวิทย์ ดร. เมธา วรรณพัฒน์		Metha Wanapat, Ph.D., Prof.
	มหาวิทยาลัยขอนแก่น		Khon Kaen University
	ศ.ดร. อังศุมาลย์ จันทราปัตย์		Angsumarn Chandrapatya, Ph.D., Prof.
	ข้าราชการเกษียณอายุ		Khon Kaen University
	ศ.ดร. สุชีลา เตชะวงค์เสถียร		Suchila Techawongstien, D.Agr., Prof.
	ข้าราชการเกษียณอายุ		Retired government official
	ศ.ดร. ธวัชชัย ศุภดิษฐ์		Tawadchai Suppadit, Ph.D., Prof.
	สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์		National Institute of Development Administration
	รศ.ดร. เสวียน เปรมประสิทธิ์		Savent Pampasit, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยนเรศวร		Naresuan University
	รศ.ดร. วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ		Weerathep Pongprasert, Ph.D., Assoc. Prof.
	ข้าราชการเกษียณอายุ		Retired government official
	รศ.ดร. เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล		Petcharat Thummabenjapone, Ph.D., Assoc Prof.
	มหาวิทยาลัยขอนแก่น		Khon Kaen University
	รศ. บำเพ็ญ เขียวหวาน		Bumpen Keowan, M.S., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมธิราช		Sukhothai Thammathirat Open University
	รศ.ดร. เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน		Kriangsak Mengumphan, Ph.D., Assoc. Prof.
	ข้าราชการเกษียณอายุ		Retired government official
	รศ.ดร. ธีรนุช เจริญกิจ		Theeranuch Jaroenkit, Ph.D., Assoc. Prof.
	มหาวิทยาลัยแม่โจ้		Maejo University
	ผศ.ดร. ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร		Pathipan Sutigoolabud, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยแม่โจ้		Maejo University
	ผศ.ดร. เพ็ญพร เจนการกิจ		Penporn Janekarnkij, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์		Kasetsart University
	ผศ.ดร. ไชยวรรณ วัฒนจันทร์		Chaiyawan Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์		Prince of Songkla University
	ผศ.ดร. เสาวคนธ์ วัฒนจันทร์		Saowakon Wattanachant, Ph.D., Assist. Prof.
	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์		Prince of Songkla University
กองบรรณาธิการ	นางลาลิตยา นุ่มมีศรี	Editorial Board	Lalitaya Nummisri
ฝ่ายการจัดการ	นายมานพ เปี้ยพรรณ์	(Management)	Manop Pearpun
	นางสาววันวิสา บุตรอินทร์		Wanvisa Butin

บทบรรณาธิการ

วารสารเกษตรฉบับนี้เป็นวารสารเกษตรปีที่ 37 ฉบับที่ 3 ประจำเดือนกันยายน - ธันวาคม พ.ศ. 2564 ทางกองบรรณาธิการขอแจ้งข่าวดีให้สมาชิกทุกท่านทราบ ศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai Journal Citation Index-TCI) ได้ทำการประเมินคุณภาพวารสารที่ส่งเข้ารับการประเมินเสร็จเรียบร้อย โดยวารสารเกษตรได้ถูกปรับจากวารสารกลุ่มที่ 2 เป็น**วารสารกลุ่มที่ 1** ประกาศเมื่อวันที่ 30 มิถุนายน 2564 โดยมีระยะเวลาการรับรองคุณภาพวารสาร ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2564 ไปจนถึง วันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2567

วารสารที่ท่านได้อ่านอยู่นี้เป็นฉบับสุดท้ายของปีที่ 37 ประกอบด้วยบทความจำนวน 13 บทความ มีทั้งสาขาสัตวศาสตร์ จำนวน 4 บทความ สาขากีฏวิทยาและโรคพืช จำนวน 2 บทความ สาขาส่งเสริมการเกษตร 2 บทความ สาขาปฐพีศาสตร์ จำนวน 4 บทความ และสาขาพืชสวน จำนวน 1 บทความ โดยวารสารเกษตรฉบับนี้เป็นฉบับสุดท้ายในการตีพิมพ์รูปเล่มวารสาร และในปีที่ 38 ที่จะถึงนี้ ทางวารสารจะมีการปรับเปลี่ยนกระบวนการทำงานของวารสารเกษตร เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานของศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย โดยมีการปรับอัตราค่าธรรมเนียมการตีพิมพ์บทความในวารสารเกษตร และการเพิ่มจำนวนผู้ทรงคุณวุฒิในการตรวจประเมินบทความเป็นจำนวนไม่น้อยกว่า 3 ท่าน ต่อบทความ ตามประกาศ ก.พ.อ. หลักเกณฑ์และวิธีการพิจารณาแต่งตั้งบุคคลให้ดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ รองศาสตราจารย์ และศาสตราจารย์ (ฉบับที่ 4) พ.ศ. 2564 ซึ่งจะเผยแพร่แบบออนไลน์ผ่านทางเว็บไซต์ของวารสารเกษตร https://li01.tci-thaijo.org/index.php/joacmu/index ทางกองบรรณาธิการขอขอบคุณทุกท่านที่ได้ส่งผลงานวิจัยมาตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารเกษตร และหวังว่าทางวารสารจะได้รับโอกาสตีพิมพ์ผลงานของท่านต่อไปอีก ขอให้ทุกท่านรักษาสุขภาพห่างไกลจากโควิด-19 ด้วยนะคะ แล้วพบกันใหม่ฉบับหน้าค่ะ

รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐา โพธาภรณ์
บรรณาธิการวารสารเกษตร

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีไบโอฟล็อคและน้ำหมักชีวภาพสำหรับการเลี้ยงปลานิลในที่ร่ม

Biofloc Technology and Bio-extract Applications for Indoor Culture of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

ศรัณย์ รักษาพราหมณ์* **วิจิตรา ตุ้งซี่ และ ณัฐพล ราชูภิมนต์**
Sarun Rucksapram*, Wijittra Tungse and Natthaphon Rachuphimon

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จ. สงขลา 90000
Agricultural Technology Program, Faculty of Agricultural Technology, Songkhla Rajabhat University, Songkla 90000, Thailand
**Corresponding author: Email: sarun.ru@skru.ac.th*

(Received: 21 June 2021; Accepted: 8 August 2021)

Abstract: This research aimed to study growth, survival rate and food conversion ratio of tilapia size 2.7 - 3 centimeter, and water quality analysis in various culture systems. The experimental arrangement was a completely randomized design with 4 treatments and 3 replications as follows: treatment I; cultured with normal system (control), treatment II; cultured with biofloc system, treatment III; cultured with bio-extract and treatment IIII; cultured with biofloc system + bio-extract. The cultivation period was 8 weeks. At the end of the experiment, the results showed that the tilapia culture with biofloc system (treatment II) was the best culture system. As a result, the tilapia showed good growth, high survival rate and low food conversion ratio; and we can treat ammonia without water changes therefore making cost savings. But we may need to control the number of suspended solids in the water, not exceeding 500 milligrams per liter. We should also control the pH levels, not to go below 6.5. We also found the flocs contained 21 % protein of the dry weight. There were many species of plankton: *Vorticella* sp., *Paramecium* sp., *Euchlanis* sp., *Rotaria* sp., *Amoeba* sp., *Arcella* sp., *Scenedesmus* sp., *Euglypha* sp., rotifers, *Brachionus* sp., *Centropysis* sp., *Prorodon* sp., *Trichocerca* sp. and *Bdelloidea* sp. all of which were living feed that the tilapia can eat any time.

Keywords: Biofloc technology, bio-extract, Nile tilapia

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และอัตราการแลกเนื้อของปลานิล ขนาด 2.7 - 3 เซนติเมตร และการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในระบบการเลี้ยงรูปแบบต่าง ๆ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ กำหนดเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเลี้ยงปลานิลด้วยระบบปกติ (ชุดควบคุม) ชุดการทดลองที่ 2 การเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อค ชุดการทดลองที่ 3 การเลี้ยงปลานิลด้วยน้ำหมักชีวภาพ และชุดการทดลองที่ 4 การเลี้ยงปลานิลด้วยระบบไบโอฟล็อคร่วมกับน้ำหมักชีวภาพ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า การเลี้ยงปลานิลด้วยระบบไบโอฟล็อค (ชุดการทดลองที่ 2) เป็นระบบการเลี้ยงที่ดีที่สุด ส่งผลให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตดี อัตราการรอดตายสูง อัตราการแลกเนื้อต่ำ และสามารถบำบัดแอมโมเนียได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำ ทำให้ประหยัดต้นทุน แต่อาจจะต้องควบคุมปริมาณสารแขวนลอยในน้ำไม่ควรเกิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และควบคุมระดับ pH ไม่ให้ต่ำกว่า 6.5 และพบว่า ตะกอนจุลินทรีย์มีโปรตีน 21 % ของน้ำหนักแห้ง มีแพลงก์ตอนหลายชนิด ได้แก่ *Vorticella* sp., *Paramecium* sp., *Euchlanis* sp., *Rotaria* sp., *Amoeba* sp., *Arcella* sp., *Scenedesmus* sp., *Euglypha* sp., rotifers, *Brachionus* sp., *Centropysis* sp., *Prorodon* sp., *Trichocerca* sp. และ *Bdelloidea* sp. ซึ่งเป็นอาหารที่ปลานิลสามารถกินได้ตลอดเวลา

คำสำคัญ: เทคโนโลยีไบโอฟล็อค น้ำหมักชีวภาพ ปลานิล

คำนำ

ระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำปัจจุบันจะมีการเลี้ยงที่ระดับความหนาแน่นสูง เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มากขึ้น ส่งผลให้มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปริมาณมากเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม โดยเฉพาะปริมาณแอมโมเนียในบ่อเลี้ยง ซึ่งมักจะเกิดของเสียมาจากการให้อาหารในปริมาณที่มากเกินไป หรืออาจจะมาจากการขับถ่ายของตัวสัตว์น้ำเอง หรือขับถ่ายออกมาทางเหงือกของสัตว์น้ำ (Wood, 1993) ซึ่งแอมโมเนียมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ อาจทำให้สัตว์น้ำอ่อนแอ หรือทำให้สัตว์น้ำตายได้ หากมีความเข้มข้นสูง และของเสียจากกิจกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังสามารถส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม หากมีการปล่อยน้ำนั้นลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่การเลี้ยงสัตว์น้ำในอนาคตต้องปรับเปลี่ยนวิธีการเลี้ยงให้เป็นระบบปิด เพื่อประหยัดต้นทุนในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ พร้อมทั้งทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตที่ดี มีผลผลิตสูง และระหว่างการเลี้ยงสามารถบำบัดไนโตรเจนภายในบ่อเลี้ยงได้ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาเทคนิคการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อค (biofloc technology) หรือระบบตะกอนจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นการใช้จุลินทรีย์ในน้ำมาจับกับแอมโมเนียแล้วให้เปลี่ยนรูปเป็นโปรตีน (Wanakanapol, 2013) ร่วมกับการใช้น้ำหมักชีวภาพ ส่งผลให้เป็นประโยชน์ต่อสัตว์น้ำแทน ดังนั้น เทคโนโลยีไบโอฟล็อคและการใช้น้ำหมักชีวภาพ มีข้อดีหลายประการ เช่น สัตว์น้ำสามารถเจริญเติบโตได้ดี ลดการใช้ยาและสารเคมี ประหยัดต้นทุนค่าอาหาร ประหยัดต้นทุนค่าเปลี่ยนถ่ายน้ำ ทำให้คุณภาพน้ำดี (Wang *et al*., 2015) ช่วยลดปัญหามลพิษจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ นอกจากนั้น เทคโนโลยีไบโอฟล็อค และการใช้น้ำหมักชีวภาพ ยังเป็นระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบยั่งยืน (Mugwanya *et al*., 2021) และเป็นระบบเกษตรอินทรีย์ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งได้มีผู้วิจัยทดลองการใช้เทคโนโลยีไบโอฟล็อคในการเลี้ยงปลานิล พบว่าส่งผลให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตที่ดี มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำ อัตรารอดสูง และสามารถช่วยควบคุมความเข้มข้นของแอมโมเนีย และไนไตรท์ได้ (Azim and Little, 2008; Sittplangkoon *et al*., 2012)

ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงทำการทดลองเลี้ยงปลานิล 4 ระบบ คือ การเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อคร่วมกับการใช้น้ำหมักชีวภาพ การเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อคเพียงอย่างเดียว และการเลี้ยงปลานิลด้วยการใช้น้ำหมักชีวภาพเพียงอย่างเดียว โดยมีกลุ่มควบคุม (negative control)

ที่มีการเลี้ยงปลานิลด้วยระบบปกติซึ่งไม่มีการใช้น้ำหมักชีวภาพและเทคโนโลยีไบโอฟล็อค เพื่อเปรียบเทียบระบบการเลี้ยงที่ทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตดี อัตรารอดสูง และมีคุณภาพน้ำที่เหมาะสม และศึกษาสิ่งมีชีวิตในตะกอนจุลินทีย์ และองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของตะกอนจุลินทรีย์ รวมทั้งวิเคราะห์ต้นทุนการเลี้ยงปลานิลในระบบการเลี้ยงต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) โดยกำหนดเป็น 4 ชุดการทดลอง ตามรูปแบบในการเลี้ยง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (replication) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 การเลี้ยงปลานิลแบบปกติ (ชุดควบคุม) (T_1)

ชุดการทดลองที่ 2 การเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อค (T_2)

ชุดการทดลองที่ 3 การเลี้ยงปลานิลด้วยน้ำหมักชีวภาพ (T_3)

ชุดการทดลองที่ 4 การเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อคร่วมกับน้ำหมักชีวภาพ (T_4)

2. การดำเนินการทดลอง

2.1 การเตรียมตู้และน้ำในการทดลอง: ใช้ตู้กระจกขนาด 18 x 30 x 18 นิ้ว จำนวน 12 ตู้

- ระบบการเลี้ยงปลานิลแบบปกติ (ชุดควบคุม: T_1) และระบบการเลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพ (T_3) เติมอากาศในตู้ทดลองโดยใช้หัวทราย 1 หัว และใช้ชุดกรองตะกอน 1 ชุด

- ระบบการเลี้ยงด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อค (T_2) และระบบการเลี้ยงด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล๊อคร่วมกับน้ำหมักชีวภาพ (T_4) เติมอากาศในตู้ทดลองโดยใช้หัวทราย 1 หัว และใช้ air lift 2 ตัว เพื่อให้น้ำเกิดการเคลื่อนไหวทำให้จุลินทรีย์เกิดการฟุ้งกระจายทั้งตู้ การเตรียมตะกอนจุลินทรีย์ โดยการเตรียมน้ำลงถัง PE ขนาด 1000 มิลลิลิตร ใช้ air lift 4 ตัว ละลายสารอาหารคนให้เข้ากัน (อาหารปลาดุก 200 กรัม กากน้ำตาล 100 มิลลิลิตร และน้ำหมักชีวภาพ 100 มิลลิลิตร) ตรวจสอบตะกอนจุลินทรีย์ทุกวันด้วย Imhoff cone เมื่อได้ระดับตะกอนจุลินทรีย์ที่ 40 มิลลิลิตรต่อลิตร จึงนำไปเติมลงในตู้ทดลอง

ใช้วาล์วปรับความแรงของอากาศในแต่ละตู้ให้ใกล้เคียงกันมากที่สุด ด้านบนตู้ปิดด้วยตาข่ายกรองแสง เติมน้ำ 130 ลิตร

2.2 การเตรียมตัวอย่างปลา: รวบรวมปลานิลแปลงเพศมาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด เขต 12 (สงขลา) จำนวน 1,200 ตัว ขนาดประมาณ 0.5 กรัม นำมาพักไว้ 1 สัปดาห์ ในถัง PE ขนาด 500 ลิตร และนำมาทำการทดลอง โดยใช้ปลานิลจำนวน 50 ตัวต่อตู้

2.3 การเตรียมน้ำหมักชีวภาพ: เตรียมน้ำหมักชีวภาพ 200 มิลลิลิตร โดยใช้อาหารปลา 1 กรัม กากน้ำตาล 2 กรัม จุลินทรีย์ ปม 1. 2 กรัม และน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร หมักทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง และนำไปเติมในตู้ทดลอง T_3 และ T_4 ทุก ๆ 3 วัน ปริมาณ 4 มิลลิลิตรต่อตู้

2.4 กากน้ำตาล: เติมกากน้ำตาลลงตู้ทดลอง T_2 และ T_4 ทุก ๆ 3 วัน ครั้งละ 1.3 มิลลิลิตรต่อตู้

2.5 การให้อาหารและการจัดการการเลี้ยง: ให้อาหารปลานิลวันละ 2 มื้อต่อวัน ให้อาหารแบบ *ad libitum* ในช่วงเช้าเวลา 8.00 น. และเย็นเวลา 16.00 น. โดยสัปดาห์แรกให้อาหารกบ (โปรตีนไม่น้อยกว่า 40 %) หลังจากนั้นให้อาหารปลาดุกเม็ดเล็ก (โปรตีน 30 %) และหยุดให้อาหารในช่วงเช้าของวันที่ตรวจวัดการเจริญเติบโต ในชุดการทดลอง T_1 และ T_3 ทำความสะอาดล้างใยแก้วในระบบกรองในช่วงเย็นของทุกวัน และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 80 % สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

2.6 การตรวจวัดอัตราการเจริญเติบโตของปลา: โดยการนำปลาทุกตัวมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาวทั้งหมด (total length) ในวันเริ่มต้นการทดลอง และทุก ๆ 2 สัปดาห์จนครบ 8 สัปดาห์ นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย ความยาวเริ่มต้นเฉลี่ย ความยาวสุดท้ายเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย ซึ่งสูตรการคำนวณมีดังต่อไปนี้

น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม) (Initial weight)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาวันแรกของการทดลอง}}{\text{จำนวนตัวปลา}}$$

น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย (กรัม) (Final weight)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาวันสุดท้ายของการทดลอง}}{\text{จำนวนตัวปลา}}$$

ความยาวเริ่มต้นเฉลี่ย (เซนติเมตร) (Initial length)

$$= \frac{\text{ความยาวปลาวันแรกของการทดลอง}}{\text{จำนวนตัวปลา}}$$

ความยาวสุดท้ายเฉลี่ย (เซนติเมตร) (Initial length)

$$= \frac{\text{ความยาวปลาวันสุดท้ายของการทดลอง}}{\text{จำนวนตัวปลา}}$$

น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวัน (กรัมต่อวัน) (Daily weight gain)

$$= \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ย}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) (Feed conversion ratio)

$$= \frac{\text{น้ำหนักของอาหารทั้งหมดที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลา}}$$

อัตราการรอดตาย (%) (Survival rate)

$$= \frac{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}}{\text{จำนวนปลาที่ปล่อย}} \times 100$$

2.7 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ: ตรวจวัดคุณภาพน้ำพารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่ ความเป็นกรด - ด่าง ออกซิเจนที่ละลายน้ำ ค่าการนำไฟฟ้า ฟอสฟอรัส ไนโตรเจน สารแขวนลอย แอมโมเนีย และไนไตรท์ทุก 2 สัปดาห์ (Coastal aquaculture department of fisheries, 2008) และตรวจสอบอุณหภูมิทุกวัน เครื่องมือที่ใช้ ได้แก่ pH meter, DO meter, EC meter และ Thermometer

2.8 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี: โดย ประมาณของตะกอนจุลินทรีย์ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า (Association of Official Analytical Chemists, 1999)

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ในการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม R (R-language and environment for statistical computing and graphics) version 2.14.0

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ผลการเจริญเติบโต อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการรอดของปลานิล ในระบบการเลี้ยงต่าง ๆ

จากการเลี้ยงปลานิลในระบบการเลี้ยงต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ผลการเจริญเติบโตทั้งด้านน้ำหนักเฉลี่ย ความยาวเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลานิล ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (Table 1) ซึ่งผลการเจริญเติบโตในชุดการทดลองที่ 2 และ 4 มีแนวโน้มสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ รวมทั้งอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีแนวโน้มต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ เนื่องจากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบไบโอฟล็อคมีสารอาหารจำพวกแพลงก์ตอน และสารอินทรีย์ที่มีความจำเป็นต่อตัวสัตว์น้ำ ทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตดี มีอัตราการรอดตายสูง และอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำ ซึ่งมีความสอดคล้องกับ Faizullah *et al*. (2015) พบว่า การเลี้ยงปลาทองเป็นเวลา 95 วัน ในระบบไบโอฟล็อคมีการเจริญเติบโตดีกว่าเลี้ยงในระบบปกติ (ไม่มีตะกอนจุลินทรีย์) ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย 16.97 และ 11.10 กรัม ตามลำดับ และ Comesat *et al*. (2018) กล่าวไว้ว่า การเจริญเติบโตของปลานิลในระบบไบโอฟล็อคขึ้นกับระดับของกากน้ำตาลที่เติมลงไปด้วย โดยทำการศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงในระบบไบโอฟล็อค ซึ่งใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0, 125 และ 250 กรัมต่อน้ำ 500 ลิตร เป็นระยะเวลา 9 สัปดาห์ โดยเติมแหล่งคาร์บอนสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า การเลี้ยง

Table 1. Growth, feed conversion ratio and survival rate of Nile tilapia in different culture systems

Parameters	Treatment				*P* - value
	T_1	T_2	T_3	T_4	
Initial weight (g)	0.57 ± 0.12^a	0.56 ± 0.10^a	0.54 ± 0.11^a	0.56 ± 0.11^a	0.364
Final weight (g)	27.60 ± 9.15^a	28.87 ± 9.60^a	29.69 ± 9.72^a	32.22 ± 9.64^a	0.806
Initial length (cm)	2.90 ± 0.10	2.90 ± 0.10	2.90 ± 0.10	2.90 ± 0.10	-
Final length (cm)	10.76 ± 1.34^a	10.04 ± 1.29^a	10.46 ± 1.40^a	10.27 ± 1.43^a	0.376
Daily weight gain (g/day)	0.48 ± 0.07^a	0.51 ± 0.01^a	0.52 ± 0.11^a	0.57 ± 0.17^a	0.806
Feed conversion ratio	0.98 ± 0.08^a	0.86 ± 0.06^a	0.94 ± 0.09^a	0.86 ± 0.16^a	0.508
Survival rate (%)	97.33 ± 4.62^a	93.33 ± 9.87^a	90.67 ± 14.47^a	94.00 ± 6.00^a	0.861

Note: In each row, not different superscript letters indicate no significant difference ($P > 0.05$)

T1: cultured with normal system (control)
T2: cultured with biofloc system
T3: cultured with bio - extract and
T4: cultured with biofloc system with bio - extract

ปลานิลในระบบไบโอฟล็อคโดยการเติมกากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่ 125 กรัมต่อน้ำ 500 ลิตร ทำให้ค่าน้ำหนักเฉลี่ย ความยาวเฉลี่ย น้ำหนักเพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลมากที่สุด แต่ในการทดลองครั้งนี้ใช้กากน้ำตาลเพียง 5 กรัมต่อน้ำ 500 ลิตร เติมทุก 3 วัน จึงอาจทำให้ปลานิลเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับระบบการเลี้ยงแบบปกติ (ชุดควบคุม) ดังนั้น จึงควรคำนึงถึงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ซึ่งระดับที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลานิลอยู่ที่ 16 : 1 (Hmadhloo *et al*., 2013) และการเลี้ยงปลานิลด้วยน้ำหมักชีวภาพ มีแนวโน้มอัตรารอดต่ำที่สุด เนื่องจากมีการเติมจุลินทรีย์ แต่ไม่ได้เติมแหล่งคาร์บอนลงไป จุลินทรีย์จึงไม่สามารถเจริญ และบำบัดน้ำได้ดีเท่ากับระบบไบโอฟล็อค อีกทั้งต้องมีการเติมอากาศที่เพียงพอต่อการหายใจของจุลินทรีย์และสัตว์ทดลอง

2. ผลของคุณภาพน้ำจากการเลี้ยงปลานิลในระบบการเลี้ยงต่าง ๆ

ตลอดการเลี้ยงปลานิลในระบบต่าง ๆ พบว่า อุณหภูมิของน้ำ ไนไตรท์ และฟอสฟอรัสรวม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % แต่พบว่า ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ สารแขวนลอย และค่าการนำไฟฟ้า ในชุดการทดลองที่ 2 และ 4 มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 และ 3 ส่วนความเป็นกรด - ด่าง และแอมโมเนีย ในชุดการทดลองที่ 2 และ 4 มีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองที่ 1 และ 3 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (Table 2) ซึ่งตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่า ในชุดการทดลองที่ 1 และ 3 ค่าแอมโมเนียสูงขึ้นผันแปรตามระยะเวลาการเลี้ยง เนื่องจากปลามีขนาดโตขึ้น ทำให้มีของเสียเยอะขึ้น แต่ปริมาณแอมโมเนียยังอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด เนื่องจากปริมาณความหนาแน่นของปลานิลค่อนข้างต่ำ (0.19 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ขนาดปลานิล 0.5 กรัม) ในขณะที่งานทดลองของ Azim and Little (2008) เลี้ยงปลานิลในระบบไบโอฟล็อคที่ระดับความหนาแน่น 12 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ขนาดปลานิล 80 - 120 กรัม ส่วนการเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อคสามารถบำบัดน้ำได้ โดยเห็นจากค่าแอมโมเนียในชุดการทดลองที่ 2 และ 4 (Figure 1) โดยจุลินทรีย์จะเป็นตัวที่คอยควบคุมคุณภาพน้ำภายในบ่อโดยอัตโนมัติ จึงไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำบ่อย ๆ แต่ข้อเสียของระบบนี้ คือ มักพบว่ามีความขุ่นและตะกอนมากกว่าปกติ การแก้ไขก็คือ ให้มีการสูบตะกอนที่ก้นบ่อทิ้งสัปดาห์ละครั้งหรือบ่อยกว่านั้นก็เป็นผลดีต่อสัตว์น้ำในระยะยาว (Wanakanapol, 2013) ซึ่งจากรายงาน

ของ Azim and Little (2008) แนะนำให้คงปริมาณตะกอนแขวนลอยในระบบไบโอฟล็อคได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัม ของแข็งแขวนลอยต่อลิตร เนื่องจากปริมาณตะกอนที่มากเกินไปอุดตันเหงือกของสัตว์น้ำทำให้ความสามารถในการแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลง และเนื่องจากในระบบไบโอฟล็อคมีการเติมกากน้ำตาลลงไป ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนทำให้เพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ จึงทำให้น้ำเป็นกรด ดังนั้นควรมีการเติมวัสดุปูนลงไปเพื่อเพิ่มความเป็นด่าง ลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ลง โดยงานทดลองของ Faizullah *et al.* (2015) รายงานว่าการเลี้ยงปลาทองในระบบไบโอฟล็อคทำให้ความเป็นกรด - ด่างลดลง จึงใช้ dolomite เพื่อเพิ่มความเป็นด่าง

Table 2. Water quality parameters from raising Nile tilapia in different culture systems

Parameters	Treatment				*P* - value
	T_1	T_2	T_3	T_4	
Water temperature (°C)	28.00 ± 0.00	28.00 ± 0.00	28.00 ± 0.00	28.00 ± 0.00	-
pH	6.35 ± 0.19^{a}	5.26 ± 0.23^{b}	6.64 ± 0.19^{a}	5.04 ± 0.01^{b}	0
Dissolved oxygen (mg/l)	4.72 ± 0.30^{ab}	4.61 ± 0.12^{ab}	4.14 ± 0.36^{b}	5.16 ± 0.71^{a}	0.104
Total suspended solids (mg/l)	33.00 ± 14.74^{b}	577.00 ± 151.49^{a}	23.00 ± 17.04^{b}	603.00 ± 166.30^{a}	0
Electrical conductivity (μs/cm)	481.33 ± 32.88^{b}	1811.67 ± 126.27^{a}	499.00 ± 41.48^{b}	1776.67 ± 171.97^{a}	0
Total ammonium nitrogen (mg-N/l)	0.0046 ± 0.0025^{a}	0.0005 ± 0.0002^{b}	0.0052 ± 0.0026^{a}	0.0001 ± 0.0001^{b}	0.015
Nitrite (mg-N/l)	0.2176 ± 0.0596^{a}	0.3179 ± 0.0731^{a}	0.2156 ± 0.1399^{a}	0.2980 ± 0.0647^{a}	0.423
Total nitrogen (mg-N/l)	11.61 ± 0.72^{ab}	11.84 ± 0.61^{ab}	12.24 ± 0.81^{a}	10.46 ± 0.81^{b}	0.083
Total phosphate (mg-P/l)	0.3749 ± 0.0350^{a}	0.3267 ± 0.0249^{a}	0.3835 ± 0.0542^{a}	0.3947 ± 0.0583^{a}	0.339

Note: In each row, different superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$)

T1: cultured with normal system (control)

T2: cultured with biofloc system

T3: cultured with bio - extract and

T4: cultured with biofloc system with bio - extract

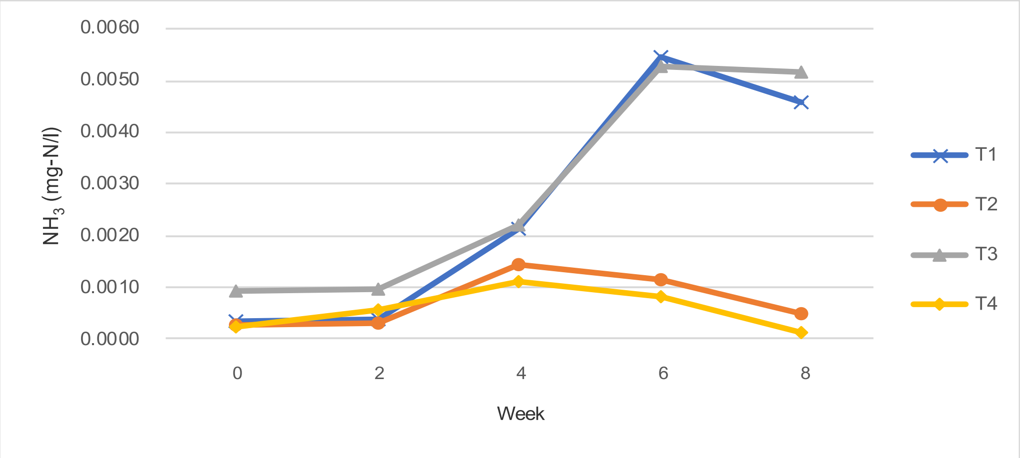

Figure 1. Changes of total ammonia nitrogen in 4 treatments (T1 - T4) Nile tilapia cultures for 8 weeks

T1: cultured with normal system (control)

T2: cultured with biofloc system

T3: cultured with bio - extract and

T4: cultured with biofloc system with bio - extract

3. ผลของการศึกษาสิ่งมีชีวิตในตะกอนจุลินทรีย์และองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของตะกอนจุลินทรีย์

จากการทดลอง พบว่า ในระบบการเลี้ยงด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อคเมื่อเริ่มต้นการทดลองก่อนเลี้ยงปลานิล ในตะกอนจุลินทรีย์มีแพลงก์ตอนที่มีชีวิตอาศัยอยู่ ได้แก่ *Paramecium* sp., *Vorticella* sp., *Euchlanis* sp., *Rotaria* sp. *Amoeba* sp., *Prorodon* sp., *Trichocerca* sp. และ *Delloidea* sp. เมื่อสิ้นสุดการทดลองชุดการทดลองที่ 2 พบแพลงก์ตอนจำพวก *Planarian* sp., *Arcella* sp., *Vorticella* sp., *Rotaria* sp. และ *Scenedesmus* sp. และชุดการทดลองที่ 4 พบแพลงก์ตอนจำพวก rotifers, *Rotaria* sp., *Brachionus* sp., *Arcella* sp. *Euglypha* sp., *Centropysis* sp. และ *Bdelloidea* sp. (Table 3) สอดคล้องกับ Promya (2015) ซึ่งพบแพลงก์ตอนชนิดต่าง ๆ ในการเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อคที่เชียงใหม่ โดยรายงานว่าพบ *Pediastrum* sp., *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp., *Dictyosphaerium* sp., หนอนแดง และโปรโตซัว และสอดคล้องกับ Azim and Little (2008) ที่รายงานการพบกลุ่มโปรโตซัว โรติเฟอร์ และกลุ่ม Oligochaeta ได้แก่ *Paramecium*, *Tetrahymena*, *Petalomonas*, *Lecane*, *Trichocerca*, *Polyarthra*, *Asplanchna* และ *Tubifex* ในการเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อค

จากการทดลองนำตะกอนจุลินทรีย์ในระบบการเลี้ยงปลานิลระหว่างชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 4 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ พบว่า ตะกอนจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชุด

Table 3. Types of organisms in biofloc

Types of organisms	Before raising fish	8 weeks after raising fish	
		T_2	T_4
1. *Scenedesmus* sp.	-	+	-
2. *Paramecium* sp.	+++	-	-
3. *Euchlanis* sp.	+	-	-
4. *Rotaria* sp.	+	+	+
5. *Amoeba* sp.	+	-	-
6. *Arcella* sp.	-	+++	+++
7. *Vorticella* sp.	+++	+++	-
8. *Euglypha* sp.	-	+++	+++
9. Rotifers	-	-	+++
10. *Brachionus* sp.	-	-	++
11. *Centropysis* sp.	-	-	+
12. *Prorodon* sp.	+	-	-
13. *Trichocerca* sp.	+	-	-
14. *Bdelloidea* sp.	+	-	+

Note: - = not found (0 cell/ml) + = rarely found (≤ 10 cells/ml)
++ = moderate found (11 - 30 cells/ml) +++ = found a lot (> 30 cells/ml)
T2: cultured with biofloc system T4: cultured with biofloc system with bio - extract

การทดลอง มีปริมาณความชื้น ไขมัน เยื่อใย และโปรตีน ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ปริมาณเถ้ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เนื่องจากความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในตะกอนจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชุดการทดลองนั้นมีความแตกต่างกัน และพบว่า ตะกอนจุลินทรีย์มีปริมาณโปรตีนประมาณ 21 % โดยน้ำหนักแห้ง (Table 4) ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของ Wongphonprateep *et al.* (2017) ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากการใช้อาหารกุ้งเป็นแหล่งไนโตรเจน และใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า มีปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย เท่ากับ 0, 13, 35, 0, และ 0 % ตามลำดับ และ Madyod *et al.* (2017) พบว่า ตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากการเลี้ยงปลานิลด้วยระบบไบโอฟล็อค มีค่าปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย เท่ากับ 11.16, 13.42, 12.28, 11.88 และ 3.35 % ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าในการทดลองครั้งนี้ ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีของตะกอนจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับแหล่งของไนโตรเจน แหล่งของคาร์บอน ชนิดสัตว์น้ำที่เลี้ยง และชนิดของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในตะกอนจุลินทรีย์

4. **ผลของการศึกษาต้นทุนการเลี้ยงปลานิลในระบบการเลี้ยงที่แตกต่างกัน**

ต้นทุนการเลี้ยงปลานิลในระบบการเลี้ยงต่าง ๆ ซึ่งคิดต้นทุนจากค่าน้ำ ค่าไฟ ค่าอาหาร ค่ากากน้ำตาล ค่าน้ำหมักชีวภาพ ค่า air lift และค่าชุดกรองตะกอน ซึ่งเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีการเติมน้ำลงตู้กระจก 130 ลิตร ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำในชุดการทดลองที่ 1 และ 3 สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ในปริมาณ 104 ลิตรต่อตู้ (จำนวน 7 ครั้ง) และล้างกรองทุก ๆ วัน ใช้น้ำในการล้างกรอง วันละ 5 ลิตรต่อตู้ (จำนวน 55 วัน) ในชุดการทดลองที่ 2 และ 4 มีการเติมกากน้ำตาล 1.3 มิลลิลิตรต่อตู้ทุก ๆ 3 วัน และชุดการทดลองที่ 3 และ 4 เติมน้ำหมักชีวภาพ 4 มิลลิลิตรต่อตู้ ทุก ๆ 3 วัน ซึ่งสามารถคิดต้นทุนดังแสดงใน Table 5 พบว่า การเลี้ยงปลานิลในระบบไบโอฟล็อค สามารถประหยัดต้นทุนได้ดีกว่าการเลี้ยงปลานิลด้วยระบบอื่น ๆ ซึ่ง Nootong (2008) กล่าวว่า ระบบเทคโนโลยีไบโอฟล็อคได้มีการทดลองใช้งานในต่างประเทศโดยมีการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่า การเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยระบบเทคโนโลยีไบโอฟล็อคทำให้สามารถเปลี่ยนอาหารจากชนิดที่มีโปรตีน 30 % มาเป็น 20 % ซึ่งลดค่าใช้จ่ายในส่วนค่าอาหารได้ประมาณ 7 - 8 บาทต่อกิโลกรัม Ogello *et al.* (2014) กล่าวว่า ระบบเทคโนโลยีไบโอ-ฟล็อค มีโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และกรดไขมันที่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ สามารถช่วยลดค่าต้นทุนการผลิตด้านอาหารสัตว์น้ำได้ คิดเป็น 50 % จากค่าใช้จ่ายในการผลิตทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองครั้งนี้ ที่การเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อค ที่มีต้นทุนในการเลี้ยงต่ำกว่าการเลี้ยงปลานิลด้วยระบบอื่น ๆ อีกทั้งในระบบไบโอฟล็อคไม่ต้องมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ทำให้ประหยัดต้นทุนค่าน้ำ ค่าแรงงานในการสูบถ่ายน้ำได้ และช่วยลดปัญหามลพิษจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ (Mugwanya *et al*., 2021) ทั้งนี้มีต้นทุนในการเลี้ยงปลานิลค่อนข้างสูง เนื่องจากคิดค่าไฟจากกำลังไฟ 100 วัตต์ ของปั๊มลม ไม่ได้คิดจากการใช้งานจริง จึงทำให้ต้นทุนค่าไฟค่อนข้างสูง และเป็นการทดลองเบื้องต้นเพียง 8 สัปดาห์ หากเลี้ยงจนถึงจับขาย น้ำหนักผลผลิตและค่าน้ำจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำและล้างกรองจะมีค่าเยอะกว่านี้

Table 4. Proximate composition of biofloc (dry matter percentage)

Treatment	Moisture	Ash	Crude lipid	Crude fiber	Crude protein
T_2	4.46 ± 0.30^a	16.22 ± 0.30^a	0.41 ± 0.02^a	23.07 ± 4.12^a	21.54 ± 0.50^a
T_4	4.08 ± 0.06^a	13.76 ± 0.33^b	0.62 ± 0.30^a	24.50 ± 2.83^a	21.05 ± 0.95^a

Note: In each column, different superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$)

T2: cultured with biofloc system　　T4: cultured with biofloc system with bio - extract

Table 5. Cost of raising Nile tilapia in different culture systems per 1 glass tank for 8 weeks

Treat - ment	Water fee (Baht)			Electricity charge (Baht)	Filter set / air lift (Baht)	Fish food costs (Baht)	Molasses cost (Baht)	Bio - fermented water cost (Baht)	Total cost (Baht)	Incidence of Cost (Baht/Kg)
	Water fill in the first time	Water change	Clean the filter							
T_1	2.6	14.56	5.5	32.47	37.85	49.22	-	-	142.20	106.32
T_2	2.6	-	-	48.70	34.58	43.53	0.39	-	129.80	96.35
T_3	2.6	14.56	5.5	32.47	37.85	46.70	-	1.16	140.84	106.70
T_4	2.6	-	-	48.70	34.58	39.29	0.39	1.16	126.72	102.11

Note: Water fee, price 2 satang/liter (0.02 baht/liter) Electricity charge, price 3.6237 bath/unit
Molasses, price 300 baht/20 liters Small catfish food, price 280 baht/10 kg
Frog food, price 180 baht/10 kg
T1: cultured with normal system (control) T2: cultured with biofloc system
T3: cultured with bio - extract and T4: cultured with biofloc system with bio - extract

สรุป

จากการศึกษาการเลี้ยงปลานิลด้วยระบบต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า การเลี้ยงปลานิลด้วยระบบปกติ เลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อค เลี้ยงปลานิลด้วยน้ำหมักชีวภาพ และเลี้ยงปลานิลด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อคร่วมกับน้ำหมักชีวภาพ ส่งผลให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตที่ดี มีอัตรารอดสูง ไม่แตกต่างกัน แต่ในระบบไบโอฟล็อคมีตะกอนจุลินทรีย์ที่ปลานิลสามารถกินได้ตลอดเวลา ซึ่งในตะกอนจุลินทรีย์ประกอบไปด้วยสิ่งมีชีวิตหลายชนิดจำพวกแพลงก์ตอนโปรโตซัว เป็นต้น และตะกอนจุลินทรีย์มีโปรตีน 21 % ของน้ำหนักแห้ง ทำให้ประหยัดต้นทุนค่าอาหาร อีกทั้งตลอดการเลี้ยงไม่ต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำ สามารถช่วยบำบัดแอมโมเนียได้ ทำให้ลดต้นทุนค่าน้ำ และช่วยรักษาสภาพแวดล้อมได้อีกด้วย แต่มีค่า pH ต่ำ อาจต้องแก้ไขโดยการเติมปูน และควบคุมตะกอนแขวนลอยไม่ควรเกิน 500 มิลลิกรัมของแข็งแขวนลอยต่อลิตร ดังนั้นจึงควรเลี้ยงปลานิลในที่ร่มให้มีประสิทธิภาพด้วยเทคโนโลยีไบโอฟล็อค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเงินอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินบำรุงการศึกษา) คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 และขอขอบคุณนางสาวฟาริดา หมันล๊ะ นางสาวพิมพิลัย แสงจันทร์ นางสาวนูรอัฏฮา อาแว และ นางสาวรอฮานี มะโร๊ะ ที่ช่วยให้งานวิจัยในครั้งนี้ประสบผลสำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Association of Official Analytical Chemists. 1999. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.

Azim, M.E. and D.C. Little. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 283: 29-35.

Coastal Aquaculture Department of Fisheries. 2008. Methods for analyzing water quality for coastal aquaculture. (2nd printing). Agricultural Co-Operative Federation of Thailand Ltd. 233 p. (in Thai)

Comesat, A., Y. Lobbumrung and T. Buabarn. 2018. Culture of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) with biofloc technology. B.S. Special problem. Faculty of Agricultural Technology and Industrial Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University, Nakhon Sawan. (in Thai)

Faizullah, M., C.B.T. Rajagopalsamy, B. Ahilan and T. Francis. 2015. Impact of biofloc technology on the growth of goldfish young ones. Indian Journal of Science and Technology 8(13), doi: 10.17845/ijst/2015/v8i13/54060.

Hmadhloo, S., S. Tanyaros and P. Phumee. 2013. Effect of C:N ratio in integrated culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) using biofloc technology. Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal 5(1): 96-106. (in Thai)

Madyod, S., S. Madyod, S. Wuthisuthimethavee, D. Chumthong, G. Jantasila, O. Nuanlaong, S. HnuChu and S. Bunrod. 2017. Application supplementation of immunostimulant in dried bio-flocs on survival rate of Nile tilapia infected with *Streptococcus agalactiae*, DMST 17129. pp. 18-26. *In*: Proceeding of the 9th Rajamangala University of Technology National Conference: Creative RMUT and Sustainable Innovation for Thailand 4.0. RMUT, Bangkok. (in Thai)

Mugwanya, M., M.A.O. Dawood, F. Kimera and H. Sewilam. 2021. Biofloc systems for sustainable production of economically Important aquatic species: A review. Sustainability 13(13): 7255, doi: 10.3390/su13137255

Nootong, K. 2008. Nitrogen treatment in closed-system aquaculture. King Mongkut's Agricultural Journal 16(1): 11-20. (in Thai)

Ogello, E.O., S.M. Musa, C.M. Aura, J.O. Abwao and J.M. Munguti. 2014. An appraisal of the feasibility of tilapia production in ponds using biofloc technology: A review. International Journal of Aquatic Science 5(1): 21-39.

Promya, J. 2015. Biofloc system and the prototype organic Nile tilapia production for community enterprises Chiang Mai province. Research report. Maejo University, Chiang Mai. (in Thai)

Sittplangkoon, P., W. Pungrasmi and K. Noothong, 2012. Control of Inorganic Nitrogen Concentrations and Ammonium Removal Rates by Biological Sludge from Closed Aquaculture Cultivating System. pp. 317-323. *In*: Proceeding of the 9th National Kasetsart University Kamphaeng Saen Conference: "Follow the King's Footsteps, Kasetsart Kamphaeng Saen", Bangkok. (in Thai)

Wang, G., E. Yu, J. Xie, D. Yu, Z. Li, W. Luo, L. Qiu and Z. Zheng. 2015. Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus.* Aquaculture 443: 98-104.

Wanakanapol, A. 2013. The investigation of carbon sources for produce biofloc in tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and hybrid catfish (*Clarias gariepinus* x *Clarias macrocephalus*) culture. Research report,

Maejo University, Chiang Mai. 18 p. (in Thai)

Wongphonprateep, S., T. Nganwisuthiphan and K. Suntudkarn. 2017. Application of biofloc in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. Prawarun Agricultural Journal 14(2): 231-237. (in Thai)

Wood, C.M. 1993. Ammonia and urea metabolism and excretion. pp. 379-425. *In*: D.H. Evans (ed.). The Physiology of Fishes. CRC Press, Boca Raton.

การใช้ก๊าซชีวภาพจากมูลสัตว์เป็นพลังงานทดแทนสำหรับเครื่องยนต์ของเครื่องบดข้าวโพดแบบ Hammer Mill

Use of Biogas from Animal Feces as a Renewable Energy for Engine of a Corn Hammer Mill

สุชน ตั้งทวีวิพัฒน์* กัญญารัตน์ พวกเจริญ องอาจ ส่องสี และ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล

Suchon Tangtaweewipat*, Kanyarat Puakchareon, Ongart Songsee and Boonlom Cheva-Isarakul

ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

**Corresponding author: Email: agani002@gmail.com*

(Received: 5 July 2021; Accepted: 7 September 2021)

Abstract: This study aimed to evaluate the efficiency of small corn hammer mill grinder using biogas engine. The preliminary work was carried out at Livestock Research and Development section of Royal Project Foundation. It was found that the biogas which produced from young chicken excreta contained 1,610 ± 26.46 ppm H_2S. After passing through the filter, the concentration of H_2S was only 2.33 ± 0.58 ppm, which indicated the high efficiency (99.86 %) of the filter. This biogas was used with 6.5 hp engine for corn grinding to pull the hammer mill of 6, 8 and 10 inches diameter. It was found that the 8 inches diameter of hammer mill was more significantly effective in grinding than the 6 and the 10 inches diameter ($P < 0.01$). It required significantly less biogas and need less cost of grinding (10.473 vs. 17.163 and 38.259 liter / kg of corn grain, and 54.19 vs. 101.11 and 125.60 Baht / 100 kg of corn grain, respectively; $P < 0.01$). On the contrary, the speed of the 10 inches diameter hammer mill was significantly less than the 6 and the 8 inches diameter. In addition, it required higher amount of biogas than the 8 and the 6 inches diameter ($P < 0.01$). The machine was then used and the satisfactory of the user was evaluated at the farm in the community of Mae Song Highland Development Project using Royal Project Model, Tak province. Two biogas units with 8 + 8 m^3 size were constructed at the farmer house where 25 - 35 heads of fattening and breeding swine were raised. It was found that the biogas can be produced even at the 1,000 m MSL attitude. It can be an alternative energy for hammer mill grinder in highland farm. The satisfaction of the farmers to the developed equipment was 4.76 out of 5 score, which indicated the highly satisfaction.

Keywords: Animal feces, biogas, renewable energy, corn hammer mill, engine

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพการใช้ก๊าซชีวภาพเป็นพลังงานของเครื่องยนต์บดเมล็ดข้าวโพดขนาดเล็ก โดยเบื้องต้นทำการทดลองที่ฟาร์มปศุสัตว์ งานวิจัยและพัฒนาปศุสัตว์ มูลนิธิโครงการหลวง พบว่า ก๊าซชีวภาพที่ผลิตจากมูลลูกไก่มีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) 1,610 ± 26.46 ppm หลังผ่านชุดกรองก๊าซ H_2S ที่ทำด้วยเม็ดตัวกลางเคลือบ ferric hydroxide แล้วเหลือเท่ากับ 2.33 ± 0.58 ppm หรือกรองให้ก๊าซชีวภาพบริสุทธิ์ได้ถึง 99.86 % เมื่อนำก๊าซชีวภาพที่ได้ไปใช้กับเครื่องยนต์ขนาด 6.5 แรงม้า (hp) เพื่อฉุดชุดค้อนตี (hammer mill) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6, 8 และ 10 นิ้ว พบว่า ชุดค้อนตี 8 นิ้ว สามารถบดเมล็ดข้าวโพดได้มากกว่า 6 และ 10 นิ้ว อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) และมีปริมาณการใช้ก๊าซชีวภาพ รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการบดน้อยกว่าอีกด้วย (10.473 vs. 17.163 และ 38.259 ลิตรต่อกิโลกรัมข้าวโพด และ 54.19 vs. 101.11 และ 125.60 บาทต่อ100 กิโลกรัมข้าวโพด ตามลำดับ; $P < 0.01$) ในขณะที่ความเร็วรอบของชุดค้อนตีขนาด 10 นิ้ว มีค่าต่ำกว่า 6 และ 8 นิ้วอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งยังใช้ก๊าซชีวภาพมากกว่าขนาด 8 และ 6 นิ้ว ($P < 0.01$) เมื่อนำเครื่องยนต์ไปใช้งานจริงและประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้ในชุมชนโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงแม่สอง จังหวัดตาก โดยสร้างถุงหมักก๊าซชีวภาพขนาด 8 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 2 ถุง ที่บ้านของผู้เลี้ยงสุกรขุนและพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 25 - 35 ตัว พบว่า สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้แม้จะอยู่บนพื้นที่สูง 1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล และสามารถใช้เป็นพลังงานทดแทนสำหรับเครื่องยนต์บดเมล็ดข้าวโพดได้ โดยผู้ใช้งานมีความพึงพอใจในระดับ “มากที่สุด” มีคะแนนเฉลี่ย 4.76 จากคะแนนเต็ม 5

คำสำคัญ: มูลสัตว์ ก๊าซชีวภาพ พลังงานทดแทน เครื่องบดเมล็ดข้าวโพด เครื่องยนต์

คำนำ

การทำการเกษตรบนพื้นที่สูงของมูลนิธิโครงการหลวงและโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง ได้มีการส่งเสริมการเลี้ยงสัตว์ เช่น สุกร สัตว์ปีก แพะนม และควายนม เป็นต้น รวมทั้งส่งเสริมการทำถุงหมักผลิตก๊าซชีวภาพจากมูลสัตว์เหล่านี้ เพื่อลดปัญหามลภาวะจากสิ่งปฏิกูล โดยเฉพาะเรื่องกลิ่นเหม็น น้ำเสียจากมูล - ปัสสาวะและน้ำล้างคอกสัตว์ จากข้อมูลของงานวิจัยและพัฒนาปศุสัตว์ มูลนิธิโครงการหลวง โดย Tangtaweewipat *et al.* (2011) รายงานว่า เกษตรกรในชุมชนพื้นที่สูงที่เลี้ยงสุกรประมาณ 20 ตัวต่อครัวเรือน สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้เพียงพอสำหรับการหุงต้มประจำวัน และมีเหลือใช้ และยังรายงานอีกว่า ปริมาณก๊าซชีวภาพที่ผลิตจากถุงหมักขนาด 5.0, 7.5 และ 10.0 ลูกบาศก์เมตร ของเกษตรกรบนพื้นที่สูงจากน้ำทะเลปานกลางน้อยกว่า 800, 800 - 1,000 และมากกว่า 1,000 เมตร ในสภาพแสงแดดปกติ เมื่อเฉลี่ยจากทุกระดับความสูง สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามขนาดของถุงหมัก คือ มีปริมาณ 0.16, 0.37 และ 0.41 ลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง ($P < 0.05$) ในขณะที่พื้นที่สูง 400 - 800, 800 - 1000 และสูงกว่า 1000 เมตร เมื่อเฉลี่ยจากทุกขนาดถุงหมัก มีปริมาณก๊าซชีวภาพไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) คือ เท่ากับ 0.31, 0.33 และ 0.30 ลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ก๊าซชีวภาพที่ได้มีปริมาณมีเทน (Methane; CH_4) 56 % มีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) หรือก๊าซไข่เน่าเท่ากับ 378.5 ppm เกษตรกรสามารถนำก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้ไปใช้หุงต้มทดแทนการใช้ฟืนและก๊าซ LPG ได้เฉลี่ยวันละ 1 - 2 ชั่วโมง ประหยัดค่าใช้จ่ายได้เดือนละ 330 บาท รวมทั้งลดการใช้ฟืนได้ 90 - 210 กิโลกรัมต่อเดือน ดังนั้น งานวิจัยและพัฒนาปศุสัตว์ มูลนิธิโครงการหลวง จึงได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ให้ศึกษาการนำก๊าซชีวภาพส่วนที่เหลือใช้มาพัฒนาเป็นพลังงานทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงสำหรับใช้กับเครื่องยนต์ผลิตกระแสไฟฟ้าและเครื่องยนต์การเกษตรขนาดเล็ก โดยจากรายงานของ Landahl (2003) กล่าวว่า ก๊าซชีวภาพเกิดจากขบวนการหมักอินทรียวัตถุ (biomass มูล ปัสสาวะ น้ำเสีย เศษซากพืชซากสัตว์) ในสภาพไร้อากาศ จะได้ก๊าซที่ประกอบด้วยมีเทน

(CH_4) 50 - 80 %, คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 15 - 45 %, ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) 0 - 2 % และน้ำ 5 % Kristoferson and Bokalders (1991) อ้างว่า ก๊าซชีวภาพ 1 ลูกบาศก์เมตร มีคุณค่าเท่ากับหลอดไฟฟ้าที่ให้แสงสว่างขนาด 60 - 100 วัตต์ นาน 6 ชั่วโมง หรือใช้ประกอบอาหารสำหรับครอบครัว 5 - 6 คน ได้ 3 มื้อ ทดแทนน้ำมันเบนซินหรือก๊าซโซลีน (gasoline engine) ได้ 0.7 กิโลกรัม หรือขับมอเตอร์ขนาด 1 แรงม้า (hp) ได้นาน 2 ชั่วโมง และสามารถผลิตกระแสไฟฟ้าขนาด 1.25 กิโลวัตต์ชั่วโมง ส่วนการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพเพื่อนำไปใช้ประโยชน์นั้น Persson (2007) ระบุว่า ก๊าซชีวภาพที่จะนำไปใช้กับเครื่องยนต์ก๊าซโซลีน ต้องมี CO_2 น้อยกว่า 20 % ซัลเฟอร์ต่ำกว่า 23 mg / Nm^3 ฝุ่นละอองต่ำกว่า 1 μm น้ำน้อยกว่า 32 mg / Nm^3 ออกซิเจน (O_2) ต่ำกว่า 1 Vol % และต้องมี CH_4 มากกว่า 92 % ส่วน Songsee (2012) รายงานว่า ก๊าซชีวภาพที่ผลิตจากมูลสัตว์ได้วันละ 2 ลูกบาศก์เมตร สามารถนำมาใช้กับเครื่องยนต์ก๊าซโซลีน ขนาด 5.5 แรงม้า ผลิตกระแสไฟฟ้าจำนวน 3 กิโลวัตต์ หรือใช้กับเครื่องยนต์สูบน้ำ ซึ่งจะใช้ก๊าซชีวภาพเท่ากับ 1.2 - 1.4 หรือ 0.8 - 1.0 ลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งต่อมา Tangtaweewipat *et al.* (2019) ได้นำก๊าซชีวภาพมาใช้เป็นพลังงานทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงของเครื่องยนต์ โดยได้พัฒนาชุดผสมระหว่างอากาศกับก๊าซชีวภาพก่อนการระเบิด (จุดติด) พบว่า ชุดผสมดังกล่าวควรมีสัดส่วนของอากาศต่อก๊าซชีวภาพ 4:1 หรือมีปริมาณก๊าซ CH_4 เท่ากับ 12.6 ± 1.25 % เมื่อใช้ร่วมกับชุดกรองก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่ทำด้วยเม็ดตัวกลางเคลือบด้วยเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ ($Fe(OH)_3$) บรรจุในท่อเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร ความสูง 50 - 100 เซนติเมตร หรือมีปริมาตรเท่ากับ 8.8 - 17.7 ลิตร มีประสิทธิภาพดูดซับ H_2S ได้ 99.6 - 100 % สามารถสตาร์ทเครื่องยนต์ผลิตกระแสไฟฟ้าขนาด 6.5 แรงม้า ที่ติดตั้งเครื่องกำเนิดไฟฟ้าขนาด 3 kW ได้ง่าย และผลิตกระแสไฟฟ้าได้คงที่ไม่เกิน 1,800 วัตต์ การใช้กระแสไฟฟ้าจำนวน 100 - 1,000 วัตต์ เป็นเวลา 5 ชั่วโมงต่อวัน เมื่อประเมินด้วยสมการ regression จะใช้ก๊าซชีวภาพ 6.17 - 7.30 ลูกบาศก์เมตร ต้นแบบเครื่องยนต์ผลิตกระแสไฟฟ้าโดยใช้ก๊าซชีวภาพสามารถใช้ในพื้นที่สูงได้จริง เกษตรกรมีความพึงพอใจอย่างยิ่ง ดังเช่น Tangtaweewipat *et al.* (2020) รายงานว่า ก๊าซชีวภาพที่ผลิตจากถุงหมักขนาด 8, 12 และ 16 ลูกบาศก์เมตร ในชุมชนของโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง จำนวน 4 ราย คือ แบบโครงการหลวงแม่สอง อำเภอท่าสองยาง จังหวัดตาก จำนวน 3 ราย และแบบโครงการหลวงแม่สามแลบ อำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน จำนวน 1 ราย ซึ่งเป็นพื้นที่ห่างไกลทุรกันดารและไม่มีไฟฟ้าใช้ สามารถใช้เป็นพลังงานทดแทนสำหรับเครื่องยนต์ขนาด 7.5 แรงม้า ฉุดเครื่องกำเนิดไฟฟ้าขนาด 3 kW ในสภาพจริงของเกษตรกรได้ โดยถุงหมักก๊าซชีวภาพบนพื้นที่สูงขนาดความจุ 12 - 16 ลูกบาศก์เมตร และมีสุกรขุนจำนวน 9 - 35 ตัว เป็นขนาดที่เหมาะสม สามารถผลิตก๊าซชีวภาพที่นำมาผลิตกระแสไฟฟ้าใช้ได้วันละ 2 - 4 ชั่วโมง หลังคาเรือนละ 81 - 126 วัตต์ โดยใช้หลอดไฟฟ้า LED จำนวน 9 - 14 หลอดต่อครัวเรือน แบ่งปันให้เพื่อนบ้านใช้ได้อีกไม่น้อยกว่า 6 ครัวเรือน รวมทั้งสิ้น 10 ครัวเรือน ช่วยลดค่ากระแสไฟฟ้าจากเครื่องยนต์ (เครื่องกำเนิดไฟฟ้า) ที่ได้ติดตั้งมิเตอร์บันทึกการใช้กระแสไฟได้ 96 - 130 บาทต่อเดือน นอกจากนี้ยังสามารถใช้กับอุปกรณ์ไฟฟ้าอื่น ๆ ที่ใช้กระแสไฟไม่มาก เช่น การชาร์จแบตเตอรี่สำหรับใช้กับแผงโซล่าเซลล์ ไฟฉาย ทีวี พัดลม และโทรศัพท์มือถือ เป็นต้น นอกเหนือจากการนำก๊าซชีวภาพไปใช้หุงต้มในครัวเรือนทดแทนก๊าซ LPG หรือทดแทนการใช้ฟืนที่เป็นกิจกรรมประจำวันอยู่แล้วด้วย

ในระยะ 4 - 5 ปีที่ผ่านมา เกษตรกรบนพื้นที่สูงนิยมปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กันอย่างแพร่หลาย เพื่อเป็นรายได้ของครอบครัว โดยขายให้แก่โรงงานผลิตอาหารสัตว์ที่มีความต้องการสูงเนื่องจากอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทยได้ขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกษตรกรเหล่านี้มีโอกาสใช้เมล็ดข้าวโพดที่ปลูกบนพื้นที่สูงน้อยมาก ประกอบกับไม่มีเครื่องบดเมล็ดข้าวโพดขนาดเล็กที่เหมาะสมกับการใช้งานในพื้นที่และมีต้นทุนค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดเครื่องยนต์ขนาดเล็กที่ใช้ก๊าซชีวภาพเป็นพลังงานทดแทนก๊าซโซลีน

มาจุดชุดโม่สำหรับบดเมล็ดข้าวโพด ใช้ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์จริงของเกษตรกรในชุมชนโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง ที่ได้นำมูลสัตว์มาผลิตก๊าซชีวภาพ และมีก๊าซเหลือใช้จากการหุงต้มในครัวเรือน มาเป็นพลังงานสำหรับจุดเครื่องยนต์บดเมล็ดข้าวโพดแบบค้อนตี (hammer mill) โดยทำการเปรียบเทียบชุดค้อนตีที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 ขนาด คือ 6, 8 และ 10 นิ้ว พร้อมกับประเมินระยะเวลาการใช้เครื่องยนต์ ปริมาณเมล็ดข้าวโพดที่บดได้ ปริมาณการใช้ก๊าซชีวภาพ ต้นทุนการบดเมล็ดข้าวโพด และความพึงพอใจของผู้ใช้เครื่องบดเมล็ดข้าวโพดที่ใช้ก๊าซชีวภาพดังกล่าว

อุปกรณ์และวิธีการ

การสร้างถุงหมักก๊าซชีวภาพ

ได้สร้างถุงหมักก๊าซชีวภาพขนาด 8 ลูกบาศก์เมตร ที่ฟาร์มปศุสัตว์ของงานวิจัยและพัฒนาปศุสัตว์ มูลนิธิโครงการหลวง ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 1 ถุง โดยใช้มูลลูกไก่ช่วงอายุ 1 วันถึง 2 สัปดาห์ เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปทางการค้าที่มีโปรตีน 19 % จำนวน 1,350 ตัว และถุงผลิตก๊าซชีวภาพจากมูลสุกรสุกรขุนและสุกรพ่อแม่พันธุ์ ขนาด 8 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 2 ถุง ที่บ้านนายประเสริฐ สุทธิพนาสวรรค์ อาศัยอยู่ในชุมชนโครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงแม่สอง อำเภอท่าสองยาง จังหวัดตาก อยู่สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางประมาณ 900 เมตร ซึ่งเลี้ยงสุกรจำนวน 25 - 35 ตัว ด้วยอาหารสำเร็จรูปทางการค้า

การทำชุดเครื่องยนต์สำหรับบดเมล็ดข้าวโพดและทดสอบประสิทธิภาพ มีรายละเอียดดังนี้ (Figure 1)

- ชุดเครื่องยนต์ขนาดเล็ก 6.5 แรงม้า (hp) ประกอบด้วยพูลเลย์ (pulley) หรือมู่เลย์ที่มีเพลาขับ (drive power or engine) ขนาด 2.5 นิ้ว เพื่อใช้ก๊าซชีวภาพเป็นพลังงานแทนก๊าซโซลีนในการจุดเครื่องยนต์บดเมล็ดข้าวโพดแบบ hammer mill มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6, 8 และ 10 นิ้ว (Figure 1A) โดยทำการเปรียบเทียบหาขนาดที่เหมาะสม
- ชุดผสมก๊าซชีวภาพและอากาศในอัตราส่วน 1 : 4 (mixer; Figure 1B) ตามต้นแบบที่รายงานไว้โดย Tangtaweewipat *et al.* (2020)
- ชุดกรองก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ที่ทำจากเม็ดตัวกลางเคลือบด้วยเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ ($Fe(OH)_3$) บรรจุในกล่องอะลูมิเนียมขนาด 15 x 60 x 60 เซนติเมตร (Figure 1C)
- ชุดรองรับและชุดค้อนตีเมล็ดข้าวโพด (hammer mill; Figure 1D)

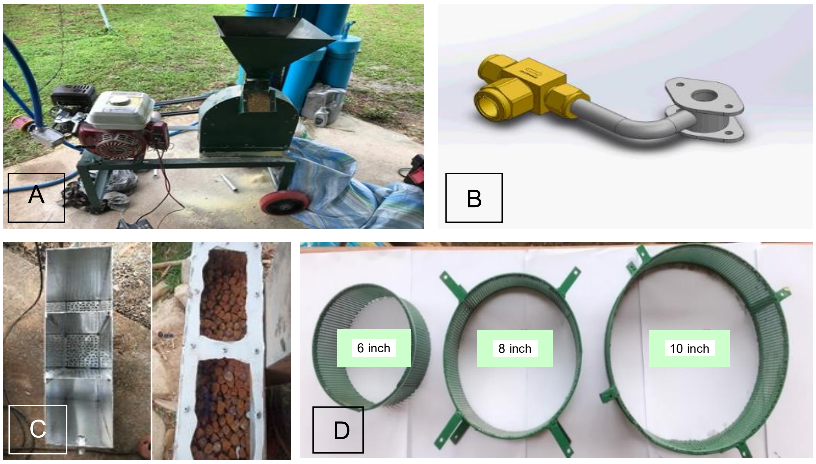

Figure 1. Biogas small engine 6.5 hp (A), mixer (B), hydrogen sulfide (H_2S) filter (C), grinding head size of hammer mill (D)

การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1. ที่ฟาร์มเลี้ยงลูกไก่ของงานวิจัยและพัฒนาปศุสัตว์ มูลนิธิโครงการหลวง ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเลี้ยงลูกไก่พันธุ์เบรส ไก่กระดูกดำและไก่เล็กฮอร์นขาว จำนวน 1,350 ตัว ได้ทำการวัดปริมาณก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่เกิดขึ้นจากการหมักมูลไก่ในถุงหมักก๊าซชีวภาพทั้งก่อนและหลังผ่านชุดกรองก๊าซไข่เน่า รวมทั้งทดลองหาขนาดของ hammer mill ที่เหมาะสมกับเครื่องยนต์ที่ใช้ก๊าซชีวภาพเป็นแหล่งพลังงาน

2. เมื่อได้ต้นแบบเครื่องยนต์ซึ่งมีขนาดของ hammer mill ที่เหมาะสมแล้ว จึงนำไปติดตั้งเพื่อใช้งานจริงที่บ้านนายประเสริฐ สุทธิพนาสวรรค์ จังหวัดตาก ผู้เลี้ยงสุกรขุนและสุกรพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 25 - 35 ตัว ด้วยอาหารสำเร็จรูปการค้า โดยทำถุงหมักก๊าซชีวภาพจากมูลสุกรดังกล่าวจำนวน 2 ถุง ขนาดถุงละ 8 ลูกบาศก์เมตรไว้ให้ล่วงหน้าด้วย ซึ่งพื้นที่นี้มีการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวนมาก

ทำการศึกษาเป็นเวลา 5 เดือน ระหว่างเดือนพฤษภาคม - กันยายน โดยทำการบันทึกข้อมูลทุกเดือน ได้ข้อมูล 5 ชุด ซึ่งถือเป็นจำนวน 5 ซ้ำ ข้อมูลที่บันทึกประกอบด้วยคุณภาพก๊าซชีวภาพในช่วงก่อนและหลังผ่านชุดกรองก๊าซ H_2S ระยะเวลาการใช้เครื่องยนต์บดเมล็ดข้าวโพด ปริมาณเมล็ดข้าวโพดที่บดได้ ปริมาณการใช้ก๊าซชีวภาพ และต้นทุนการบดเมล็ดข้าวโพด วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design) และหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Duncan's new multiple range test ตามที่ระบุไว้โดย Steel *et al.* (1997) พร้อมกับประเมินความพึงพอใจจากผู้ใช้เครื่องยนต์ด้วยการให้คะแนน 1 - 5

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพที่ผลิตจากมูลลูกไก่ของงานวิจัยและพัฒนาปศุสัตว์ มูลนิธิโครงการหลวง มีปริมาณก๊าซ H_2S ก่อนผ่านชุดกรอง 1,610 ± 26.46 ppm และหลังผ่านชุดกรองเหลือเท่ากับ 2.33 ± 0.58 ppm แสดงว่าชุดกรองนี้สามารถกรองก๊าซ H_2S ได้ถึง 99.86 % (Table 1) ซึ่งนับว่าดีมาก เพราะก๊าซนี้มีผลต่อการผุกร่อนของเครื่องยนต์และส่วนที่เป็นโลหะ นอกจากนี้ยังปลดปล่อย SO_2 ออกมาสร้างมลภาวะด้วย (Al Mamun and Torii, 2015) โดยชุดกรองที่ศึกษาครั้งนี้ มีประสิทธิภาพสูงกว่ารายงานของ Al Mamun and Torii (2015) ที่ใช้ zero-valent iron ซึ่งดูดซับก๊าซ H_2S ได้ 95 % และรายงานของ Kulkarni and Ghanegaonkar (2019) ที่ใช้การดูดซับทางเคมีแบบ 1 column ขนาด 1.2 ลิตร สามารถลดก๊าซ H_2S ได้ 92.41 % อย่างไรก็ดี ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Tangtaweewipat *et al.* (2012) ที่ใช้ชุดดูดซับก๊าซ H_2S ในรูปเม็ดปูนผสมทรายเคลือบด้วย ($Fe(OH)_3$) โดยใช้กับก๊าซชีวภาพที่ผลิตจากมูลสุกรแม่พันธุ์ สุกรขุน และมูลนกกระทาไข่ ซึ่งมีก๊าซ H_2S เท่ากับ 480, 1,773 และ 3,509 ppm ตามลำดับ พบว่าสามารถลดได้ 97.3 - 99.3 % ในขณะที่ใช้ดินเบาผสมปูนซีเมนต์ และที่ใช้ฝอยเหล็ก สามารถลดลงได้เพียง 78.0 - 74.0 และ 69.4 - 49.9 % ตามลำดับ ($P < 0.01$)

การใช้งานเครื่องบดเมล็ดข้าวโพด

จากการศึกษาการบดเมล็ดข้าวโพดด้วยเครื่องบดขนาด 6.5 hp โดยมีพูลเลย์ที่เพลาขับ หรือที่ติดเครื่องยนต์ ขนาด 2.5 นิ้วที่ใช้ก๊าซชีวภาพเป็นพลังงานแทนก๊าซโซลีนในการฉุดเครื่องบดเมล็ดข้าวโพดแบบ hammer mill มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6, 8 และ 10 นิ้ว ผลแสดงไว้ใน Table 1 ปรากฏว่าเครื่องยนต์ไม่สามารถฉุดเครื่องบดหรือชุดค้อนตีเมล็ดข้าวโพดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว ที่ใช้พูลเลย์ของชุดค้อนตี (hit set or hammer mill) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้วได้ ต้องเพิ่มขนาดให้ใหญ่ขึ้นเป็น 5 นิ้ว ตามวงรอบของชุดค้อนตีที่กว้างมากขึ้น ในขณะที่ชุดค้อนตีขนาด 6 และ 8 นิ้ว สามารถใช้พูลเลย์ขนาด 4 นิ้วได้ มีผลให้ความเร็วรอบของชุดค้อนตีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว มีค่าต่ำกว่าขนาด 6 และ 8 นิ้ว อย่างมีนัยสำคัญ (1,540.2 vs. 2,060.0 และ 2,024.8 rpm, ตามลำดับ; $P < 0.01$) โดยชุดค้อนตี

Table 1. The efficiency of the beater supported by a 6.5 HP engine using biogas fuel

Item	Grinding head size (inch)			P - value	SEM
	6	8	10		
Hydrogen sulfide gas (ppm)					
Before passing through filter set		1,610 ± 26.46		-	-
After passing through filter set		2.33 ± 0.58		-	-
Filter set efficiency (%)		99.86		-	-
Pulley diameter (inch)					
At drive power or engine	2.5	2.5	2.5	-	-
At hit set or hammer mill	4	4	5	-	-
Speed at hit set (rpm)	2,060.0[a]	2,024.8[a]	1,540.2[b]	< 0.01	8.10
Efficiency of corn hammer mill grinder					
Maize amount (kg / hour)	70.580[b]	131.202[a]	56.664[c]	< 0.01	0.79
Consumption of biogas (m^3 / hour)	1.208[c]	1.374[b]	2.164[a]	< 0.01	0.03
Biogas utilization rate (liter / kg)	17.163[b]	10.473[c]	38.259[a]	< 0.01	0.50
Corn grain grinding cost (Baht / 100 kg)*	101.11[b]	54.19[c]	125.60[a]	< 0.01	1.26

[a - c] Means within a row with different superscripts differ significantly *(P < 0.01)*

* Compared with gasoline 95, which costs 27.45 Baht / liter, the engine used 1.85 liters of oil per hour to grind 140 kg of corn grain

ที่มีขนาด 8 นิ้ว สามารถบดเมล็ดข้าวโพดต่อชั่วโมงได้มากกว่าขนาด 6 และ 10 นิ้วอย่างมีนัยสำคัญ (131.202 vs. 70.580 และ 56.664 กิโลกรัม; P < 0.01) ในขณะที่ชุดค้อนตีขนาด 10 นิ้ว เครื่องยนต์ต้องใช้ปริมาณก๊าซชีวภาพมากที่สุด รองลงมาคือ 8 และ 6 นิ้ว ตามลำดับ (2.164 vs. 1.374 vs. 1.208 ลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง; P < 0.01) แต่เมื่อคำนวณอัตราการใช้ก๊าซชีวภาพต่อปริมาณข้าวโพดที่บดได้ พบว่า ชุดค้อนตีขนาด 8 นิ้ว ใช้น้อยกว่าขนาด 6 และ 10 นิ้ว อย่างมีนัยสำคัญ (10.473 vs. 17.163 และ 38.259 ลิตรต่อกิโลกรัมข้าวโพด ตามลำดับ; P < 0.01) ซึ่งความเร็วรอบสูงและขนาดของหัวค้อนตีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่าจะบดเมล็ดข้าวโพดได้เร็วกว่า แต่ขนาดของหัวค้อนตีที่ใหญ่ขึ้นจะทำให้เครื่องยนต์ใช้เชื้อเพลิงในการทำงานมากขึ้น

สำหรับค่าใช้จ่ายในการบดเมล็ดข้าวโพดเมื่อเทียบกับการใช้ก๊าซโซลีนหรือน้ำมันเบนซินแก๊สโซฮอล์ 95 กรณีใช้เครื่องยนต์ขนาด 6.5 hp ตามการศึกษาครั้งนี้ พบว่า การใช้ชุดค้อนตีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 8 นิ้ว ซึ่งสามารถบดเมล็ดข้าวโพดได้เร็วกว่าชุดค้อนตีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 และ 10 นิ้ว จึงใช้เวลาน้อยกว่าในการบดเมล็ดข้าวโพดที่มีปริมาณเท่ากัน ทำให้เสียค่าเชื้อเพลิงต่ำกว่าชุดค้อนตีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 และ 10 นิ้ว อย่างมีนัยสำคัญ (54.19 vs. 101.11 และ 125.60 บาทต่อ 100 กิโลกรัมข้าวโพด; P < 0.01; Table 1)

การประเมินความพึงพอใจ

ได้ทำการประเมินความพึงพอใจของนายประเสริฐ สุทธิพนาสวรรค์ และเกษตรที่สนใจ ในพื้นที่ หมู่ 3 บ้านแม่สลิดน้อย ตำบลแม่สอง อำเภอท่าสองยาง จังหวัดตาก ต่อการใช้เครื่องยนต์ก๊าซชีวภาพบดเมล็ดข้าวโพดสำหรับใช้เป็นอาหารสุกรขุนและสุกรพ่อแม่พันธุ์เพื่อลดต้นทุนการผลิต จำนวน 4 ราย ผลปรากฏว่า ผู้ใช้มีความพึงพอใจระดับ “มากที่สุด” (มีค่าคะแนน 4.76 จากคะแนนเต็ม 5) โดยพึงพอใจ “มากที่สุด” ในด้านระยะเวลาการทำงานของเครื่องที่บดเมล็ดข้าวโพดได้เพียงพอต่อความต้องการ ครอบครัวมีความสุข ชีวิตความเป็นอยู่ดีขึ้น มีสัมพันธภาพที่ดีกับครอบครัวและเพื่อนบ้าน ได้รับความรู้ใหม่ สามารถเป็นต้นแบบให้กับคนในชุมชน และประทับใจต่อการดำเนินงานของเจ้าหน้าที่ ส่วนความพึงพอใจด้านการติดตั้งเครื่องยนต์มีประโยชน์ต่อการดำเนินชีวิต และสามารถลดค่าใช้จ่ายของครอบครัว อยู่ในระดับ “มาก” (Table 2) ทั้งนี้เนื่องด้วยในพื้นที่ข้างต้น มีผลผลิตข้าวโพดจำนวนมากและมีราคาถูก การมีแหล่งพลังงานเพื่อใช้กับเครื่องยนต์ขนาดเล็กสำหรับบดข้าวโพดเพื่อใช้ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์จึงตอบสนองความต้องการของเกษตรกรได้

ภาพการทำงานของเครื่องยนต์บดข้าวโพดที่ใช้ก๊าซชีวภาพเป็นพลังงาน แสดงไว้ใน Figure 2

Table 2. The satisfaction of the farmers to the developed equipment using biogas as a renewable energy

Item	Satisfaction level	
	Average score	Degree of satisfaction[1]
1. Installing the engine is beneficial for life	4.20	slightly high satisfied
2. Engine working time sufficient for corn grinding	4.80	highly satisfied
3. Happiness of the family	5.00	highly satisfied
4. Improvement of life quality	5.00	highly satisfied
5. Good relationship with family and neighbors	5.00	highly satisfied
6. Gain new knowledge	5.00	highly satisfied
7. Decrease family expense	3.60	slightly high satisfied
8. Able to be a role model for people in the community	5.00	highly satisfied
9. Appreciation on the work of the authorities	5.00	highly satisfied
10. Overall appreciation	5.00	highly satisfied
Average	4.76	highly satisfied

[1] 1.00 - 1.80 = lowest satisfied; 1.81 - 2.60 = low satisfied; 2.61 - 3.40 = medium satisfied; 3.41 - 4.20 = slightly high satisfied; 4.20 -5.00 = highly satisfied

Figure 2. Using biogas to supply small engine (6.5 hp) for grinding corn grain at highland farm

สรุป

เครื่องยนต์ขนาด 6.5 แรงม้า (hp) ที่ดัดแปลงใช้ก๊าซชีวภาพเป็นเชื้อเพลิงในการฉุดเครื่องยนต์บดเมล็ดข้าวโพดแบบ hammer mill ที่มีประสิทธิภาพ ควรใช้ชุดค้อนตีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้ว มีพูลเลย์ (pulley) หรือมู่เลย์ตัวขับที่ติดเครื่องยนต์ขนาด 2.5 นิ้ว ส่วนพูลเลย์ของชุดค้อนตี ใช้ขนาด 4 นิ้ว ซึ่งจะมีความเร็วรอบชุดค้อนตีไม่น้อยกว่า 2,000 รอบต่อนาที โดยมีต้นทุนค่าใช้จ่ายในการบดเมล็ดข้าวโพดเทียบกับการใช้น้ำมันเพียง 0.54 บาทต่อกิโลกรัมข้าวโพด ซึ่งแสดงว่า ก๊าซชีวภาพสามารถใช้เป็นแหล่งเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์บดเมล็ดข้าวโพดได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ที่สนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณเกษตรกรทุกท่านที่เข้าร่วมศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งช่วยให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์และเป็นประโยชน์

เอกสารอ้างอิง

Al Mamun, M.R. and S. Torii. 2015. Removal of hydrogen sulfide (H_2S) from biogas using zero-valent iron. Journal of Clean Energy Technologies 3(6): 428-432.

Kristoferson, L. A. and V. Bokalders. 1991. Renewable Energy Technologies: Their Applications in Developing Countries. ITDG Publishing, London. 326 p.

Kulkarni, M.B. and P.M. Ghanegaonkar. 2019. Hydrogen sulfide removal from biogas using chemical absorption technique in packed column reactors. Global Journal of Environmental Science and Management 5(1): 155-166.

Landahl, G. 2003. Biogas as Vehicle Fuel: A European Overview. Trendsetter Report No. 2003:3. Stockholm Environment Administration, Stockholm. 51 p.

Persson, M. 2007. Biogas upgrading and utilization as vehicle fuel. pp. 59-64. *In:* Proceedings of European Biogas Workshop: The Future of Biogas in Europe III, University of Southern Denmark, Esbjerg, Denmark.

Songsee, O. 2012. Production of biogas as a renewable energy source for small farm engines. Final report. Ministry of Science and Technology, Bangkok. 77 p. (in Thai)

Steel, R.G.D., J.H. Torrie and D.A. Dickey. 1997. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 3rd ed. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York. 666 p.

Tangtaweewipat, S., O. Songsee and B. Cheva-Isarakul. 2012. Diminishing of hydrogen sulfide from biogas for community use. Khon Kaen Agriculture Journal 40 (Suppl. 2): 201-204. (in Thai)

Tangtaweewipat, S., O. Songsee, B. Cheva-Isarakul and K. Puakchareon. 2020. Use of biogas from swine manure as a renewable energy to produce electricity in community of Highland Development Project using the Royal Project Model. Journal of Agriculture 36(3): 365-375. (in Thai)

Tangtaweewipat, S., O. Songsee, B. Cheva-Isarakul, P. Polperm and S. Chaimanee. 2011. Research and development on efficiency of biogas production for small farm holders in highland area. Final report. Highland Research and Development Institute (Public Organization), Chiang Mai. 88 p. (in Thai)

Tangtaweewipat, S., O. Songsee, B. Cheva-Isarakul, K. Puakchareon, W. Thantharak and K. Umetsu. 2019. Use of biogas as a renewable energy source for producing electricity on highland area. Khon Kaen Agriculture Journal 47 (Suppl. 2): 397-404. (in Thai)

การใช้เปลือกกล้วยหมักร่วมกับลูกแป้งและมันเส้น ต่อการย่อยได้ของโภชนะและค่าชีวเคมีของเลือดในแพะเนื้อ

Use of Banana Peels Fermented with Fermentation Starter Balls and Cassava Chip on Digestibility and Blood Biochemical Contents in Meat Goats

ณรกมล เลาห์รอดพันธ์ [1*] วิโรจน์ ลิขิตตระกูลวงศ์ [1] ทศพร อินเจริญ [2]
เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ [3] และ สิริวดี พรหมน้อย [4]

Norakamol Laorodphan [1*], Wirot Likittrakulwong [1], Tossaporn Incharoen [2],
Saowaluck Yammuen-art [3] and Siriwadee Phromnoi [4]

[1]สาขาวิชาสัตวศาสตร์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จ.พิษณุโลก 65000

[1]Animal Science and Aquaculture Program, Faculty of Food and Agricultural Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000, Thailand

[2]สาขาวิชาสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก 65000

[2]Division of Animal Science and Feed Technology, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

[3]ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[3]Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

[4]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ จ.อุตรดิตถ์ 53000

[4]Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University, Uttaradit, 53000, Thailand

**Corresponding author: Email: naikaset119@hotmail.com*

(Received: 14 July 2021; Accepted: 13 September 2021)

Abstract: The objective of this study was to determine the effects of fermentation starter and cassava chip supplementation in banana peel silage on feed intake, nutrients digestibility and blood biochemical contents in goat. Three crossbred Boer goats, average initial weight at 15.09 ± 1.04 kg were used Crossover designs. The dietary treatments were divided into 3 groups; banana peel silage, banana peel silage with cassava chip and fermentation starter at 70 : 30 : 0.01 % and 70 : 30 : 0.02 %, respectively. The results showed that dry matter intake of concentrate feed and roughage was not significantly different among treatments (P > 0.05). Organic matter (OM) intake, crude protein (CP) intake, ether extract (EE) intake, nitrogen free extract (NFE) intake and crude fiber (CF) intake were not significantly different among treatments (P > 0.05). However, the feeding of banana peel silage with cassava chip and fermentation starter at 70 : 30 : 0.02 % has significantly increased the digestibility of OM, CF and NFE (P < 0.05). Additionally, blood biochemical

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

contents were no significant differences among treatments (*P* > 0.05). According to the results of this research, it is suggested that supplementation 0.02 % of fermentation starter ball with cassava chip in banana peel silage could improve nutrients digestibility without any negative effects on feed intake and blood biochemical contents.

Keywords: Banana peel silage, fermentation starter balls, feed intake, nutrients digestibility, blood biochemical contents

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของเปลือกกล้วยหมักร่วมกับมันเส้นและลูกแป้งที่แตกต่างกันต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ของโภชนะ และค่าชีวเคมีของเลือดของแพะเนื้อ โดยใช้แพะเนื้อลูกผสมบอร์ น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 15.09 ± 1.04 กิโลกรัม จำนวน 3 ตัว วางแผนการทดลองแบบ Crossover designs อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ เปลือกกล้วยหมัก เปลือกกล้วยหมักร่วมกับมันเส้นและลูกแป้งที่ระดับ 70 : 30 : 0.01 % และ 70 : 30 : 0.02 % ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าปริมาณการกินได้ที่วัตถุแห้งของอาหารหยาบและอาหารข้นไม่แตกต่างกัน (*P* > 0.05) ปริมาณการกินได้ของอินทรียวัตถุ โปรตีนหยาบ ไขมันหยาบ คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่าย และเยื่อใยหยาบไม่แตกต่างกัน (*P* > 0.05) อย่างไรก็ตามพบว่า สัตว์ทดลองที่ได้รับเปลือกกล้วยหมักร่วมกับมันเส้นและลูกแป้งที่ระดับ 70 : 30 : 0.02 % มีสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอินทรียวัตถุ คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของเยื่อใยหยาบสูงขึ้น (*P* < 0.05) นอกจากนี้พบว่า ค่าชีวเคมีของเลือดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (*P* > 0.05) จากการทดลองสรุปได้ว่า การใช้ลูกแป้งในระดับ 0.02 % หมักร่วมกับกากน้ำตาลและมันเส้นในเปลือกกล้วยหมักช่วยปรับปรุงการย่อยได้ของโภชนะ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินได้และค่าชีวเคมีของเลือด

คำสำคัญ: เปลือกกล้วยหมัก ลูกแป้ง ปริมาณการกินได้ การย่อยได้ของโภชนะ ค่าชีวเคมีของเลือด

คำนำ

อาหารหยาบเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการผลิตสัตว์เคี้ยวเอื้อง ถึงแม้ทางภาครัฐจะส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกพืชอาหารสัตว์เพื่อใช้ในฟาร์ม แต่เกษตรกรมีพื้นที่จำกัดเนื่องจากเกษตรกรมักเลี้ยงสัตว์เป็นอาชีพรองจากการปลูกพืช ทำให้พื้นที่ทำแปลงหญ้าไม่เพียงพอ เกษตรกรจึงเลือกที่จะซื้อฟางข้าว ต้นข้าวโพดหมัก หรือหญ้าเนเปียร์หมัก มาเป็นอาหารหยาบให้สัตว์ ซึ่งมักมีราคาแพงโดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงฤดูแล้งทำให้ต้นทุนค่าอาหารสูงขึ้น ดังนั้นการเลือกใช้ผลพลอยได้ทางการเกษตรหรืออุตสาหกรรมเกษตรในท้องถิ่นย่อมมาใช้เป็นอาหารหยาบย่อมเป็นการลดต้นทุนค่าอาหารหยาบได้

ในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลกเป็นแหล่งแปรรูปผลิตภัณฑ์จากกล้วย เช่น กล้วยตาก กล้วยอบกรอบและกล้วยกวน โดยมีปริมาณการผลิตวันละ 60 - 70 ตันต่อวัน มีการผลิตต่อเนื่องตลอดทั้งปี และมีผลพลอยได้จากการผลิตคือ เปลือกกล้วย เครือและก้านเครือกล้วย ประมาณ 3 - 5 ตันต่อวัน (Weerakul *et al*., 2015) ทำให้มีเปลือกกล้วยเหลือปริมาณมาก ซึ่งเปลือกกล้วยเป็นผลพลอยได้ที่ยังมีคุณค่าทางโภชนะอยู่ โดยเปลือกกล้วยมีพลังงานรวมถึง 4,158 Kcal/kg โปรตีนหยาบ 6.16 % ไขมันหยาบ 6.11 % และเยื่อใยหยาบ 16.11 % (Laorodphan and Likittrakulwong, 2017) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในสัตว์ได้ มีหลากหลายงานวิจัยที่พบว่าเปลือกกล้วยสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ดีทั้งในโคขุน ซึ่งการใช้เปลือกกล้วยหมักร่วมกับอาหารข้นช่วยทำให้โคขุนมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการให้หญ้าเนเปียร์หมักร่วมกับอาหารข้น (Laorodphan and Likittrakulwong, 2017) สำหรับในแพะนม เมื่อ

เปรียบเทียบผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมในแพะรีดนมระหว่างการใช้เปลือกกล้วยหมักร่วมกับอาหารข้นเทียบกับหญ้าขนสดร่วมกับอาหารข้นพบว่าไม่แตกต่างกัน (Mukthang *et al.*, 2020) แต่อย่างไรก็ตามการใช้เปลือกกล้วยมีข้อจำกัดในการใช้อยู่บางประการ ได้แก่ มีความชื้นสูง มีโปรตีนต่ำ และเน่าเสียได้เร็ว การนำเปลือกกล้วยไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นอาหารหยาบสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องที่เหมาะสมที่สุดคือการหมัก แต่ด้วยข้อจำกัดที่ได้กล่าวมาข้างต้นจึงควรมีการปรับปรุงคุณภาพก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ ในกรณีการลดความชื้นของเปลือกกล้วยสามารถทำได้โดยการเติมวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีความชื้นต่ำ เช่น มันเส้น กากมันสำปะหลัง หรือข้าวโพดบด เข้าไปในเปลือกกล้วยจะทำให้พืชหมักมีคุณภาพดีขึ้น โดยควรมีความชื้นอยู่ระหว่าง 65 - 70 % ส่วนการเพิ่มโปรตีนโดยใช้การปรับปรุงคุณภาพด้วยวิธีการทางชีวภาพเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนได้ (Bourapa and Kullama, 2018) และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของพืชหมักด้วย (Hnokaew and Yammuan-Art, 2019) ลูกแป้ง (fermentation starter ball) ซึ่งเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่สามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่น ซึ่งสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมและมีอาหารเพียงพอ การใช้ลูกแป้งหมักร่วมกับพืชอาหารสัตว์หมักจะทำให้พืชหมักมีโปรตีนเพิ่มขึ้นจากจุลินทรีย์เซลล์เดียว (single cell protein) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Hantai *et al.* (2018) ที่ได้ทำการปรับปรุงคุณภาพของเปลือกกล้วยหมักด้วยมันเส้นและลูกแป้งช่วยทำให้เพิ่มปริมาณโปรตีนหยาบ เพิ่มปริมาณวัตถุแห้ง อีกทั้งยังช่วยเพิ่มค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ และการย่อยสลายของอินทรียวัตถุในการทดสอบการย่อยได้ในหลอดทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการใช้เปลือกกล้วยหมักร่วมกับมันเส้นและลูกแป้งต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ปรากฏ และค่าชีวเคมีของเลือดในแพะเนื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเตรียมเปลือกกล้วยหมักโดยนำเปลือกกล้วยรวมขั้วของกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์มะลิอ่อง อายุการเก็บเกี่ยว 4 เดือน ที่ผ่านการบ่มจนสุก ซึ่งเก็บมาจากลานตากกล้วย อำเภอบางกระทุ่ม จังหวัดพิษณุโลก มาทำการสับผ่านเครื่องสับให้มีขนาดประมาณ 1 นิ้ว โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มควบคุมใช้เปลือกกล้วยน้ำว้าสับโดยไม่เติมมันเส้นและลูกแป้ง (T1), กลุ่มทดลองใช้สัดส่วนของเปลือกกล้วยหมักต่อมันเส้นที่ระดับ 70 : 30 หมักร่วมกับกากน้ำตาล 0.1 % และลูกแป้ง 0.01 % ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด (T2) และกลุ่มทดลองใช้สัดส่วนของเปลือกกล้วยหมักต่อมันเส้นที่ระดับ 70 : 30 หมักร่วมกับร่วมกับกากน้ำตาล 0.1 % และลูกแป้ง 0.02 % ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมด (T3) จากนั้นนำสัดส่วนที่ผสมคลุกกันด้วยเครื่องผสม เมื่อคลุกเคล้าจนเป็นเนื้อเดียวกันจึงนำมาหมักในถังพลาสติกขนาด 150 ลิตร โดยอัดให้แน่น และทำการปิดฝาล็อคไว้ให้สนิทหมักไว้เป็นเวลา 21 วัน จึงพร้อมเปิดใช้งาน

การทดลองนี้ใช้แพะเนื้อลูกผสมเพศผู้ (พันธุ์บอร์ 50 % × พันธุ์พื้นเมือง 50 %) น้ำหนักตัวเฉลี่ย 15.09 ± 1.04 กิโลกรัม มีจำนวนทั้งหมด 3 ตัว (ผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม เลขที่เอกสารรับรอง PSRU - (AG) - 2019 - 006 ตามหลักเกณฑ์จรรยาบรรณการใช้สัตว์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ) โดยวางแผนการทดลองแบบ Crossover designs แพะถูกเลี้ยงบนกรงเมทาบอลิซึมใต้กรงมีรางสำหรับเก็บมูล สัตว์ทดลองได้รับอาหารข้นที่มีระดับโปรตีนหยาบ 18 % (ดังส่วนประกอบที่แสดงใน Table 1) ที่ประมาณ 2 % น้ำหนักตัว และได้รับอาหารหยาบแบบไม่จำกัดปริมาณ (*ad libitum*) โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 7.30 และ 16.00 น. มีน้ำให้กินตลอดเวลา ทุกกรงมีที่แขวนแร่ธาตุก้อน พร้อมกับทำการถ่ายพยาธิแพะทุกตัว ใช้เวลาการทดลองรวมทั้งสิ้น 57 วัน แบ่งออกเป็น 3 ระยะการทดลองตาม

Table 1. The experimental dietary formula

Ingredients	% DM basis
cassava chip	31
rice polish	30.1
palm kernel meal	20.56
molasses	1.23
soybean meal	15.06
urea	0.5
premix	1
dicalcium phosphate	0.3
sulfur	0.05
salt	0.2
total	100

แผนการทดลอง โดยแต่ละระยะ ทำการทดลองเป็นเวลา 19 วัน เป็นระยะปรับตัว 14 วัน และระยะเก็บข้อมูล 5 วัน ทำการบันทึกปริมาณอาหารที่กินทั้งเปลือกกล้วยหมักที่ใช้เป็นอาหารหยาบในการทดลองและอาหารข้น เพื่อนำปริมาณอาหารที่กินได้มาคำนวณหาปริมาณการกินได้ในหน่วยกรัมวัตถุแห้งต่อวัน (gDM/d), เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว (% BW) และการกินได้กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักเมแทบอลิก (g/kgW0.75) บันทึกน้ำหนักมูลที่เก็บแต่ละครั้ง และเก็บตัวอย่างเลือดโดยเก็บจากเส้นเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (jugular vein) ใส่สารกันเลือดแข็งตัว (EDTA) นำมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) และเก็บส่วน plasma เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่ายูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (blood urea nitrogen; BUN) และสารชีวเคมีในเลือด ได้แก่ โปรตีนรวม (total Protein; TP) ครีเอตินิน (creatinine; creat) น้ำตาลกลูโคส (glucose) คอเลสเตอรอล (cholesterol) กรดยูริก (uric acid) อัลบูมิน (albumin; Alb) และบิลิรูบินรวม (total bilirubin; TBIL) ตามวิธีการของ Burtis and Ashwood (1994) และ Hallett and Cook (1971) จากนั้น ทำการสุ่มตัวอย่างอาหารและมูลไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ ไขมัน และเยื่อใยหยาบ โดยวิธี proximate analysis (Association of Official Analytical Chemists, 2000) ทำการคำนวณสัมประสิทธิ์การย่อยได้ ตามวิธีการของ Cheva-Isarakul (1998)

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี duncan's new multiple range test (Steel and Torrie, 1980) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Ver.19.0 for windows)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง 3 สูตร (Table 2) พบว่า เปลือกกล้วยหมักมีปริมาณวัตถุแห้ง 18.27 % และเปลือกกล้วยที่ปรับปรุงคุณภาพด้วยมันเส้นและลูกแป้งมีปริมาณวัตถุแห้งเพิ่มขึ้นโดยประมาณ 2 เท่า (37.08 - 38.88 %) อาจเนื่องมาจากมีการผสมมันเส้นในเปลือกกล้วย 30 % ทำให้วัตถุแห้งสูงขึ้น ปริมาณ

Table 2. Effect of cassava chip and fermentation starter supplementation in banana peel silage on chemical composition

Item	T1	T2	T3	Concentrate
Dry matter (%)	18.27	37.08	37.88	87.32
Organic matter (% of DM)	82.96	86.74	86.91	80.15
Crude protein (% of DM)	6.30	4.19	3.88	18.59
Ether extract (% of DM)	13.25	4.91	5.59	7.49
Nitrogen free extract (% of DM)	48.35	65.60	63.85	53.06
Crude fiber (% of DM)	20.00	16.28	16.70	12.56
Ash (% of DM)	12.11	9.02	9.98	8.31

T1 = banana peel silage

T2 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.01 %)

T3 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.02 %)

โปรตีนหยาบของเปลือกกล้วยหมักมีค่าเท่ากับ 6.30 % อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเปลือกกล้วยที่ปรับปรุงคุณภาพด้วยมันเส้นและลูกแป้งปริมาณโปรตีนมีค่าเท่ากับ (3.88 และ 4.19 %) อาจเป็นผลมาจากปริมาณโปรตีนในมันเส้นที่ผสมลงไปมีน้อยกว่าโปรตีนในเปลือกกล้วยจึงทำให้เกิดปริมาณโปรตีนลดลง ในส่วนปริมาณเยื่อใยหยาบของเปลือกกล้วยที่ปรับปรุงคุณภาพด้วยมันเส้นและลูกแป้งมีค่าเท่ากับ (16.28 และ 16.70 %) อาจเป็นเพราะในการปรับปรุงคุณภาพของเปลือกกล้วยหมักด้วยลูกแป้งซึ่งมีเชื้อรา *Aspergillus* spp. สามารถสร้างเอนไซม์ในการย่อยสลายเยื่อใยจึงส่งผลทำให้ปริมาณเยื่อใยลดลง (Hantai *et al*., 2018) ปริมาณไขมันหยาบในเปลือกกล้วยหมักมีค่าอยู่ที่ 13.25 % และเปลือกกล้วยที่ปรับปรุงคุณภาพด้วยมันเส้นและลูกแป้งมีค่าเท่ากับ 4.91 และ 5.59 % ทั้งนี้ การเสริมมันเส้นลงไปส่งผลให้มีปริมาณไขมันลดลง ตรงกันข้ามกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่าย (nitrogen free extract; NFE) เพราะมันเส้นมีคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายอยู่ในปริมาณมาก (75 - 85 %) (Wanapat and Khampa, 2007)

การศึกษาปริมาณการกินได้ที่วัตถุแห้ง (Table 3) ของอาหารข้นและอาหารหยาบของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05) ปริมาณการกินได้ของของวัตถุแห้งรวมตามเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05) โดยมีค่า 3.50, 3.99 และ 3.68 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณอาหารที่สัตว์ได้รับเพียงพอต่อความต้องการการกินได้ของวัตถุแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับ Devendra and Burns (1983) ที่รายงานว่าปริมาณการกินได้ที่วัตถุแห้งของแพะเนื้อในเขตร้อนอยู่ในช่วงระหว่าง 1.9 - 3.8 % ของน้ำหนักตัว

การศึกษาการเจริญเติบโตของแพะ (Table 4) พบว่า น้ำหนักเริ่มต้น (initial body weight; IW) น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain; WG) ทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน (P > 0.05) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (average daily gain; ADG) ทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน (P > 0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 92.22 - 116.11 g/ day ซึ่งสูงกว่าการรายงานของ Seesawhea *et al*. (2017) ที่รายงานว่าแพะที่ได้รับเปลือกข้าวโพดหมักมีอัตราการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 40 - 70 กรัม g/ day ทั้งนี้

อาจเนื่องมาจากเปลือกกล้วยสุกที่นำมาใช้ในการทำอาหารหมักมีปริมาณแทนนินเท่ากับ 43.17 ± 3.46 mg tannic acid/100 g DW (Cham *et al.*, 2019) ปริมาณแทนนินที่มีในเปลือกกล้วยส่งผลให้โปรตีนไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะรูเมน ซึ่ง Barry (1989) รายงานว่า อาหารที่แทนนินเป็นองค์ประกอบ 20 - 40 g/kg DM จะมีผลลดการย่อยสลายของโปรตีนโดยจุลินทรีย์ในรูเมนได้ โดยโปรตีนจะไหลผ่านและดูดซึมในลำไส้เล็ก ซึ่งการย่อยและดูดซึมสารอาหารในลำไส้เล็กมีประสิทธิภาพกว่าในกระเพาะรูเมน (Wu *et al.*, 1991)

Table 3. Effects of cassava chip and fermentation starter supplementation in banana peel silage on feed intake and nutrient intake of goat

Item	*T1*	*T2*	*T3*	*SEM*	*P - value*
Concentrate (*gDM/d*)	278.83	249.11	230.66	10.38	0.53
Roughage (*gDM/d*)	279.42	317.60	311.12	16.18	0.77
Total feed intake (*gDM/d*)	558.25	566.71	541.78	19.42	0.94
Total feed intake ($gDM/kg^{0.75}$)	69.81	77.48	71.92	3.02	0.79
Total feed intake (% *BW*)	3.50	3.99	3.68	0.18	0.74
Nutrient intake (g/day)					
Dry matter	*296.30*	*329.54*	*323.68*	*10.35*	*0.69*
Organic matter	*287.12*	*329.94*	*325.87*	*13.69*	*0.64*
Crude protein	*69.96*	*58.94*	*55.61*	*2.99*	*0.40*
Ether extract	*59.01*	*33.46*	*35.15*	*4.70*	*0.14*
Nitrogen free extract	*92.61*	*80.36*	*82.16*	*4.27*	*0.69*
Crude fiber	*508.70*	*502.71*	*498.79*	*19.68*	*0.99*

SEM = standard error of mean

T1 = banana peel silage

T2 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.01 %)

T3 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.02 %)

Table 4. Effects of cassava chip and fermentation starter supplementation in banana peel silage on growth performance of goat

Items	*T1*	*T2*	*T3*	*SEM*	*P - value*
Initial body weight (*kg*)	*15.93*	*14.25*	*15.08*	*0.60*	*0.60*
Final body weight (*kg*)	*17.33*	*15.36*	*16.46*	0.67	0.37
Weight gain (*g*)	*1,393.33*	*1,106.67*	*1,383.33*	276.81	0.94
Average daily gain (*g/d*)	116.11	92.22	115.28	23.07	0.94

SEM = standard error of mean

T1 = banana peel silage

T2 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.01 %)

T3 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.02 %)

การศึกษาค่าการย่อยได้ (Table 5) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (dry matter digestibility; DMD) ของ T3 (74.43 %) สูงกว่ากลุ่ม T1 (56.88 %) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อาจเป็นผลมาจากการปรับปรุงคุณภาพของเปลือกกล้วยด้วยลูกแป้งมีเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อใช้ในการย่อยผนังเซลล์พืช (Mrudula *et al.*, 2011) ทำให้ปริมาณเยื่อใยลดลงและทำให้มีการย่อยได้ของวัตถุแห้งเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Wachirapakorn *et al.* (2016) ที่รายงานว่าปริมาณของเยื่อใยมีผลต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีน (crude protein digestibility; CPD) และค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของไขมันหยาบ (ether extract digestibility; EED) ของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของเยื่อใยหยาบ (crude fiber digestibility; CFD) ของกลุ่ม T3 สูงกว่ากลุ่ม T1 และ T2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อาจเป็นเพราะจากอาหารทดลองในกลุ่ม T3 มีปริมาณลูกแป้งมากกว่าจึงทำให้มีจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายผนังเซลล์เพิ่มขึ้นจนเกิดกระบวนการย่อยสลายของเยื่อใยในอาหารได้มากกว่า อีกทั้งปริมาณไขมันที่ได้รับของแพะในกลุ่ม T3 มีปริมาณน้อยกว่าแพะในกลุ่ม T1 ซึ่งไขมันจะเข้าไปเคลือบเยื่อใยทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้าไปย่อยสลายเยื่อใยในกระเพาะรูเมนได้ (Devendra and Lewis, 1973) ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่าย (nitrogen free extract digestibility; NFED) และค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอินทรียวัตถุ (organic matter digestibility; OMD) ของกลุ่ม T3 สูงกว่ากลุ่ม T1 ($P < 0.05$) เนื่องจากปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายในกลุ่ม T3 สูงกว่ากลุ่ม T1 จึงส่งผลทำให้มีการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายและอินทรียวัตถุมากกว่า (Chaokaur *et al.*, 2014) และสอดคล้องกับการรายงานของ Bhatt *et al.* (2016) ที่รายงานว่าค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอินทรียวัตถุมีความสัมพันธ์กับปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่าย

Table 5. Effects of cassava chip and fermentation starter supplementation in banana peel silage on digestion coefficients and digestible nutrient intake of goat

Digestion coefficients (%)	T1	T2	T3	SEM	*P-value*
Dry matter	56.88^{b}	64.01^{ab}	74.43^{a}	2.99	0.05
Organic matter	59.36^{b}	68.28^{ab}	77.50^{a}	3.01	0.04
Crude protein	44.93	44.27	58.66	4.33	0.16
Ether extract	19.33	47.54	49.91	6.26	0.13
Nitrogen free extract	71.86^{b}	77.40^{ab}	85.21^{a}	2.32	0.04
Crude fiber	56.88^{b}	59.38^{b}	71.02^{a}	2.64	0.04
Digestible nutrient intake (g / day)					
Dry matter	168.94	212.01	240.41	13.36	0.26
Organic matter	301.80	344.52	385.63	18.80	0.44
Crude protein	31.65	26.57	32.45	2.74	0.73
Ether extract	11.86	16.23	17.46	1.97	0.65
Nitrogen free extract	205.30	254.87	277.13	12.87	0.25
Crude fiber	52.98	48.08	58.24	3.40	0.63

$^{a, b}$ Mean within the same row followed by different superscript letters are significantly different at $P < 0.05$ level by DMRT.
SEM = standard error of mean
T1 = banana peel silage
T2 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.01 %)
T3 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.02 %)

การศึกษาค่าทางชีวเคมีในเลือดแพะ (Table 6) พบว่า ปริมาณกลูโคส ในเลือดของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ (*P* > 0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 62.67 - 65.00 mg/dl โดยปริมาณกลูโคสในกระแสเลือดของแพะที่ได้รับอาหารทดลองอยู่ในช่วงปกติ โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 50 - 75 mg/dl (Kaneko, 1989) ดังนั้น จึงบ่งชี้ว่า แพะมีการได้รับพลังงานจากอาหารเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ปริมาณคอเลสเตอรอล และปริมาณครีเอตินินในเลือดของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ (*P* > 0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.87 - 1.02 mg/dl ซึ่งอยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งปริมาณ creatinine โดยปกติของแพะมีค่าอยู่ระหว่าง 0.75-1.5 mg/dl ปริมาณ Creatinine สามารถบ่งบอกถึงการทำงานของไตในการกรอง creat ออกจากร่างกายผ่านโกลเมอรูลัส อยู่ในสภาวะการทำงานที่ปกติหรือสามารถทำงานได้อย่างปกติ ปริมาณ albumin ในเลือดของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ (*P*>0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.83-3.07 g/dl ปริมาณ albumin ของเลือดแพะจากการทดลองอยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งค่าปกติจะมีค่าอยู่ระหว่าง 2.7 - 3.9 g/dl (Kaneko, 1989) ปริมาณ albumin บ่งบอกถึงการขนส่งสารต่าง ๆ ไปตามกระแสเลือดและปริมาณการได้รับสารอาหารของตัวสัตว์ (Cai, 2007) ปริมาณกรดยูริกในเลือดแพะทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ (*P*>0.05) และปริมาณโปรตีนรวมในเลือดของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน (*P*> 0.05) ปริมาณบิลิรูบินทั้งหมดในเลือดของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน (*P*>0.05) ปริมาณ total bilirubin บ่งบอกถึงสมรรถภาพการทำงานของตับอยู่ในสภาวะปกติ โดยปริมาณ total bilirubin ในแพะปกติจะมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0 - 0.1 mg/dl (Kaneko, 1989) ปริมาณแอสพาเทต อะมิโนทรานสเฟอเรส (aspartate aminotransferase; AST) ในเลือดแพะของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน (*P*>0.05) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 77.00 - 132.00 U/L) โดยปริมาณ AST จากการทดลองอยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งปริมาณ AST

Table 6. Effects of cassava chip and fermentation starter supplementation in banana peel silage on blood biochemical contents of goat

Items	*T1*	*T2*	*T3*	*SEM*	*P-value*
Glucose (mg/dl)	62.67	63.00	65.00	1.32	0.86
Cholesterol (mg/dl)	61.33	48.00	48.67	6.29	0.54
Creatinine (mg/dl)	0.95	0.87	1.02	0.07	0.60
Albumin (g/dl)	3.07	2.87	2.83	0.10	0.64
Uric acid (mg/dl)	0.10	0.10	0.10	0.00	0.80
TP (g/dl)	5.83	6.03	6.27	0.13	0.54
TBIL (mg/dl)	0.20	0.17	0.20	0.01	0.50
AST (U/L)	132.00	91.67	77.00	12.51	0.22
ALT (U/L)	33.33	21.00	17.33	3.88	0.18
BUN (mg/dl)	8.67	6.33	9.33	0.99	0.22

TP = total protein; TBIL= total bilirubin; AST = aspartate aminotransferase; ALT = alanine aminotransferase; BUN = blood urea nitrogen

T1 = banana peel silage

T2 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.01 %)

T3 = banana peel silage with cassava chip 30 % and fermentation starter (0.02 %)

ที่ปกติของแพะมีค่าอยู่ระหว่าง 66 - 230 U/L (Fielder, 2015) ปริมาณ AST สามารถบ่งบอกถึงความผิดปกติในการทำงานของตับ เช่นการอักเสบและการตายของเซลล์ตับได้ (Rattana *et al.*, 2011) ปริมาณอะลานีนอะมิโนทรานสเฟอเรส (alanine aminotransferase; ALT) ในเลือดแพะของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 17.33-33.33 U/L ปกติปริมาณ ALT ของแพะมีค่าอยู่ระหว่าง 15 - 52 U/L (Fielder, 2015) โดยค่าดังกล่าวบ่งบอกและตรวจสอบการทำงานของตับ (Rattana *et al.*, 2011) ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดในเลือดของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 6.33 - 9.33 mg/dl ต่ำกว่าการรายงานของ Chanjula *et al.* (2014) ที่รายงานว่าแพะลูกผสมซาเนนที่ได้รับหญ้ารูซี่สดมีปริมาณยูเรียไนโตรเจนในกระแสเลือดอยู่ในช่วง 16.91 - 21.72 mg/dl อาจเนื่องมาจากแพะได้รับโภชนะประเภทโปรตีนในปริมาณที่น้อย (55.61 - 69.96 g/day) สอดคล้องกับ Preston *et al.* (1965) ที่รายงานว่า ค่า BUN มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนที่กินได้ ซึ่งปริมาณไนโตรเจนในกระแสเลือดในเลือดสามารถบ่งบอกถึงความเหมาะสมของปริมาณสารอาหารโปรตีนที่แพะได้รับและบ่งบอกถึงการขับออกของแอมโมเนียที่ได้จากการย่อยโปรตีนโดยกลไกของร่างกายแพะผ่านการทำงานของไต (Sakha *et al.*, 2009)

สรุป

จากการทดลองสรุปได้ว่าการใช้เปลือกกล้วยหมักร่วมกับมันเส้น และลูกแป้งที่อัตราส่วน 70 : 30 : 0.02 % ทำให้มีปริมาณวัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่ายในอาหารหยาบสูงขึ้น แต่มีโปรตีนหยาบและเยื่อใยหยาบลดลง แต่อย่างไรก็ตามไม่ส่งผลเชิงลบต่อปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งและปริมาณการโภชนะที่กินได้ อีกทั้งเพิ่มสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง อินทรียวัตถุ คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ง่าย และเยื่อใยหยาบ การใช้เปลือกกล้วยหมักร่วมกับมันเส้น และลูกแป้ง ไม่ส่งผลเชิงลบต่อค่าชีวทางเคมีของเลือด ดังนั้น การปรับปรุงคุณภาพเปลือกกล้วยหมักร่วมกับมันเส้นด้วยลูกแป้ง 0.02 % สามารถใช้เป็นอาหารหยาบสำหรับแพะได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ขอขอบคุณฟาร์มปศุสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พิษณุโลก

เอกสารอ้างอิง

Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.

Barry, T.N. 1989. Condensed tannins: their role in ruminant protein and carbohydrate digestion and possible effects upon the rumen ecosystem. pp.153-169. *In*: J.V. Nolan, R.A. Leng, and D.I. Demeyer (eds.). The Roles of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion. Penambol Books, Armidale.

Bhatt, H.D., N.H. Kelawala, V.S. Dabas, R.H. Bhatt, S.K. Jhala, D.N. Suthar and V.D. Dodia. 2016. Incidence of hoof disorders in bovine of south Gujarat. International Journal of Science Environment and Technology 5(5): 3346-3351.

Bourapa, R. and P. Kullama. 2018. Effect of *Saccharomyces cerevisae* on nutritive values and fermentation characteristics of rice straw. Khon Kaen Agriculture Journal 46(5): 947-954. (in Thai)

Burtis, C.A. and E.R. Ashwood. 1994. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2nd ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Cai, J.S. 2007. Effect of protein sources on performance and organ development and serum biochemical indexes in early-weaned lambs. M.S. Thesis. Chinese of Academy Agricultural Sciences, Beijing.

Cham, P., W. Poonsri, I. Lichanporn and N. Lapsongphon. 2019. Effects of ripening stages and extraction conditions on tannin content of Namwa banana peel powder. pp. 659-695. *In*: Proceedings of 20th National Graduate Research Conference. Khon Kaen University, Khon Kaen. (in Thai)

Chanjula, P., P. Pakdeechanuan, S. Wasiksiri and S. Tedprasit. 2014. Effects of dietary protein levels on digestibility, blood metabolites, and production performance of lactating dairy goats. Journal of Agriculture 30(2): 191-200. (in Thai).

Chaokaur, A., Y. Laikhonburi, C. Kunmee, C. Santhong and S. Chimthong. 2014. Evaluation of nutritive value and sugar soluble carbohydrate of pineapple residue. Khon Kaen Agriculture Journal 42 (Suppl. 1): 301-306. (in Thai)

Cheva-Isarakul, B. 1998. Animal Nutrition. 6th ed. Thanaban Printing, Chiang Mai. 170 p. (in Thai)

Devendra, C. and M. Burns. 1983. Goat Production in the Tropics. 2nd ed. Slough: Commonwealth Agricultural Bureau, Farnharm Royal.

Devendra, C. and D. Lewis. 1973. The interaction between dietary lipids and fibre in the sheep 1. A comparison of the methods used for crude fibre and acid-detergent fibre estimations. Animal Science 17(3): 275-280.

Fielder, S.E. 2015. Serum biochemical reference ranges. (Online). Available: https://www.msdvetmanual.com/special-subjects/reference-guides/serum-biochemical-reference-ranges (October 14, 2020).

Hallett, C.J. and J.G.H. Cook. 1971. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clinaca Chimica Acta 35(1): 33-37.

Hantai, P., B. Plangsungnern, C. Chueaphudi, S. Yammuen-art, W. Tartrakoon, P. Rattanapradit and N. Laorodphan. 2018. Effect of cassava chip and fermentation starter supplementation of banana peel silage on chemical composition and *in vitro* digestibility. Journal of Agricultural Research and Extension 35(2) (Suppl. 2): 713-721. (in Thai)

Hnokaew, P. and S. Yammuan-Art. 2019. Effect of lactic acid bacteria inoculation on nutritive value of maize cob and husk with napier pakchong 1 silage at different ensiling period. Khon Kaen Agriculture Journal 47 (Suppl. 2): 747-752. (in Thai)

Kaneko, J.J. 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4th ed. Academic Press, San Diego.

Laorodphan, N. and W. Likittrakulwong. 2017. Effects of banana peel silage on growth performance of crossbred Charolais. Naresuan Phayao Journal 10(2): 50-53. (in Thai)

Mrudula, S., G. Reddy and G. Seenayya. 2011. Screening of various raw starches on production of thermostable amylopullulanase by *Clostridium thermosulfurogenes* SVM17. World Applied Sciences Journal 15(7): 996-1001.

Mukthang, K., W. Tartrakoon, C. Chueaphudi, P. Hantai, T. Tongyoy, W. Likittrakulwong, T. Kassanuk and N. Laorodphan. 2020. Effects of banana peel silage on milk yields in lactating dairy goats. Khon Kaen Agriculture Journal 48 (Suppl 1.): 251-256. (in Thai)

Preston, R.L., D.D. Schnakenberg and W.H. Pfander. 1965. Protein utilization in ruminants. I. Blood urea nitrogen as affected by protein intake. Journal of Nutrition 86(3): 281-287.

Rattana, S., O. Arunsakul and P. Sangkhapaitoon. 2011. Biochemical blood parameters of goats in southern Thailand. Journal of Agriculture 27(3): 283-292. (in Thai)

Sakha, M., M. Shamesdini and F. Mohamad-zadeh. 2009. Serum biochemistry values in Raini goat of Iran. (Online). Available: http://www.ispub.com/journal/the_internet_journal_of_veterinary_medicine/volume_6_number_1_39/article/serum-biochemistry-values-in-raini-goat-of-iran.html. (October 14, 2020).

Seesawhea, Y., P. Saenphoom, A. Chaokaur, S. Chimtong, S. Bureenok and S. Prajukboonjatsada. 2017. Nutritional improvement of corn peel silage using fermented juice from epiphytic lactic bacteria (FJLB), nutrients digestibility and growth performance in crossbred goat. Veridian E-Journal Science and Technology Silpakorn University 4(5): 144-156.

Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 2nd ed. McGraw-Hill, New York.

Wachirapakorn, C., C. Wongnen, A. Cherdthong and K. Phonsaen. 2016. Effects of dried ethanol by-product in total mixed ration on intake, digestibility, yield and milk composition of lactating cows. Journal of Agriculture 32(2): 247-259. (in Thai)

Wanapat, M. and S. Khampa. 2007. Effect of levels of supplementation of concentrate containing high levels of cassava chip on rumen ecology, microbial N supply and digestibility of nutrients in beef cattle. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 20(1): 75-81.

Weerakul, K., C. Sodchit and R. Singganusong. 2015. Extraction and utilization of dietary fiber from banana peels. SDU Research Journal of Sciences and Technology 8(3): 61-80.

Wu, Z., O.A. Ohajuruka and D.L. Palmquist. 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. Journal of Dairy Science 74(9): 3025-3034.

Development of Dairy Cow Mastitis Test Kit Based on Immunochromatographic Strip Using Monoclonal Antibody Against *Staphylococcus aureus*

การพัฒนาชุดตรวจโรคเต้านมอักเสบในโคนมด้วยชุดตรวจแถบสีอิมมูโนโครมาโตกราฟิกโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*

Chatsiri Siriwathanakul [1], Thararat Chitov [2], Kidsadagon Pringproa [3] and Trisadee Khamlor [1*]

ฉัตรศิริ ศิริวัฒนกุล [1] ธารารัตน์ ซือตอฟ [2] กฤษฎากรณ์ พริ้งเพราะ [3] และ ทฤษฎี คำหล่อ [1*]

[1]Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[1]ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[2]Microbiology Division, Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[2]สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[3]Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[3]หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[*]Corresponding author: Email: trisadee.kha@gmail.com

(Received: 6 July 2021; Accepted: 15 September 2021)

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดตรวจแถบสีสำหรับระบุเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบในน้ำนมดิบของแม่โค อาศัยเทคนิคภูมิคุ้มกันวิทยาโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ทำการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *S. aureus* และทดสอบการเกิดปฏิกิริยาข้าม ในเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบกลุ่มอื่น ๆ ได้แก่เชื้อ *Enterococcus faecalis, Streptococcus agalactiae* และ *Escherichia coli* ด้วยเทคนิคอินไดเรคเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์เอสเซ (indirect enzyme-linked immunosorbent assay: indirect-ELISA) ที่จำนวนเชื้อก่อโรค 10^6, 10^7, 10^8 และ 10^9 CFU/mL พบว่า ระดับความเข้มข้นของโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาคือ 1:2,500 สามารถจับกับเชื้อ *S. aureus*, *E. faecalis, S. agalactiae* และ *E. coli* ที่จำนวนเชื้อ 10^9 CFU/mL ได้เท่ากับ 100, 30, 13 และ 10% ตามลำดับ เมื่อนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีพัฒนาเป็นชุดตรวจแถบสี โดยนำมาติดฉลากกับ colloidal gold ขนาด 40 nm (pH 9.0) สามารถเชื่อมติดกันได้สูงสุดที่ค่าการวัดดูดกลืนแสง 532 nm จากนั้นนำโมโนโคลนอลแอนติบอดี ความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 0.5 µL หยดบนแผ่นกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ที่ตำแหน่งทดสอบ และหยด goat anti-mouse IgG (H+L) ความเข้มข้น 0.8 mg/mL ปริมาตร 0.5 µL ที่ตำแหน่งควบคุมปฏิกิริยา จากนั้นนำชุดตรวจมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 14-16 ชั่วโมง หลังจากประกอบชุดตรวจทดสอบสำเร็จ จึงนำชุดตรวจไปทดสอบด้วยการหยดตัวอย่างเชื้อก่อโรคชนิดต่าง ๆ ที่จำนวน 10^9 CFU/mL ในสารละลายบัฟเฟอร์ พบว่า เฉพาะตัวอย่างที่มีเชื้อก่อโรค *S. aureus* แสดงแถบสีชมพูม่วง ในตำแหน่งควบคุมและตำแหน่งทดสอบ ขณะที่เชื้อก่อโรคชนิดอื่นแสดงแถบสีชมพูม่วงในตำแหน่งควบคุมเท่านั้น ดังนั้นชุดตรวจระบุเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบ ที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นชุดทดสอบที่มีความจำเพาะต่อ *S. aureus* และใช้เป็นชุดตรวจต้นแบบในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อระบุการติดเชื้อ *S. aureus* ที่รวดเร็วสำหรับวินิจฉัยเชื้อก่อโรคเต้านมอักเสบได้

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

คำสำคัญ: โคนม โรคเต้านมอักเสบ สแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส โมโนโคลนอลแอนติบอดี ชุดตรวจแถบสี

Abstract: This study aimed to develop an immunochromatographic strip test based on immunological techniques using monoclonal antibodies against *Staphylococcus aureus*, an infection mastitis pathogen in raw milk. Specificity of monoclonal antibodies to *S. aureus* and cross-reactivity to other potential mastitis pathogens, such as *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, and *Escherichia coli* were evaluated at the bacterial levels of 10^6 - 10^9 CFU/mL, using indirect enzyme-linked immunosorbent assay (indirect-ELISA). The results have shown that the optimal concentration of monoclonal antibodies in the indirect-ELISA test was 1:2,500, which could bind *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. agalactiae* and *E. coli* (10^9 CFU/mL) with binding 100, 30, 13 and 10%, respectively. To develop the strip, monoclonal antibodies were linked with colloidal gold (size 40 nm, pH 9.0), at the wavelength of 532 nm. After that, 1 mg/mL of monoclonal antibodies (0.5 µL), and 1.0 mg/mL of goat anti-mouse IgG (H+L) (0.5 µL), were coated on nitrocellulose membrane at the control line and test line, respectively. The strip was then incubated at 37 °C for 14-16 hours and assembled with the other components to create a prototype of the immunochromatographic strip test. To test the specificity of the strip test device, suspension of bacterial cells prepared at 10^9 CFU/mL in running buffer was dropped onto the sample pad. The samples containing *S. aureus* formed purple-pink bands at the control line and the test line, while the samples containing other bacteria created a purple-pink band only at the control line. In conclusion, the developed mastitis detection kit was highly specific to *S. aureus* and could be used as a laboratory-level of the prototype for rapid determination of *S. aureus* infection in investigation causing mastitis.

Keywords: Dairy cattle, mastitis, Staphylococcus aureus, monoclonal antibody, immunochromatographic strip

Introduction

According to the Cooperative Promotion Department of Thailand data, raw milk production during 2015 and 2020 was up to 1,371,133 tons, which was valued at approximately 25 billion Thai Baht. This suggests that raw milk production generate a significant economic value for the nation's agriculture and dairy farmers. Nevertheless, the farmers have still been facing many problems, one of which is mastitis, which has been causing damage to the dairy farming industry. Mastitis is caused by infection and inflammation in the cow's udder, leading to decrease in yield and milk quality. This results in a loss of income and increased expenses for the treatment of the disease and care of the infected animals, which were 40.45 Baht per milking cow per month (Sirinupongsanun and Simasatitkul, 1997). Inflammation in the udder tissue can be either symptomatic or asymptomatic. For the latter, milk production decreases while the symptoms of the disease are difficult to observe. The common tool for preliminary mastitis testing is the California mastitis tests (CMT), which is based on observing the changes in color and viscosity of milk. The chemical used in CMT was an anionic detergent, which would expose the DNA of white blood cells, causing the samples to appear more viscous. In other words, if the viscosity of blood in CMT increases, there is an asymptomatic infection in the cow (Barkema *et al.*, 1998). Mastitis detection using CMT can determine infection and approximate

degrees of infection, but it does not identify specific pathogens. The bacterial pathogens causing mastitis can be divided into two types: contagious and environmental pathogen. Pathogens that are contagious can spread from one animal to another, whereas pathogens that are environmental can spread to the farm environment and infect cows through direct contact. A recent report shows that mastitis in Northern Thailand is mainly caused by bacteria *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* and *Streptococcus dysagalactiae* (Leelahapongsathon *et al*., 2014). Furthermore, other species such as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* also cause mastitis in the cow (Hamann, 2010). In particular, the prevalence of *S. aureus* infection in dairy cattle subclinical mastitis in Chiang Mai province is 8 % (Pumipuntu *et al*., 2017). Identification of specific pathogens can be performed in laboratory using polymerase chain reaction (PCR) (Boerlin *et al*., 2003), detecting nucleotides in natural samples by metagenomics DNA sequencing (Tringe and Rubin, 2005), or loop-mediated isothermal amplification (LAMP) (Sowmya *et al*., 2012). These methods require a complicated process, an expensive budget, and a long time to obtain the results. Therefore, detection of specific pathogens using immunological techniques with the cohesion of antigen and specific monoclonal antibody, which are simple, inexpensive, and rapid, is a promising approach. Thus, this study aimed to develop an immunochromatographic strip using monoclonal antibody against *S. aureus* to identify the cause of mastitis.

Materials and Methods

Species confirmation of bacterial strain

Four species of microorganisms were used, including *Staphylococcus aureus* AU17, which is the target microorganism, *Streptococcus agalactiae* SA35, which is a representative of contagious pathogenic streptococci, *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* TISTR117, which are the representatives of environmental pathogens.

Firstly, the microorganisms were examined for their morphology under a light microscope. The 4 species were examined for their biochemical properties, including growth on Baird-Parker egg-yolk agar, coagulase production and hemolytic activity on Columbia ANC agar + 5 % sheep blood. Then, the species of each bacterial strain was confirmed using 16S rRNA gene sequencing (performed by Macrogen (Korea) through U2Bio Sequencing Service). Finally, the growth rates of the 4 species were measured to determine the numbers of the pathogens to be used in the immunological techniques.

The specificity test of monoclonal antibody

1. Optimization of monoclonal antibody concentration-based indirect-ELISA technique

Mouse anti-*S. aureus* monoclonal antibody concentration was optimized using the indirect-ELISA technique. Firstly, a 100 µL portion of 10^6 - 10^9 CFU/mL *S. aureus* AU17 was coated on a microtiter plate and incubated at 4 °C for 14 - 16 hours. Secondly, the excess cells were washed three times with 250 µL of 1XPBS + 0.05% Tween-20 (PBST; Millipore, USA). Thirdly, the plate was blocked using 200 µL of 5 % BSA (Millipore, USA) and incubated at 37 °C for 2 hours, and then washed with 250 µL of PBST for three times. Then, the 1.5 mg/mL of the primary antibody, which is mouse anti-*S. aureus* monoclonal antibody (mouse anti-*S. aureus* mAb) (Fitzgerald, USA), was added

at the ratios of 1 : 1,000, 1 : 2,500 and 1 : 5,000 and the microliter plate was incubated at 37 °C for 1 hour before washing with 250 µL of PBST for three times. Next, 0.8 mg/mL of the secondary antibody, which is peroxidase-conjugated affinipure goat anti - mouse IgG (H + L) (Jackson ImmunoResearch, Suffolk, UK), was added at the ratio of 1 : 5,000 at 37 °C for 1 hour before washing with 250 µL of PBST for three times. After that, 100 µL of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) substrate (Surmodics, USA) was added, and the color change was observed at 10 minutes after substrate addition. Finally, the reaction was stopped by adding 50 µL of 2 M H_2SO_4. The result was read at 450 nm using a microplate reader (AccuReader, Metertech, Taipei, Taiwan, ROC).

2. Specificity and sensitivity test using indirect-ELISA technique

Specificity of mouse anti-*S. aureus* mAb (Fitzgerald, USA) was tested using *S. aureus* AU17 and other bacteria such as *E. faecalis*, *S. agalactiae* SA35 and *E. coli* TISTR117. The sensitivity of the test was investigated using the reactions between mouse anti - *S. aureus* mAb and each bacterial strain (10^6 - 10^9 CFU/mL) using of the indirect-ELISA technique, following the experimental steps.

Immunochromatographic strip design

1. Preparation of the colloidal gold-linked mouse anti-*S. aureus* mAb

The pH of 40 nm colloidal gold (Kestrel Bio Sciences, Thailand) was adjusted to 4-10 using 0.2 M K_2CO_3 (LOBA Chemie, India) and added onto the microliter plate at 100 µL each. After that, 10 µL of 0.1 mg/mL antibody (Fitzgerald, USA) was added before incubating at room temperature for 30 minutes under an agitating condition (30 rpm). Then, 0.5 % (w/v) BSA was added to block non-specific binding of the antibody and incubated for another 1 hour. Next, 10 µL of 3 M NaCl was added and observed for color changes. The colloidal gold (100 µL) prepared at the optimum pH and 0.1-0.5 µg of mouse anti-*S. aureus* mAb were added onto the microtiter plate respectively, before the incubation at room temperature for 30 minutes under an agitating condition (30 rpm). After that, it was blocked with 0.5 % (w/v) BSA before another 1-hour incubation. Next, 3 M NaCl (RCI Labscan Limited, Thailand) was added and formation of flocculation was observed.

Mouse anti-*S. aureus* mAb (200 µL of 0.1 mg/mL) was added into a conical tube containing 20 mL colloidal gold (pH 9) before incubating it at room temperature for 30 minutes under an agitating condition (30 rpm). After that, 0.5 % (w / v) BSA was added and further incubated for 1 hour. Finally, the conical tube was centrifuged. The pellet was kept in 1,000 µL of gold storage buffer and stored at 4 °C. The result of the conjugation between the antibody and the colloidal gold was observed at the absorbance range of 400 - 600 nm using a spectrophotometer. The conjugate was electrophoresis viewed through run on 1 % of agarose gel run at 100 V for 35 minutes.

2. Coating preparation of immunochromatographic test strip

The detection kit composes of 4 parts: nitrocellulose membrane, conjugated pad, wicking pad and sample pad. The first step of assembling was to attach the nitrocellulose membrane (CN95; GE healthcare, USA) on the backing card (6 cm). After that, 0.5 µL of affinipure goat anti-mouse IgG (H-L) and 0.5 µL of mouse anti-*S. aureus* mAb were dropped on the control line and the test line,

respectively, before incubation at 37 °C for 14 - 16 hours. The conjugate pad, which is a glass fiber (GF33; GE healthcare, USA), was sprayed with mouse anti - *S. aureus* mAb - colloidal gold conjugated, before it was incubated at 37 °C for 14 - 16 hours. In the last step of assembling, the wicking pad (Whatman #470; Whatman®, UK) was placed next to the control line. The conjugated pad was then attached over the test line and covered by the sample pad (Millipore Surewick™ C048; Millipore, USA). The detection kit was cut into the size of 60 x 3.8 mm (Figure 1)

3. Efficiency test of immunochromatographic strip

The immunochromatographic strip was tested with *S. aureus* AU17, *E. faecalis*, *S. agalactiae* SA35 and *E. coli* TISTR117 and running buffer was used as a negative control. Sensitivity was examined using cells prepared at 10^6 - 10^9 CFU / mL in a PBS solution.

Results and Discussions

Species confirmation of bacterial strain

The result of culturing of *S. aureus* AU17 on Baird-Parker egg-yolk agar showed that the colonies of *S. aureus* AU17 were black, surrounded by opaque zone. The cells, examined under the microscope, were Gram-positive cocci, arranged in grape-like clusters. The biochemical test results gave positive reaction in coagulase test and showed β - hemolysis on Columbia ANC agar 5 % Sheep blood. The culture was confirmed as *S. aureus*, having the characteristic consistent to those of *S. aureus* listed by Boerlin *et al*. (2003). Furthermore, the DNA sequencing result showed 99.92 % similarity, which was close to *S. aureus* nucleotide sequence (Accession No. NR115606.1). For other species, morphological characteristics were examined in the same way. The nucleotide sequencing results showed that

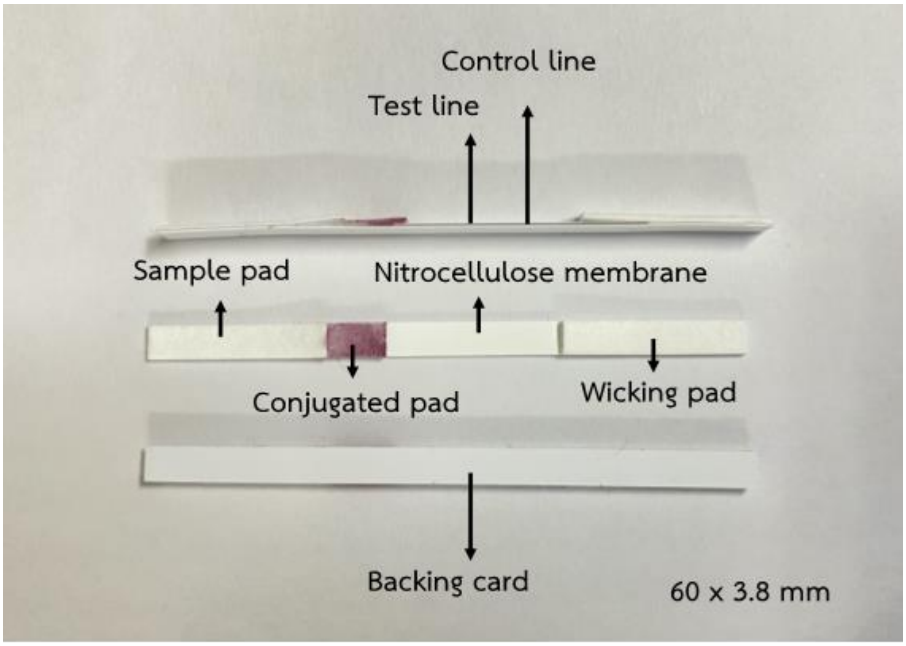

Figure 1. Components of the immunochromatographic test strip

they were *E. faecalis*, *S. agalactiae* and *E. coli*, with the similarity of 100, 99.77 and 99.25 %, respectively.

Specificity test of monoclonal antibody by using immunological techniques

1. Optimization of antibody concentration

The 1.5 mg/mL of mouse anti-*S. aureus* mAb (clone; M310128) produced by Fitzgerald, USA, was diluted into 0.5 % BSA (in 1XPBS + 0.05 % Tween-20) in the ratio of 1 : 1,000, 1 : 2,500 and 1 : 5,000. Peroxidase-conjugated affinipure goat anti-mouse IgG (H+L) (0.8 mg/mL), which was the secondary antibody, was used at 1 : 5,000. The absorbance results at 450 were 1.031, 0.942 and 0.215, respectively. The concentration of 1 : 2,500 was the optimal concentration because the antibody used was less than 1 : 1,000 and the attachment was better than 1 : 5,000 (Belkessam *et al*., 2010).

2. Specificity and sensitivity test using indirect-ELISA technique

The 1.5 mg/mL of mouse anti-*S. aureus* mAb prepared at the ratio of 1 : 2,500 and 0.8 mg/mL of peroxidase-conjugated affinipure goat anti-mouse IgG (H+L) prepared at the ratio of 1 : 5,000 were used in the sensitivity test with *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. agalactiae* and *E. coli*. (10^6-10^9 CFU/mL). The highest absorbance at 450 nm was observed at a cell concentration of 10^9 CFU/mL for the strain.

Specificity testing of mouse anti-*S. aureus* mAb subclass IgG3 against *S. aureus* AU17 showed that the binding ability was 100 % because mouse anti-*S. aureus* mAb subclass IgG3 was specific to protein A on the region of peptidoglycan on the cell surface of *S. aureus*. Furthermore, the mouse anti-*S. aureus* mAb subclass IgG3 was able to bind with *E. faecalis*, *S. agalactiae* SA35 and *E. coli* TISTR117. The non-specific binding abilities were 30, 13 and 10 %, respectively (Figure 2). Such binding occurred because they were able to loosely bind with other epitopes which were similar to protein A on cell surface (Guidry *et al*., 1991; Guo *et al*., 2018).

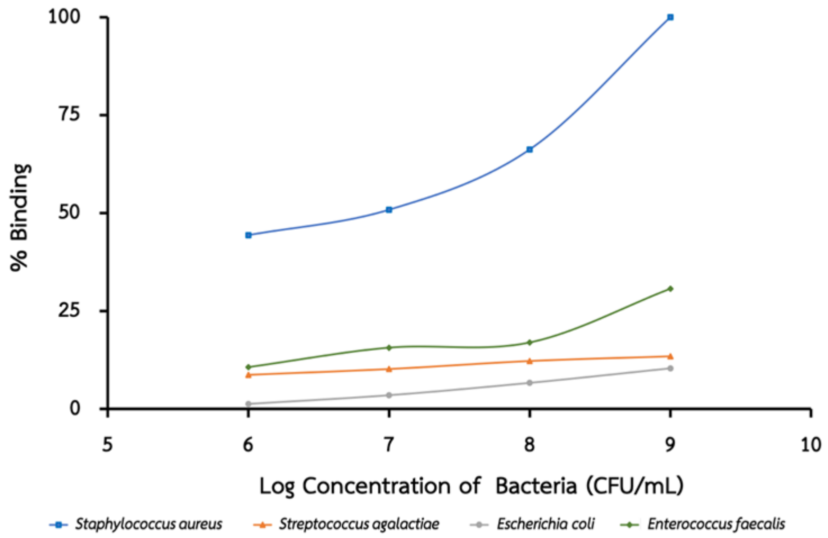

Figure 2. Percentage of binding ability between mouse anti-S. *aureus* mAb and various bacterial species

Immunochromatographic strip design

1. Optimization of pH and antibody concentration

The pH scales ranging from 4 to 9 were evaluated for conjugation of antibody and colloidal gold. The pH 4 and 5, resulted in color changing of colloidal gold from red to gray. After centrifuging at 13,000 rpm for 15 minutes, it was found that it created hard pellet, which made it not applicable. The pH 6 - 8 was close to the optimum point, resulting in faded color on the strip. The optimum pH of colloidal gold was found to be pH 9, which resulted in soft pellet after centrifugation, and showed purple-red color on the strip.

The colloidal gold prepared at pH 9 was examined with 1-5 µg/mL of mouse anti-*S. aureus* mAb. The results showed that 1 µg / mL was the optimum concentration for colloidal gold conjugation because flocculation was not found. Colloidal gold linked to mouse anti-*S. aureus* mAb was measured using a spectrophotometer in the range of 400 - 600 nm. The strongest absorbance was 532 nm, which gave the highest OD. While the wavelengths lower and higher than 532 nm yielded low OD (Figure 3). The result of this study was revealed in accordance with the previous study of Niu (2014), which showed 20 nm of colloidal gold conjugated with 1.0 mg/mL of mouse anti-*S. aureus* mAb gave the highest OD at 520 nm. Moreover, Upadhyay and Nasa (2018) found that 16 nm of colloidal gold conjugated with at least 0.015 mg/mL concentration of anti-staphylococcal enterotoxin A (SEA) mAb, gave the highest OD at 520 nm. The study of Srisrattakarn *et al.* (2020) showed that 13 nm of gold nanoparticles conjugated with 0.18 mg/mL of anti-protein A polyclonal antibody (anti-protein A pAb) yielded the highest OD at 521 nm. The result of electrophoresis showed the bands of conjugation between the mouse anti-*S. aureus* mAb and the colloidal gold (Figure 4). The formed bands were due to anionic monoclonal antibodies conjugated with gold nanoparticles moved towards the anode, whereas without monoclonal antibody conjugated with gold nanoparticles no band was found (Tomás *et al*., 2019).

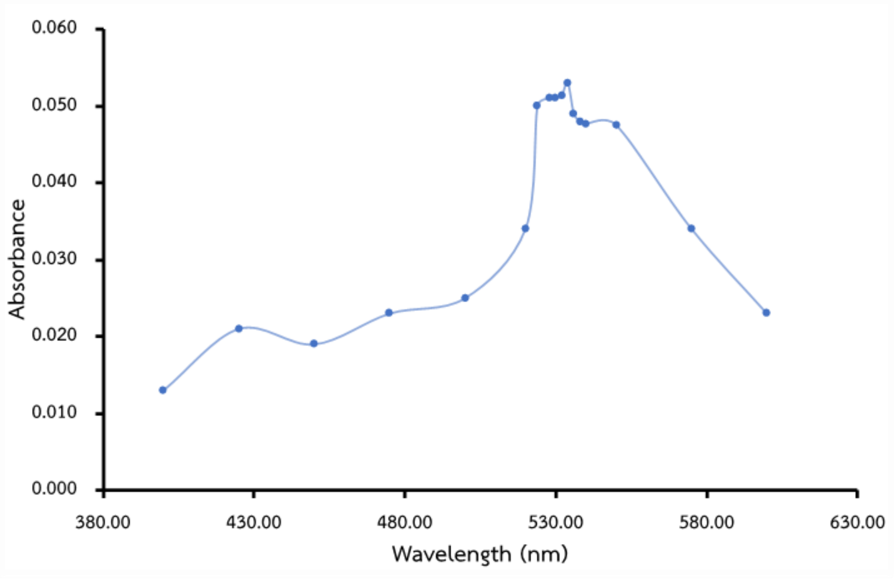

Figure 3. UV-visible spectra of colloidal gold-antibody conjugates

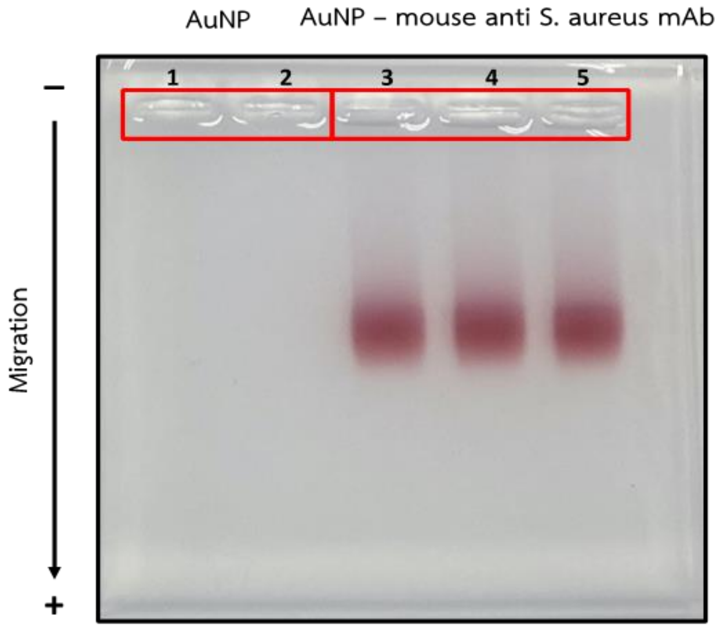

Figure 4. Detection of conjugated colloidal gold by electrophoresis (Lanes 1 and 2 were unconjugated with colloidal gold. Lanes 3 to 5 were mouse anti-S. *aureus* mAb conjugated with colloidal gold)

2. Efficiency test of immunochromatographic strip

S. aureus AU17 (prepared at 10^9 CFU/mL) was suspended in running buffer and examined with the immunochromatographic strip. The positive result showed a purple-pink signal on the test line when the colloidal gold linked with mouse anti - *S. aureus* mAb was attached to *S. aureus* AU17 (colloidal gold-mAb-antigen complex). The complexes were then moved towards the test line and bound to mouse anti-*S. aureus* mAb, which was coated on the test line.

Subsequently, the signal on the control line was formed, due to the colloidal gold linked with mouse anti-*S. aureus* mAb were bound to AffiniPure Goat Anti-Mouse IgG (H + L), which was coated on the control line. In contrast, the pure running buffer without specific pathogen showed a purple-pink signal only on the control line (Figure 5).

The immunochromatographic test strip with *S. aureus* AU17 showed a positive result as the antibody specifically reacted to the target. The test with the other species such as *E. faecalis*, *S. agalactiae* SA35 and *E. coli* TISTR117 showed negative results as they did not have reaction with the *S. aureus* antibody, resulting in no signal formed on the test line, suggesting that the antibody was not specific to them. For the concentration of sensitivity of this developed immunochromatographic strip, it was found that 10^9 CFU/mL was the lowest concentration that could be detected. The concentration lower than 10^9 CFU/mL did not yield positive result because the antibody did not have as high binding capacity as a similar antibody in the study of Wiriyachaiporn *et al.* (2013), in which at least 10^6 CFU/mL was detected. Another study by Srisrattakarn *et al.* (2020), in which pAb was used against *S. aureus* AU17, showed that the lowest detectable concentration was 10^7 CFU/mL.

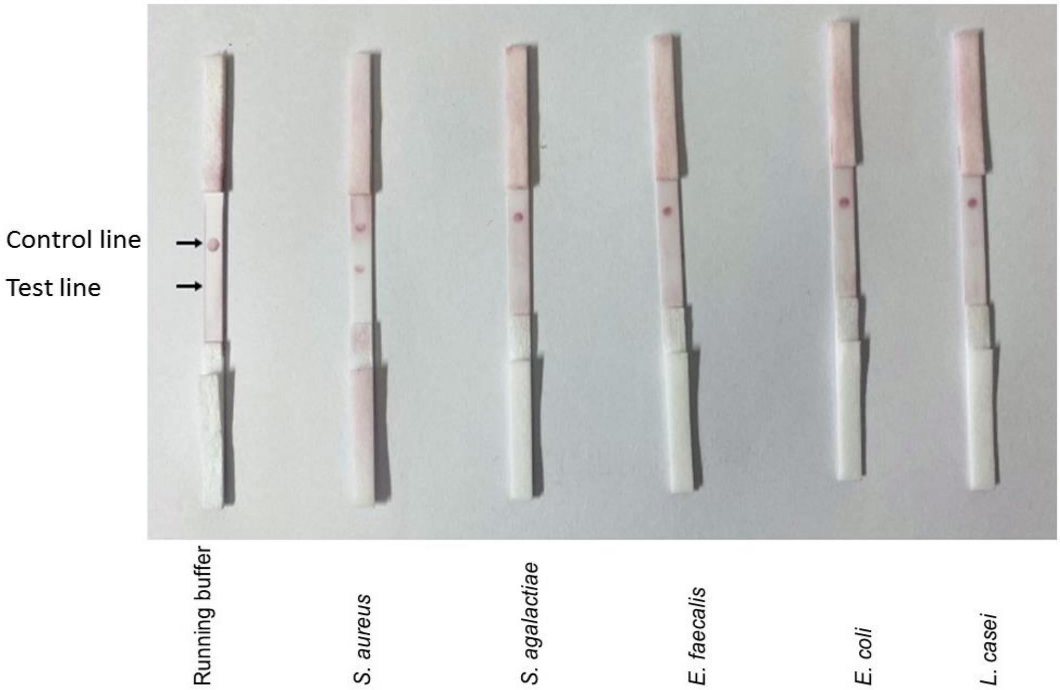

Figure 5. Specificity test of Immunochromatographic strip

Conclusion

The immunochromatographic strip was developed to detect *S. aureus* AU17, the major cause of contagious mastitis in cows. Investigation of the mouse anti-*S. aureus* monoclonal antibodies properties, using indirect ELISA technique, showed that the monoclonal antibodies could attach to the pathogen when the concentration was at least 10^9 CFU/mL. The antibody had 100 % specificity with *S. aureus* AU17. Furthermore, non-specific binding was not found with other bacteria (*E. faecalis*, *S. agalactiae* SA35 and *E. coli* TISTR117). This immunochromatographic strip provided an accurate detection of *S. aureus* and can be used as a prototype for further development of the test kit for field testing of mastitis pathogens.

Acknowledgement

The authors thank the Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture; Microbiology Division, Department of Biology, Faculty of Science; and Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, for supporting this work.

References

Barkema, H.W., Y.H. Schukken, T.J.G.M. Lam, M.L. Beiboer, H. Wilmink, G. Benedictus and A. Brand. 1998. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. Journal of Dairy Science 81(2): 411-419.

Belkessam, Y., M. Benali, S. Moulessehoul and D. Harrach. 2010. Polyclonal antibodies production against *Staphylococcus aureus* protein A: ELISA technique optimization for milk quality control. African Journal of Biotechnology 9(5): 764-769.

Boerlin, P., P. Kuhnert, D. Hüssy and M. Schaellibaum. 2003. Methods for identification of *Staphylococcus aureus* isolates in cases of bovine mastitis. Journal of Clinical Microbiology 41(2): 767-771.

Guidry, A.J., K.E. Squiggins, W.F. Vann and D.C. Westhoff. 1991. Prevention of nonspecific binding of immunoglobulin to *Staphylococcus aureus* protein A in ELISA assays. Journal of Immunological Methods 143(2): 159-165.

Guo, H., Y.H. Yuan, C. Niu, Y. Qiu, J.P. Wei and T.L. Yue. 2018. Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of osmotolerant yeast *Zygosaccharomyces rouxii* in different food. Food and Agricultural Immunology 29(1): 976-988.

Hamann, J. 2010. Mastitis and raw milk quality, safety and yield. pp. 246-263. *In:* M.W. Griffiths (ed.). Improving the Safety and Quality of Milk: Milk Production and Processing. Woodhead Publishing Ltd., Oxford.

Leelahapongsathon, K., Y.H. Schukken and W. Suriyasathaporn. 2014. Quarter, cow, and farm risk factors for intramammary infections with major pathogens relative to minor pathogens in Thai dairy cows. Tropical Animal Health and Production 46(6): 1067-1078.

Niu, K., Z. Xiaoping, H. Chusen, X. Kuan, Z. Yuan, S. Hebai and J. Nengqin. 2014. A colloidal gold nanoparticle-based immunochromatographic test strip for rapid and convenient detection of *Staphylococcus aureus*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology 14(7): 5151-5156.

Pumipuntu, N., S. Kulpeanprasit, S. Santajit, W. Tunyong, T. Kong-Ngoen, W. Hinthong and N. Indrawattana. 2017. Screening method for *Staphylococcus aureus* identification in subclinical bovine mastitis from dairy farms. Veterinary World 10(7): 721-726.

Sirinupongsanun, V. and N. Simasatitkul. 1997. Mastitis Prevention and Control: Expense, Milk Quality and Incidence of Mastitis. Journal of Agriculture 13(3): 193 - 200.

Sowmya, N., M.S. Thakur and H.K. Manonmani. 2012. Rapid and simple DNA extraction method for the detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* directly from food samples: comparison of PCR and LAMP methods. Journal of Applied Microbiology 113(1): 106-113.

Srisrattakarn, A., P. Tippayawat, A. Chanawong, R. Tavichakorntrakool, J. Daduang, L. Wonglakorn and A. Lulitanond. 2020. Development of a prototype lateral flow immunoassay for rapid detection of staphylococcal protein A in positive blood culture samples. Diagnostics 10(10): 794, doi: 10.3390/diagnostics 10100794.

Tomás, A.L., M.P. de Almeida, F. Cardoso, M. Pinto, E. Pereira, R. Franco and O. Matos. 2019. Development of a gold nanoparticle-based lateral-flow immunoassay for *Pneumocystis* pneumonia serological diagnosis at point-

of-care. Frontiers in Microbiology 10: 2917, doi: 10.3389/fmicb.2019.02917.

Tringe, S.G. and E.M. Rubin. 2005. Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples. Nature Reviews Genetics 6(11): 805-814.

Upadhyay, N. and S. Nara. 2018. Lateral flow assay for rapid detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxin A in milk. Microchemical Journal 137: 435-442.

Wiriyachaiporn, S., P.H. Howarth, K.D. Bruce and L.A. Dailey. 2013. Evaluation of a rapid lateral flow immunoassay for *Staphylococcus aureus* detection in respiratory samples. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 75(1): 28-36.

การพัฒนาไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะจากยีน Cytochrome Oxidase I เพื่อตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) เพื่อส่งเสริมการส่งออก

Development of Cytochrome Oxidase I Gene Specific Primers for Diagnosis of Melon Fly, *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) for Export Promotion

ยุวรินทร์ บุญทบ [1*] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล [1] และ นพรัตน์ บัวหอม [2]
Yuvarin Boontop [1*], Nutthima Kositcharoenkul [1] and Nopparat Buahom [2]

[1]สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 19000
[1]Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 19000, Thailand
[2]สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 19000
[2]Office of Agricultural Regulation, Department of Agriculture, Bangkok 19000, Thailand
**Corresponding author: Email: Yuvarin9320@gmail.com*

(Received: 8 March 2021; Accepted: 6 June 2021)

Abstract: The melon fly, *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett), is a quarantine pest species for many countries. Larvae of melon fly are intercepted by quarantine inspections, but their morphological similarity to other fruit fly species makes identification difficult and unreliable. Rapid, precise identification of immature fruit flies associated with imported/exported fresh produce is essential to ensure appropriate biosecurity decisions at quarantine barriers, or where commodities are inspected prior to export. Species-specific primers were designed by amplifying the cytochrome oxidase I (*cox1*) gene to identify *Z. cucurbitae* in its various life stages. The species-specific assay demonstrated high specificity, sensitivity and reliability for 11 species examined (*Bactrocera carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. umbrosa, Dacus longicornis, Zeugodacus apicalis, Z. caudatus, Z. cilifera, Z. cucurbitae* and *Z. tau*). This study demonstrated the feasibility of using species-specific diagnostic tools (utilising 83 base pair sequences) for identifying fruit fly populations from all regions of Thailand. The primers were also validated on samples intercepted by plant inspections at Suvarnabhumi airport of agricultural products destined for exporting from Thailand. The primer pairs from this research are accurate, fast and efficient. Thus, they make it possible to detection of quarantine pests at early points in the production and export pathway. The present study is a model for developing diagnostic techniques for various pests which will in turn : promote trading partner confidence in Thai certification systems and enhance the diversity, quality and value of Thai agricultural products.

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

Keywords: Species-specific primer, fruit flies, melon fly

บทคัดย่อ: แมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) เป็นศัตรูพืชกักกันที่สำคัญในหลายประเทศทั่วโลก และจากการสุ่มตรวจศัตรูพืชในการส่งออกและนำเข้าของประเทศไทยมักพบตัวหนอนแมลงวันผลไม้ ซึ่งเป็นสาเหตุหลักในการกีดกันทางการค้า จากลักษณะสัณฐานของตัวหนอนที่คล้ายคลึงกันมากทำให้การระบุชนิดนั้นทำได้ยาก ดังนั้น การจำแนกชนิดของตัวหนอนแมลงวันแตงด้วยเทคนิคที่มีความรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ นั้นมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการส่งออกผลิตผลทางการเกษตร การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชโดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อศัตรูพืชนั้นถือว่าเป็นการพัฒนาวิธีการตรวจสอบที่มีประสิทธิภาพสูงมาก งานวิจัยนี้จึงได้ออกแบบคู่ไพรเมอร์จากยีน *Cytochrome c oxidase subunit I* (*cox1*) ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* โดยทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ด้วยการทดสอบกับตัวอย่างแมลงวันผลไม้ 11 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. umbrosa, Dacus longicornis, Zeugodacus apicalis, Z. caudatus, Z. cilifera, Z. cucurbitae* และ *Z. tau* ซึ่งให้ผลบวกเฉพาะ *Z. cucurbitae* มีขนาดดีเอ็นเอ 83 คู่เบส และพบว่าสามารถใช้ตรวจสอบดีเอ็นเอเป้าหมายจากตัวอย่างแมลงวันแตงในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย จากทุกภูมิภาคของประเทศไทย รวมทั้งจากตัวหนอนที่ตรวจพบการปนเปื้อนในผักผลไม้ที่ต้องการส่งออกไปขายยังต่างประเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพแสดงให้เห็นว่าไพร์เมอร์ที่ทำการออกแบบนั้นมีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือวินิจฉัยเพื่อระบุชนิดแมลงวันผลไม้ก่อนการส่งออกผัก ผลไม้ อีกทั้งสามารถเป็นต้นแบบในการประยุกต์ใช้พัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ นำไปสู่การการสร้างความมั่นใจให้กับประเทศคู่ค้า เพิ่มขีดความสามารถในการส่งออกสินค้าพืชผลทางการเกษตรของประเทศไทยและการเพิ่มมูลค่าของสินค้าเกษตรของไทย

คำสำคัญ: ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ แมลงวันผลไม้ แมลงวันแตง

คำนำ

แมลงวันแตง (melon fly): *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) สามารถเข้าทำลายและสร้างความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจมากกว่า 125 ชนิด (Piñero *et al*., 2006) โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชวงศ์แตง เช่น แตงกวา แตงโม แคนตาลูป บวบเหลี่ยม ฟักทอง และมะระ เป็นต้น ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อคุณภาพของผลผลิต พบความเสียหายจากการเข้าทำลายผลผลิตทางการเกษตรอยู่ระหว่าง 30 - 100 % (Dhillon *et al*., 2005) โดยพบความเสียหายต่อมะม่วง (12 - 60 %) ฝรั่ง (40 - 90 %) และมะละกอ (12 - 60 %) (Allwood and Leblanc, 1997) จัดเป็นศัตรูพืชที่มีสำคัญอันดับหนึ่งของพืชผัก ก่อให้เกิดผลกระทบต่อการส่งออกพืชผักผลไม้ไปยังตลาดโลก (De Meyer *et al*., 2015) เนื่องจากมักพบแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* เข้าทำลายและพบปัญหาการปนเปื้อนของตัวหนอนแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ติดไปกับพืชผักที่ต้องการส่งออก ส่งผลกระทบต่อเนื่องในการส่งออกพืช ผัก ผลไม้ของไทยไปยังต่างประเทศ เป็นสาเหตุหลักในการกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศอีกด้วย (Koyama *et al*., 2004; Piñero *et al*., 2006) และในปัจจุบันจากความเข้มงวดในการนำเข้าผักผลไม้จากไทยไปสู่ตลาดโลกมีมาตรฐานสูงขึ้น และมีการแข่งขันการส่งออกพืช ผัก และผลไม้ของประเทศในภูมิภาคอาเซียนสูงขึ้นตามลำดับนั้น การจำแนกชนิดแมลงศัตรูพืชที่มีโอกาสติดไปกับการส่งออกหรือนำเข้านั้นมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการใช้เป็นข้อมูลยืนยันประกอบการส่งออกและนำเข้า แต่ปัจจุบันเมื่อพบปัญหาการปนเปื้อนจากแมลงในพืชผักที่ต้องการส่งออก ผู้ทำการตรวจวินิจฉัยจะต้องปฏิบัติงานด้วยความรวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ แต่หากมีการปนเปื้อนจากแมลงศัตรูพืชในระยะไข่ หรือตัวหนอนนั้น หากใช้การตรวจวินิจฉัยแบบดั้งเดิม (traditional taxonomy) จะต้องใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง

เพื่อให้เติบโตเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งส่งผลกระทบต่อเนื่องต่อผู้ผลิตที่ต้องการส่งออก รวมทั้งก่อให้เกิดผลกระทบต่อการส่งออกและนำเข้าผักและผลไม้ระหว่างประเทศอีกด้วย (Armstrong and Ball, 2005)

ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ใช้การศึกษาทางอนุกรมวิธานแบบดั้งเดิมซึ่งใช้ลักษณะทางสัณฐานภายนอกเท่านั้น ดังนั้น การจำแนกชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ให้มีความถูกต้อง และรวดเร็ว จะสามารถช่วยประหยัดเวลาในการตรวจวินิจฉัย การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะ (species - specific primer) ต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากยีน *cox1* ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น DNA barcode (ดีเอ็นเอมาตรฐานบริเวณสั้น ๆ ที่มีศักยภาพในการใช้ระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตได้) ซึ่งเป็นการพัฒนาการตรวจสอบที่มีประสิทธิภาพให้เป็นตามมาตรฐานสากลมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการตรวจรับรองและจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชเพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขการส่งออก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้

รวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยจากพื้นที่การเกษตร โดยเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ 6 ภูมิภาคของประเทศไทย (ภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้) โดยเลือกพื้นที่เพื่อเป็นตัวแทนในการเก็บตัวอย่างภูมิภาคละ 3 จังหวัด (Figure 1) ใช้กับดักล่อ

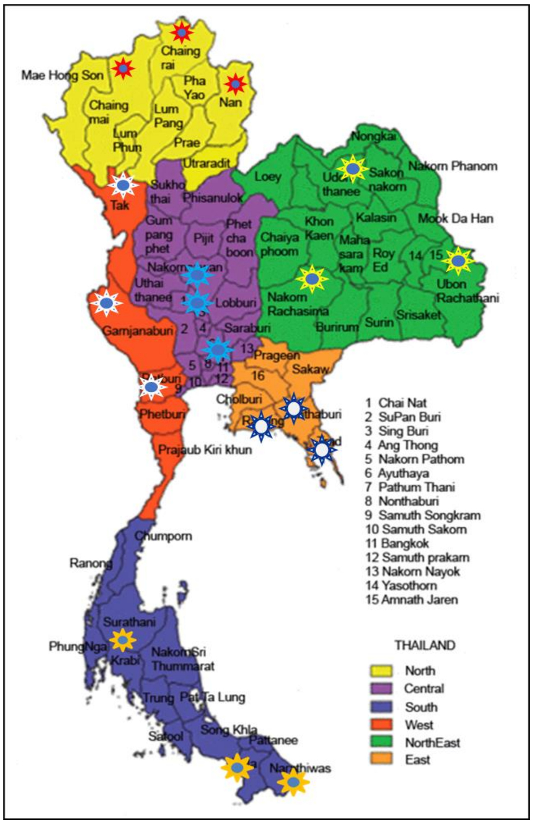

Figure 1. Locations of sampling sites at different six Thai biogeographical regions (North, Central, South, West, Northeast and East) where fruit flies were collected

แมลงวันผลไม้แบบถังเปียก (wet bucket trap) จาก Bugs for Bugs Pty Ltd., Australia ซึ่งประกอบด้วยสำลีชุบสารล่อ (pheromone) แมลงวันผลไม้ 2 ประเภท ได้แก่ เมทิลยูจินอล (methyl eugenol) และคิวลัวร์ (cue lure) ผสมสารฆ่าแมลง malathion ในอัตราส่วน 4 : 1 และภายในกับดักบรรจุสารโพรไพลีนไกลคอล (propylene glycol) เพื่อรักษาสภาพดีเอ็นเอของตัวอย่างแมลงวันผลไม้ติดกับดัก 5 กับดักต่อสารล่อหนึ่งประเภทต่อหนึ่งพื้นที่ เก็บรวบรวมตัวอย่างระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2560 - กันยายน พ.ศ. 2561 จำแนกชนิดแมลงวันผลไม้จากลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ Leica รุ่น M 165C (Leica Microsystems Ltd., Switzerland) ร่วมกับแนวทางการวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้ของ Drew and Romig (2013, 2016) นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้ดองในแอลกอฮอล์ 95 % และเก็บตัวอย่างไว้ในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 °C

2. การสกัดดีเอ็นเอ และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR)

2.1 นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้มาสกัดดีเอ็นเอตามกรรมวิธีของ Boontop *et al.* (2017) ร่วมกับคำแนะนำของชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (ISOLATE II Genomic DNA kit; Bioline, Australia) ที่แนบมากับผลิตภัณฑ์บริษัท โดยนำขาด้านขวาจำนวน 3 ข้างของแมลงวันผลไม้ (25 มิลลิกรัม) มาใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม Lysis Buffer GL ปริมาตร 180 ไมโครลิตร และสารลาย Proteinase K ปริมาตร 25 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 16 - 20 ชั่วโมง ทำการย่อยสลายตัวอย่างโดยเขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม Lysis Buffer G3 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 10 นาที เขย่าอย่างสม่ำเสมอ เติมแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (ethanol 100 %) ปริมาตร 210 ไมโครลิตร เขย่าให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ในหลอด ISOLATE II Genomic DNA และตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ 11,000x g นาน 1 นาที ล้างตะกอน โดยการเติม Wash Buffer GW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วย เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ 11,000x g นาน 1 นาที ตามด้วย Wash Buffer GW2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ 11,000x g นาน 1 นาที ทิ้งของเหลวที่เหลือ ตกตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ 11,000x g นาน 1 นาที ย้ายหลอด ISOLATE II Genomic DNA tube มาใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 ไมโครลิตร ละลายดีเอ็นเอโดยการเติม Elution Buffer G ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที ตกตะกอนดีเอ็นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง 11,000x g นาน 1 นาที นำดีเอ็นเอที่ได้เก็บในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 °C เพื่อใช้ในวิธีการต่อไป

2.2 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเทคนิค PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ universal primer จากยีน *cox1*: LCO1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) และ HCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) (Folmer *et al.*, 1994) ส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ 1 ไมโครลิตร 10 ไมโครเมตร ไพรเมอร์ LCO1490 1 ไมโครลิตร 10 ไมโครเมตร ไพรเมอร์ HCO2198 1 ไมโครลิตร สารละลาย GoTaq® Green Master Mix (Promega, USA) 10 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร โดยนำปฏิกิริยา PCR ใส่เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยกำหนดขั้นตอนและเวลาในปฏิกิริยา PCR cycle ดังนี้ 1) initial - denaturing 94 °C นาน 4 นาที 2) denaturing ที่ 94 °C 30 วินาที 3) annealing ที่ 50 °C 30 วินาที 4) extension ที่ 72 °C 30 วินาที (จำนวน 35 รอบ) (โดยในขั้นตอน 2 - 4 ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ) และ 5) final extension ที่ 72 °C 5 นาที จำนวน 1 รอบ ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส (gel electrophoresis) ที่อะกาโรสเจลความเข้มข้น 2 % ผสม RedSafe dye (iNtRON Biotechnology, USA) ในสารละลาย 1X TBE buffer แล้วนำมาผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) บันทึกผลด้วย

เครื่องถ่ายภาพเจลพร้อมโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ (Gel documentation XR) รุ่น Universal Hood II (Biorad, USA) ตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยส่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง ABI 3730 x 1 automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) ABI BigDye terminator chemistry ตามกรรมวิธีของบริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้

2.3 นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *cox1* ของแมลงวันผลไม้ทั้งหมดมาทำการวิเคราะห์ โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence assembly) ด้วยโปรแกรม Bioedit Sequence Alignment Editor Version 7.2.5 (Hall, 1999) บันทึกข้อมูลลำดับนิวคลิโอไทด์ในรูปแบบไฟล์ FASTA และวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยเปรียบเทียบระดับความเหมือน (% identity) เพื่อยืนยันความถูกต้องลำดับนิวคลีโอไทด์ของแมลงวันผลไม้จากงานวิจัยนี้กับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์แมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่มีรายงานในฐานข้อมูล GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) ด้วยการ BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch) และเก็บบันทึกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ไว้ในระบบฐานข้อมูลของ GenBank ในรูปแบบ accession number เพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae*

3. การออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae*

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *cox1* จากแมลงวันผลไม้ที่ทำการศึกษา (ข้อ 2) และแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่เป็นศัตรูพืชกักกันจากฐานข้อมูล GenBank มาจัดลำดับและทำการตรวจสอบโดยใช้โปรแกรม Chromas (version, 2.33, Technelysium Pty Ltd., Australia) และ BioEdit เพื่อตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* คัดเลือกตำแหน่ง single - nucleotide polymorphism (SNP) ซึ่งจะใช้ระบุชนิดของแมลง *Z. cucurbitae* เท่านั้น จากนั้นออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจง โดยอาศัยโปรแกรม Vector NTI (Invitrogen) Version 11.5.5 (https://www.thermofisher.com/th/en/home/life-science/cloning/vector-nti-software.html) โดยเลือกความยาวของไพรเมอร์ที่มีขนาด 18 - 25 คู่เบส และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ออกแบบมาวิเคราะห์ dimer hairpin และ false priming sites ด้วยโปรแกรม Oligo (version 6.0) (DBA Oligo, Inc., USA) และนำไพรเมอร์ออกแบบไว้มาวิเคราะห์ความจำเพาะเจาะจงโดยการ BLAST กับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank

4. การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae*

4.1 ทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* กับแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจในประเทศไทย

4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ในระยะการเจริญเติบโต (life stages) ต่าง ๆ โดยทดสอบกับตัวอย่างแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่เลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ (laboratory samples) ในระยะ ไข่ ตัวหนอน ดักแด้และตัวเต็มวัย

4.3 ทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากกลุ่มประชากรต่างภูมิศาสตร์ (geographical populations) จากตัวอย่างแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่เก็บรวบรวมมาจากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย

4.4 ทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* กับตัวหนอนที่พบปนเปื้อนในพืช ผัก และผลไม้ที่พบจากการสุ่มตรวจผัก ผลไม้ (intercepted samples) จากเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชที่มีการส่งออก

4.5 ยืนยันความถูกต้องของตัวอย่างที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยคู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบโดยการทำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ให้บริสุทธิ์และตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง ABI 3730 x 1 automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA,

USA) ตามกรรมวิธีของบริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้ และเปรียบเทียบลำดับ นิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้

การเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ด้วยกับดักถังเปียกซึ่งบรรจุสารล่อเมทิลยูจินอลและคิวลัวร์จาก 6 ภูมิภาค ได้แก่ ภาคใต้ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคตะวันตกของไทย นำตัวอย่างที่ได้มาจำแนกชนิดเพื่อใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ พบแมลงวันผลไม้ทั้งหมด 11 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. umbrosa, D. longicornis, Z. apicalis, Z. caudatus, Z. cilifera, Z. cucurbitae* และ *Z. tau*

2. การเตรียมดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเทคนิค PCR และหาลำดับนิวคลีโอไทด์

จากการสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ LCO1490/HCO2198 จากยีน *cox1* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอได้ขนาด 650 - 700 คู่เบส (Figure 2) เมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 99 - 100 % และบันทึกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank (Table1) และจากข้อมูลที่ถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์ดังกล่าว แสดงว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเอมีความเหมาะสมสามารถนำไปใช้สกัดดีเอ็นเอในตัวอย่างแมลงวันผลไม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นสามารถนำดีเอ็นเอจากวิธีการสกัดดังกล่าวมาทดสอบกับไพรเมอร์ที่ออกแบบได้

3. การออกแบบไพรเมอร์ที่มีจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae*

ออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* โดยการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ร่วมของยีน *cox1* จากแมลงวันผลไม้ 11 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. umbrosa, Dacus longicornis, Zeugodacus apicalis, Z. caudatus, Z. cilifera, Z. cucurbitae* และ *Z. tau* และรวบรวมลำดับ นิวคลีโอไทด์แมลงวันผลไม้บางส่วนจากฐานข้อมูลของ GenBank มาจัดลำดับและตรวจหาตำแหน่ง single - nucleotide polymorphisms (SNPs) ด้วยโปรแกรม Vector NTI (Invitrogen) พบตำแหน่ง SNPs ที่มีเฉพาะแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* เท่านั้น และเป็นตำแหน่งที่ไม่พบในแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ มาออกแบบ forward primer และ reverse primer ได้ 1 คู่ โดยพบลำดับนิวคลีโอไทด์ร่วมที่ตำแหน่งเริ่มต้นที่ 488 จำนวน 25 คู่เบส และตำแหน่งนิวคลีโอไทด์เริ่มต้นที่ 580 จำนวน 22 คู่เบส (Figure 3) เมื่อนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติของไพรเมอร์ด้วยโปรแกรม Oligo cal พบว่า เปอร์เซ็นต์ GC ของ forward และ reverse primers เท่ากับ 48 และ 59 ตามลำดับ มีค่า melting temperature (Tm) อยู่ที่อุณหภูมิ 53 และ 60 °C (Table 2) ไพรเมอร์ทั้งสองเส้นไม่สามารถจับกันเป็น dimer ได้ ตั้งชื่อ Forward และ Reverse primers แต่ละเส้นว่า (*Zeugodacus cucurbitae* Forward: Zcu-F1 และ *Zeugodacus cucurbitae* Reverse: Zcu-R1) โดยไพรเมอร์คู่นี้สังเคราะห์ให้ผลผลิตดีเอ็นเอขนาดประมาณ 83 คู่เบส (Table 2) จากการวิเคราะห์ไพรเมอร์ทั้งสองเส้นด้วยโปรแกรม Primer map พบว่า ทุกไพรเมอร์มีตำแหน่งอยู่บนยีน *cox1* ของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* เท่านั้น และเมื่อตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของไพรเมอร์ โดยโปรแกรม BLAST ของฐานข้อมูล GenBank พบว่า ไพรเมอร์ทุกเส้นมีความเหมือนที่ 99 - 100 % กับแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากยีน *cox1* (Table 3)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae*

เพื่อยืนยันว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบนั้นมีประสิทธิภาพ และสามารถใช้ได้จริงโดยทำการทดสอบ 4 กรรมวิธี

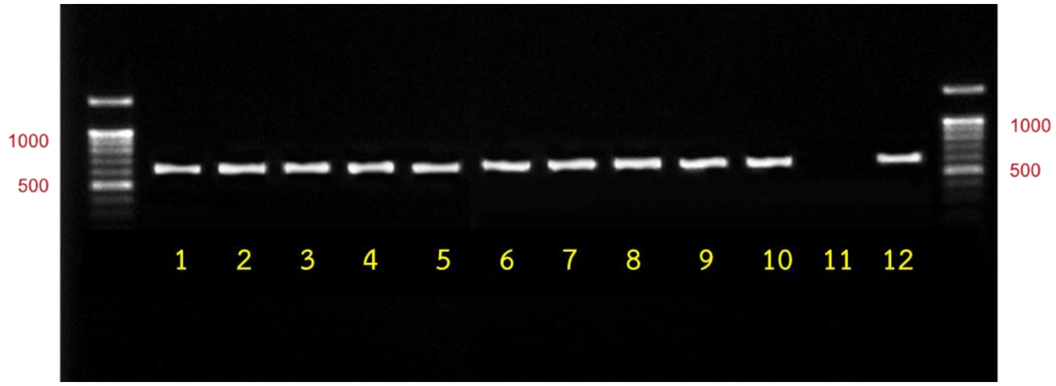

Figure 2. PCR results using the *cox1* (LCO1490 / HCO2198) universal primer pair

Lane 1 = *B. carambolae* Lane 2 = *B. dorsalis* Lane 3 = *B. latifrons*
Lane 4 = B. *umbrosa* Lane 5 = *B. correcta* Lane 6 = *D. longicornis*
Lane 7 = *Z. apicalis* Lane 8 = *Z. caudatus* Lane 9 = *Z. cilifera*
Lane 10 = *Z. tau* Lane 11 = *Negative* (ddH2O) Lane 12 = Positive (*Z. cucurbitae*)

Table 1. Collection details (scientific name, accession number, number of specimens and voucher specimen) of fruit flies in Thailand used in this study

	Scientific name	Accession number	No of specimens	Voucher specimen
1	*Bactrocera carambolae*	MW052780 - 84	10	EMBT.L(SEM) 1301 - 1320
		MW093419 - 23		
2	*Bactrocera correcta*	MW067300 - 09	10	EMBT0601.L(SEM) - 0620
3	*Bactrocera dorsalis*	MW052785 - 89	10	EMBT0701.L(SEM) - 0720
		MW093424 - 28		
4	*Bactrocera latifrons*	MW136282 - 93	12	EMBT0901.L(SEM) - 0920
5	*Bactrocera umbrosa*	MW376156 - 73	14	EMBT1301 - EMBT1320
6	*Dacus longicornis*	MW376179 - 83	5	EMBT0201 - EMBT0209
7	*Zeugodacus apicalis*	MW376174 - 77,	5	EMBT.0401 - EMBT0410
8	*Zeugodacus caudatus*	MW376156 - 73	14	EMBT1501 - EMBT1520
9	*Zeugodacus cilifera*	MW376133 - 41	9	EMBT2001 - EMBT2020
10	*Zeugodacus cucurbitae*	MW045505 - 14	20	EMBT1601.L(SEM) - 1620
		MW052790 - 94		
11	*Zeugodacus tau*	MW052795 - 99	10	EMBT1901.L(SEM) - 1920
		MW093429 - 33		

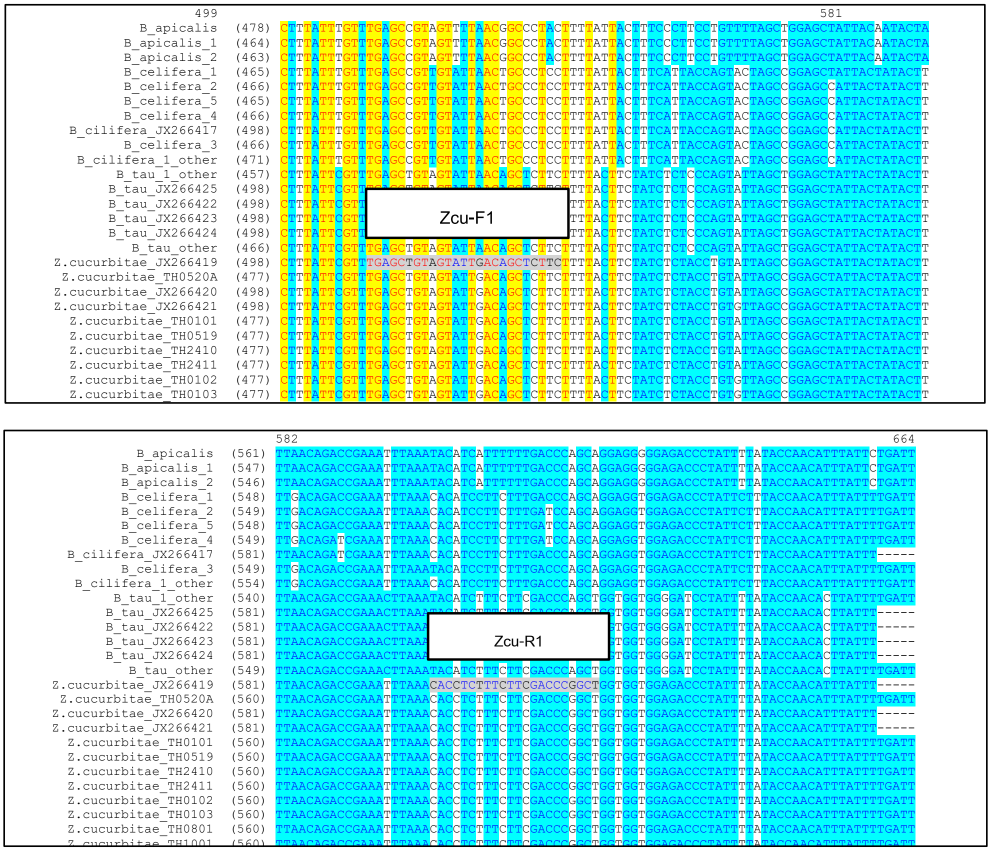

Figure 3. Alignment of the nucleotide sequence regions of *cox1* gene on fruit flies. Consensus sequences were used to design broad - spectrum primers for *Zeugodacus cucurbitae*. Nucleotide sequences of ZcuF1 and ZcuR1 primers are highlighted

Table 2. Nucleotide of sequences and properties of broad - spectrum primer set used in *Zeugodacus cucurbitae* screening in this study primer (primer name, sequences, position, no. of base pair, temperature (Tm), % GC and size of PCR product)

Primer name	Sequences	Position	No. of base pair	Tm	% GC	Size of PCR product
Zcu - F1 (Forward)	TGAGCTGTAGTATTGACAGCTCTTC	518 - 542	25	53	48	83
Zcu - R1 (Reverse)	AGCCGGGTCGAAGAAAGAGGTG	580 - 601	22	60	59	83

Table 3. Nucleotide sequence analysis of the 83 bp DNA fragments from 20 melon fly samples amplified by species-specific primers compared with the GenBank database

No.	Melon fly with Acc. no. in GenBank	Voucher specimens	Primer	Samples with Acc. No	% Identity
1	MW363765	EMBT(SS)1601	Zcu - F1	KY615958.1	100 %
2	MW363766	EMBT(SS)1602	Zcu - R1	MF095182.1	100 %
3	MW363767	EMBT(SS)1603	Zcu - F1	MF095183.1	100 %
4	MW363768	EMBT(SS)1604	Zcu - R1	MG384735.1	99 %
5	MW363769	EMBT(SS)1605	Zcu - F1	MH667305.1	100 %
6	MW363770	EMBT(SS)1606	Zcu - R1	MH751503.1	100 %
7	MW363771	EMBT(SS)1607	Zcu - F1	MK296116.1	100 %
8	MW363772	EMBT(SS)1608	Zcu - R1	MN016981.1	100 %
9	MW363773	EMBT(SS)1609	Zcu - F1	MN256073.1	100 %
10	MW363774	EMBT(SS)1610	Zcu - R1	MN256082.1	100 %
11	MW363775	EMBT(SS)1611	Zcu - F1	MN256083.1	100 %
12	MW363776	EMBT(SS)1612	Zcu - R1	MN256084.1	100 %
13	MW363777	EMBT(SS)1613	Zcu - F1	MN256090.1	100 %
14	MW363778	EMBT(SS)1614	Zcu - R1	MN256092.1	100 %
15	MW363779	EMBT(SS)1615	Zcu - F1	MN256098.1	100 %
16	MW363780	EMBT(SS)1616	Zcu - R1	MN256101.1	100 %
17	MW363781	EMBT(SS)1617	Zcu - F1	MN256102.1	100 %
18	MW363765	EMBT(SS)1618	Zcu - R1	MN256103.1	100 %
19	MW363766	EMBT(SS)1619	Zcu - F1	MT474907.1	100 %
20	MW363767	EMBT(SS)1620	Zcu - R1	MT474908.1	100 %

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* กับแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ

การทดสอบไพรเมอร์กับตัวอย่างแมลงวันผลไม้ 11 ชนิด ได้แก่ *Bactrocera carambolae, B. correcta, B. dorsalis, B. latifrons, B. umbrosa, D. longicornis, Z. apicalis, Z. caudatus, Z. cilifera, Z. cucurbitae* และ *Z. tau* พบว่า เมื่อทำปฏิกิริยา PCR ด้วยคู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบ และตรวจวิเคราะห์ขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่สังเคราะห์ได้จากคู่ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอขนาด 83 คู่เบส ที่จำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ได้อย่างชัดเจน และไม่เกิดปฏิกิริยากับแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ (Figure 4) แสดงให้เห็นว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบนั้นมีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* และมีความเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้แยกแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ออกจากแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ต่อระยะการเจริญเติบโต (life stages) ต่าง ๆ

จากการทดสอบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ด้วยเทคนิค PCR กับแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ที่เลี้ยงจากห้องปฏิบัติการ

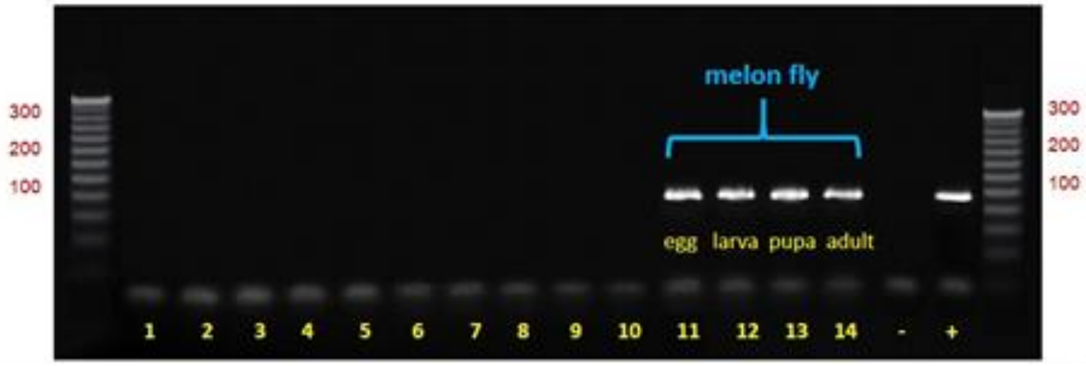

Figure 4. Specificity testing of the Zcu-F/Zcu-R *Zeugodacus cucurbitae*-specific primer pair

Lane 1 = *B. carambolae* Lane 2 = *B. dorsalis* Lane 3 = *B. latifrons* Lane 4 = *B. umbrosa*
Lane 5 = *B. correcta* Lane 6 = *D. longicornis* Lane 7 = *Z. apicalis* Lane 8 = *Z. caudatus*
Lane 9 = *Z. cilifera* Lane 10 = *Z. tau* Lane 11-14 = *Z. cucurbitae*
Lane 15 = Negative (ddH_2O) Lane 16 = Positive (*Z. cucurbitae*)

ในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ระยะละ 50 ตัวอย่าง รวมเป็นจำนวน 300 ตัวอย่าง และตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์พบแถบดีเอ็นเอขนาด 83 คู่เบส ในทุกระยะการเจริญเติบโต (Figure 5) แสดงว่าไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบนั้นสามารถตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ฐานข้อมูล GenBank พบว่า เป็นแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* และมีความถูกต้อง 99 - 100 %

4.3 **การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง** *Z. cucurbitae* **จากกลุ่มประชากรต่างภูมิศาสตร์** (geographical populations)

จากการทดสอบไพรเมอร์ที่ออกแบบกับตัวอย่างแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จาก 6 ภูมิภาคของไทย ได้แก่ ภาคใต้ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคตะวันตก ทำการทดสอบกับตัวอย่างแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ภูมิภาคละ 50 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 300 ตัวอย่าง ผลที่ได้สามารถยืนยันได้ว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบนั้นสามารถใช้ได้กับตัวอย่างแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากภูมิภาคต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี (Figure 6)

4.4 **การทดสอบประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อแมลงวันแตง** *Z. cucurbitae* **กับตัวหนอนที่พบปนเปื้อนในการส่งออก** (intercepted samples)

จากการทดสอบไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้กับตัวอย่างแมลงวันผลไม้ที่พบการปนเปื้อนจากผักและผลไม้ที่ต้องการส่งออกไปขายยังต่างประเทศ จำนวนทั้งหมด 80 ตัวอย่าง (Table 4) จากการสุ่มตรวจ ณ ด่านตรวจพืชท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ พบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 83 คู่เบส จากตัวอย่างหนอนที่พบการปนเปื้อนในถั่วฝักยาวที่ต้องการส่งออกไปประเทศอังกฤษ และสวิตเซอร์แลนด์ (Figure 7) และยืนยันความถูกต้องโดยการนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank พบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 99-100% แสดงให้เห็นว่าไพรเมอร์ที่ออกแบบนั้นมีความจำเพาะกับแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* และจากการนำตัวหนอนที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างบางส่วนมาเลี้ยงไว้เพื่อให้เป็นตัวเต็มวัย

และจัดจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐาน และพบว่า ผลที่ได้จากนั้นสอดคล้องกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์

ปัจจุบันหากมีการสำรวจพบระยะไข่ หรือตัวหนอนของแมลงวันผลไม้นั้นติดไปกับพืช ผัก และผลไม้ ที่ต้องการส่งออกหรือการนำเข้านั้นใช้การตรวจสอบชนิดศัตรูพืชแบบดั้งเดิมด้วยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของตัวเต็มวัยเพียงเท่านั้น แต่การจำแนกชนิดจากรูปร่างลักษณะของไข่ หรือตัวหนอนนั้นเป็นเรื่องที่ทำการศึกษาได้ยาก เพราะไข่และตัวหนอนของแมลงวันผลไม้นั้นมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก (Boontop *et al*., 2020) ดังนั้น ในการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชที่พบในการส่งออกหรือนำเข้านั้น หากมีการสำรวจพบระยะไข่ หรือตัวหนอนของแมลงวันผลไม้นั้นติดไปกับพืช ผัก และผลไม้ ก็จะทำให้ต้องเสียเวลาในการเลี้ยงเพื่อให้เติบโตเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาประมาณ 1 เดือน ดังนั้นระยะเวลาที่ต้องเสียไปในการเลี้ยงแมลงวันผลไม้ในระยะไข่ หรือตัวหนอนเพื่อให้เติบโตเป็นตัวเต็มวัยนั้นเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงเป็นอย่างมาก เพราะความล่าช้าที่เกิดขึ้นนั้นจะส่งผลกระทบต่อการส่งออกและนำเข้าผักและผลไม้ระหว่างประเทศ (Armstrong and Ball, 2005) ดังนั้นจึงมีการประยุกต์ใช้เทคนิคด้านชีวโมเลกุล เช่น การออกแบบไพรเมอร์ที่เจาะจงมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันผลไม้จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งปัจจุบันมีการออกแบบไพรเมอร์ที่เจาะจงต่อแมลงวันผลไม้เพียง 3 ชนิด ได้แก่ *B. correcta* (Jiang *et al*., 2013) และ *B. zonata* และ *B. tau* (Asokan *et al*., 2011) แต่ในปัจจุบันทั่วโลกยังไม่มีข้อมูลการออกแบบไพรเมอร์ที่เจาะจงต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่ได้ทำการออกแบบไพรเมอร์ที่เจาะจงต่อแมลงวันแตง *Z. cucurbitae*

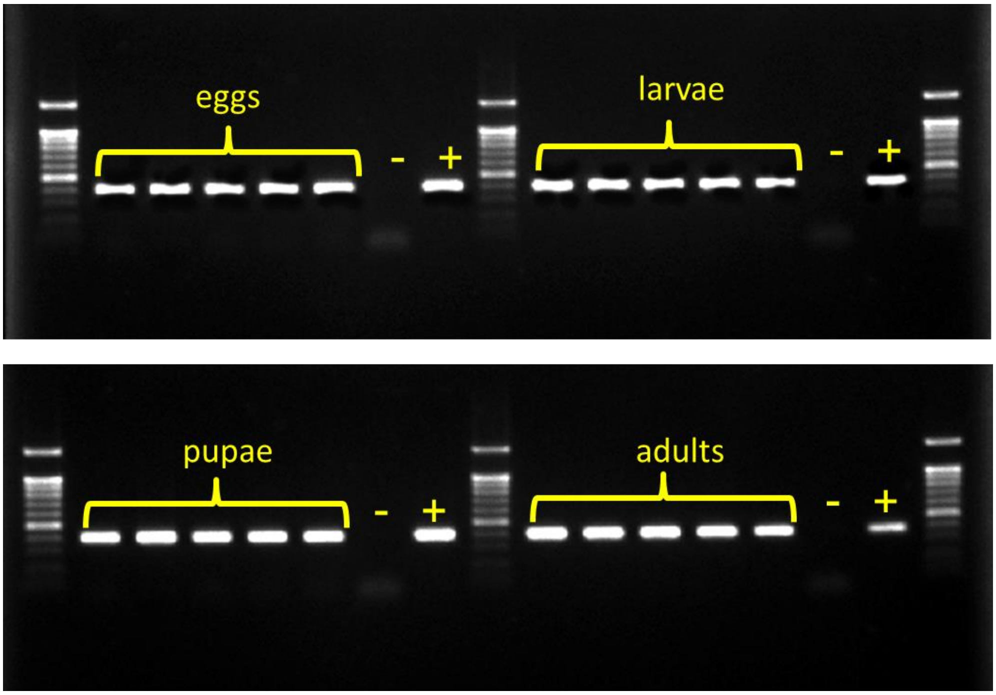

Figure 5. DNA from all stages of *Zeugodacus cucurbitae* (eggs, larvae, pupae and adults) was amplified using the *Z. cucurbitae* -specific primer pair Zcu - F1 and Zcu - R1. Negative control is ddH_2O. Positive control sample is *Z. cucurbitae*

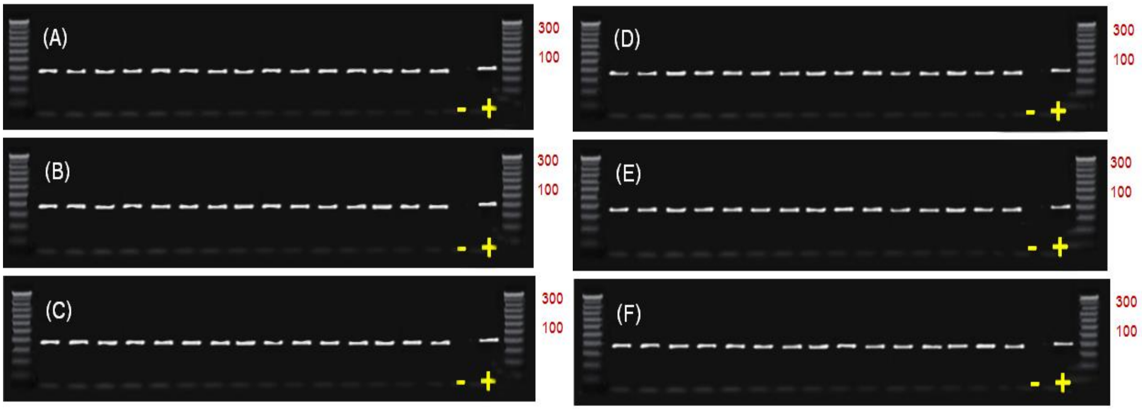

Figure 6. DNA of *Zeugodacus cucurbitae* from six Thai biogeographical regions (North, Central, South, West, Northeast and East) was amplified using the *Z. cucurbitae* -specific primer pair Zcu-F1 and Zcu-R1. Negative control is ddH_2O. Positive control sample is *Z. cucurbitae*

Table 4. Detection of *Zeugodacus cucurbitae* intercepted using species-specific primer (ZcuF1 - ZcuR1). The details of intercepted fruits, scientific name, destination country, number of samples, results and scientific name of fruit fly were intercepted at plant quarantine, Suvarnabhumi Airport, Bangkok, Thailand

Intercepted fruits	Scientific name	Destination country	No. of samples	Results	Scientific name of fruit fly
1. Rose apple	*Syzygium samarangense* (Blume)	England	10	-	*B. correcta*
2. Yard long bean	*Vigna unguiculata* L.	England	10	+	*Z. cucurbitae*
3. Burmese grape	*Baccaurea ramiflora* Lour.	Spain	10	-	*B. carambolae*
4. Custard apple	*Annona reticulata* L.	China	10	-	*B. dorsalis*
5. Mango	*Mangifera indica* L.	Switzerland	10	-	*B. correcta*
6. Lychee	*Litchi chinensis* Sonn.	Switzerland	10	-	*B. dorsalis*
7. Custard apple	*Annona reticulata* L.	Denmark	10	-	*B. dorsalis*
8. Yard long bean	*Vigna unguiculata* L.	Switzerland	10	+	*Z. cucurbitae*
Total			80		

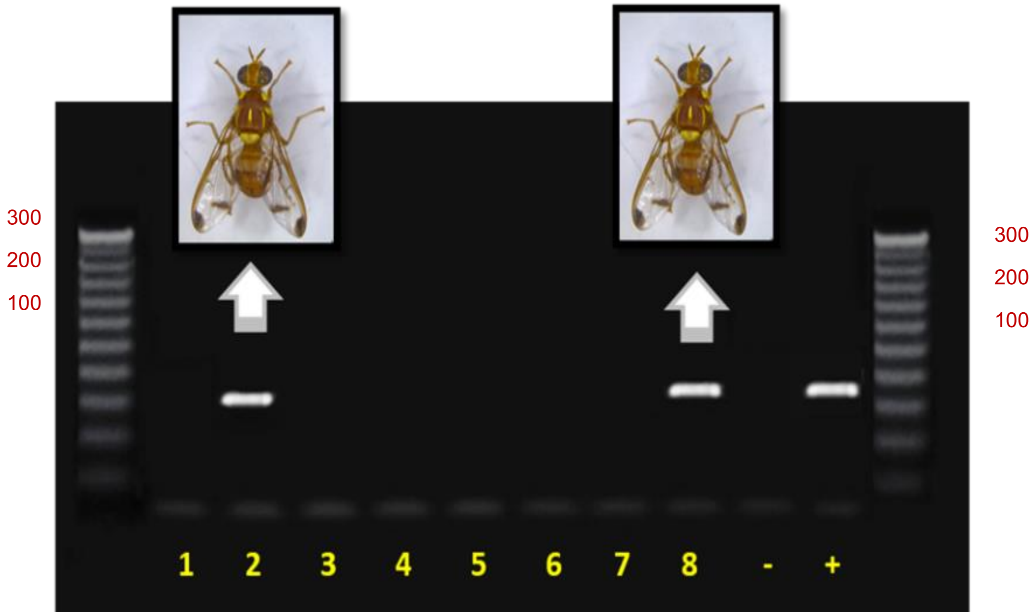

Figure 7. DNA from unknown larvae species was amplified using the *Zeugodacus cucurbitae* - specific primer pair Zcu - F1 and Zcu - R1
Lanes 1 - 8: Intercepted fruit fly larvae Lane 9: Negative ddH_2O Lane 10: Positive (*Z. cucurbitae*)

โดยการประยุกต์หลักการพื้นฐานของกระบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR กับ species specific DNA barcode และใช้เพียงขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอโดยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟรีซีส ดังนั้น ระยะเวลาที่ใช้ในการระบุชนิดแมลงวันผลไม้เพียง 2 - 3 ชั่วโมง เท่านั้น สามารถตรวจวินิจฉัยได้ว่าเป็นแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* หรือไม่ นอกจากนี้ไพรเมอร์ที่ออกแบบนั้น สามารถตรวจวินิจฉัยชนิดแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* ได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ไม่ว่าจะเป็นระยะ ไข่ หนอน ดักแด้ หรือตัวเต็มวัย จึงสามารถจำแนกได้ว่าแมลงวันผลไม้ที่ตรวจพบนั้นเป็นแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* หรือไม่ จากประสิทธิภาพของไพรเมอร์ที่มีความเจาะจง มีความรวดเร็ว และประหยัดเวลาในการตรวจวินิจฉัยนั้นก่อให้เกิดประโยชน์เป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชเพื่อการส่งออกและนำเข้าของประเทศไทย

สรุป

การศึกษาครั้งนี้สามารถออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อชนิดของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากส่วนของยีน *cox1* ซึ่งใช้ในการตรวจวินิจฉัยแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* จากกลุ่มประชากรต่างภูมิศาสตร์ได้ทุกระยะการเจริญเติบโตเป็นอย่างดี และจากการนำไพร์เมอร์ที่ออกแบบไปใช้จำแนกชนิดของแมลงวันแตงที่พบปนเปื้อนในผักผลไม้ที่ต้องการส่งไปขายยังต่างประเทศนั้น พบว่า สามารถใช้จำแนกได้จริง มีความแม่นยำสูงและให้ผลสอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงแมลงจนเป็นตัวเต็มวัย

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงก่อให้เกิดประโยชน์อย่างยิ่งกับการพัฒนาวิธีการวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของประเทศไทยให้มีความถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็วตามมาตรฐานสากล นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดประโยชน์อย่างยิ่งในงานด้านการกักกันพืช ต่อการวินิจฉัยเพื่อเฝ้าระวังแมลงศัตรูพืชและการนำเข้าและส่งออกผักผลไม้ของประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

Allwood, A.J. and L. Leblanc. 1997. Losses caused by fruit flies (Diptera: Tephritidae) in seven Pacific Island countries. pp. 208-211. *In*: A.J. Allwood and R.A.I. Drew (eds.). Management of Fruit Flies in the Pacific. ACIAR Proceedings No. 76, Canberra.

Armstrong, K.F. and S.L. Ball. 2005. DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences 360(1462): 1813 -1823.

Asokan, R., K.B. Rebijith, S.K. Singh, A.S. Sidhu, S. Siddharthan, P.K. Karanth, R. Ellango and V.V. Ramamurthy. 2011. Molecular identification and phylogeny of *Bactrocera* species (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist 94(4): 1026-1035.

Boontop, Y., C. Buamas, K. Sonsiri, J. Duangthisan and S. Kaewsawat. 2020. Identification of economically important fruit fly larvae of Dacini (Diptera: Tephritidae) in Thailand using scanning electron microscopy (SEM). Thai Agricultural Research Journal 38(3): 293-306.

Boontop, Y., M.K. Schutze, A.R. Clarke, S.L. Cameron and M.N. Krosch. 2017. Signatures of invasion: using an integrative approach to infer the spread of melon fly, *Zeugodacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae), across Southeast Asia and the West Pacific. Biological Invasions 19(5): 1597-1619.

De Meyer, M., H. Delatte, M. Mwatawala, S. Quilici, J-F. Vayssieres and M. Virgilio. 2015. A review of the current knowledge on *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) in Africa, with a list of species included in *Zeugodacus*. ZooKeys 540: 539-557.

Dhillon, M.K., R. Singh, J.S. Naresh and H.C. Sharma. 2005. The melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae*: A review of its biology and management. Journal of Insect Science 5(1): 40, doi: 10.1093/jis/5.1.40.

Drew, R.A.I. and M.C. Romig. 2013. Tropical Fruit Flies (Tephritidae: Dacinae) of South-East Asia: Indomalaya to North-West Australasia. CABI, Wallingford. 653 p.

Drew, R.A.I. and M.C. Romig. 2016. Keys to the Tropical Fruit Flies (Tephritidae: Diptera) of South-East Asia: Indomalaya to North-West Australasia. CABI, Wallingford. 487 p.

Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology 3(5): 294-299.

Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.

Jiang, F., Z.H. Li, Y.L. Deng, J.J. Wu, R.S. Liu and N. Buahom. 2013. Rapid diagnosis of the economically important fruit fly, *Bactrocera correcta* (Diptera: Tephritidae) based on a species-specific barcoding cytochrome oxidase I marker. Bulletin of Entomological Research 103(3): 363-371.

Koyama, J., H. Kakinohana and T. Miyatake. 2004. Eradication of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Japan: importance of behavior, ecology, genetics, and evolution. Annual Reviews of Entomology 49: 331-349.

Piñero, J.C., I. Jacome, R. Vargas and R.J. Prokopy. 2006. Response of female melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, to host-associated visual and olfactory stimuli. Entomologia Experimentalis et Applicata 121(3): 261-269.

สารต้านจุลินทรีย์หลากกลุ่มจาก *Streptomyces coerulescens* NN91

Broad-spectrum Antimicrobial Compounds from *Streptomyces coerulescens* NN91

นันทวุฒิ นิยมวงษ์*
Nanthavut Niyomvong*

สาขาวิชาชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ จ. นครสวรรค์ 60000
Department of Biology and Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University,
Nakhon Sawan 60000, Thailand
**Corresponding author: Email: nanthavut.ni@nsru.ac.th*

(Received: 12 May 2021; Accepted: 21 September 2021)

Abstract: This research aims to investigate the compounds from *Streptomyces coerulescens* isolate NN91 which showed the good activity against *Candida albicans*, *Micrococcus luteus,* and *Staphylococcus aureus*. The cultivation of this strain in ISP2 in shake flask at room temperature (28 °C) showed the bioactive compound activity at the maximum value at day 7 against test organisms and exhibited thermal stabilities at 100 °C for 15 minutes. Following supernatant extraction, crude extract showed a minimal inhibitory concentration (MIC) with *M. luteus* and *S. aureus* by 0.039 and 0.009 µg / ml, respectively. Molecular identification by sequencing of *16S rRNA* gene revealed that the actinomycete isolate NN91 was similarity to *S. coerulescens* (AB184122) with 98.9 %. This result can be applied for drug development and broad-spectrum susceptible treatment in near future.

Keywords: *Streptomyces coerulescens*, bioactive compound, MIC

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: งานวิจัยในครั้งนี้มุ่งศึกษาสารที่ผลิตได้จากแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท NN91 ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการยับยั้ง *Candida albicans*, *Micrococcus luteus* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดี จากการเพาะเลี้ยงเชื้อไอโซเลทนี้ในอาหารเหลวชนิด ISP2 และบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิห้อง (28 °C) พบว่า เชื้อสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้สูงสุดในวันที่ 7 โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้ มีความคงทนต่ออุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 15 นาที สารสกัดหยาบจากน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ได้มีค่า minimal inhibitory concentration (MIC) ต่อ *M. luteus* และ *S. aureus* ที่ 0.039 และ 0.009 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การศึกษาลำดับเบสของยีน *16S rRNA* ของแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท NN91 พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *S. coerulescens* (AB184122) ที่ 98.9 % สารที่ผลิตจากไอโซเลท NN91 จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาตัวยาหรือสารต้านการติดเชื้อแบบหลากกลุ่มได้ในอนาคต

คำสำคัญ: *Streptomyces coerulescens* สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ MIC

บทนำ

แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะการเจริญแบบเส้นสาย (filamentous bacteria) สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำ รากพืช ในถ้ำ หรือบริเวณที่มีการเน่าเปื่อยของอินทรียสารต่าง ๆ (Niyomvong *et al*., 2012) แอคติโนมัยสีทมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศในฐานะผู้ย่อยสลายอินทรียสาร เนื่องด้วยมีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของอินทรียวัตถุ เช่น เซลลูโลส หรือเฮมิเซลลูโลสในพืช เป็นต้น ผลจากการย่อยทำให้ดินมีสารอาหารเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลดีต่อระบบนิเวศวิทยาของดิน (Alexander, 1977)

นอกจากบทบาทของผู้ย่อยสลายอินทรียสาร แอคติโนมัยสีทยังมีบทบาทสำคัญในแง่ของการผลิตสารปฏิชีวนะที่ใช้ทางการแพทย์ เช่น กลุ่ม streptomycetes, actinoplanete และ nocardioform (Okami and Hotta, 1988) โดยเฉพาะสกุล *Streptomyces* นั้น มีบทบาทสำคัญทางเกษตรกรรม อุตสาหกรรม และการแพทย์เป็นอย่างมาก โดยระหว่างการเจริญมักสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เป็นสารปฏิชีวนะรวมทั้งเอนไซม์ต่าง ๆ ออกมานอกเซลล์หลายชนิด (Maleki *et al*., 2013) จึงทำให้เกิดการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์อย่างแพร่หลายตั้งแต่ปี ค.ศ. 1943 ที่ได้ค้นพบยาปฏิชีวนะ streptomycin จาก *Streptomyces griseus* ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งวัณโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ หลังจากนั้นก็มีการค้นพบยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ ๆ ตามมา เช่น neomycin, cypemycin, grisemycin, bottromycins และ chloramphenicol ซึ่งเมื่อพิจารณาจำนวนพบว่า 2 ใน 3 ของยาปฏิชีวนะจากธรรมชาติที่ใช้ทางการแพทย์ที่ได้นั้นได้มาจาก *Streptomycetes* เป็นหลัก (Olano *et al*., 2009) และจากข้อมูลของ Antibiotic Literature Database (ABL) รายงานว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สร้างโดยจุลินทรีย์ทั้งหมดกว่า 23,000 ชนิด ได้มาจากแอคติโนมัยสีทในสกุล *Streptomyces* ทั้งสิ้น ตัวอย่างสารปฏิชีวนะที่เป็นที่รู้จักและได้จากสกุล *Streptomyces* ได้แก่ ยา chloramphenicol ผลิตโดย *Streptomyces venezuela*e ยา aureomycin และ tetracycline ผลิตโดย *Streptomyces aureofacien* ยา neomycin ผลิตโดย *Streptomyces fradiae* และ ยา kanamycin ผลิตโดย *Streptomyces kanamyceticus* เป็นต้น (Lazzarini *et al*., 2000)

ด้วยเหตุผลดังกล่าว ทำให้มีการศึกษาและทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค เพื่อเพิ่มโอกาสในการค้นพบ *Streptomyces* ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีโครงสร้างหลากหลาย หรือสารทุติยภูมิชนิดใหม่ ๆ ที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพมากกว่าเดิม เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงการแพทย์และเกษตรกรรมต่อไป

การศึกษาฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์จาก *Streptomyces* ที่ได้รับความนิยมวิธีหนึ่งคือการสกัด

(extraction) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารและเพิ่มความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ และทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์เพิ่มขึ้นในระดับหนึ่ง โดยมีการเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสกัด ของเหลวทั้งสองชนิดเมื่อผสมกันจะกลายเป็นสารละลายผสมแยกชั้น (immiscible) ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสกัดที่ละลายในน้ำเลี้ยงเซลล์จะละลายเข้าสู่ตัวทำละลายที่ใช้ จนกระทั่งกระบวนการแยกสมบูรณ์จนได้สารที่ต้องการในปริมาณที่เข้มข้นมากพอผสมอยู่กับตัวทำละลาย จากนั้นทำให้เข้มข้นด้วยการระเหยหรือนำไปกลั่นต่อไปจนได้สกัดสารสกัดหยาบจากแอคติโนมัยสีทที่อยู่ในรูปที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ระดับออกฤทธิ์ทางชีวภาพในที่สุด ซึ่งจากรายงานที่ผ่านมาพบว่าการสกัดด้วยวิธีดังกล่าวได้สารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบ รวมทั้งยีสต์ก่อโรคได้หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะที่ได้จากสารสกัดหยาบจาก *Actinomadura* sp. สายพันธุ์ MJ502-77F8 มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Klebsialla pneumoniae, Micrococcus luteus Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris* และ *Salmonella typhymurium* (Sasaki *et al*., 1997) สารสกัดหยาบจาก *Nocardiopsis dassonvillei* สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ได้ดี (Schumacher *et al*., 2001) หรือสารสกัดหยาบจาก *Streptosporangium* สายพันธุ์ Sg 10 มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบคือ *Micrococcus luteus* และรา *Mucor ramannianus* เป็นต้น (Boudjella *et al*., 2006)

งานวิจัยในครั้งนี้ มุ่งทดสอบแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท NN91 ที่คัดแยกได้จากดินถ้ำในประเทศไทย เพื่อนำมาศึกษาการออกฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์ทดสอบได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Micrococcus luteus* TISTR 884 และยีสต์ทดสอบ คือ *Candida albicans* BCC 5390 และเลี้ยงในอาหารเหลว ISP2 เพื่อศึกษาระยะเวลาที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีที่สุด รวมทั้งความคงตัวต่อความร้อน และหาค่า minimal inhibitory concentration (MIC) จากสารสกัดหยาบที่ได้ รวมทั้งศึกษาลำดับเบสของยีน *16S rRNA* เพื่อจัดจำแนกชนิดของไอโซเลทดังกล่าว

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท NN91 ด้วยวิธี agar-streak tests

ไอโซเลท NN91 คัดแยกจากดินถ้ำในจังหวัดนครสวรรค์ (15°56'14.8"N 99°52'39.0"E) ด้วยอาหาร starch casein agar นำเชื้อบริสุทธิ์เก็บรักษาไว้ในสารละลายกลีเซอร์รอล 20 % แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 °C จนกว่าจะใช้งาน การทดสอบประสิทธิภาพด้วยวิธี agar-streak tests ทำโดยเลี้ยงแอคติโนมัยสีทบนอาหารแข็ง ISP2 ลาก (streak) เป็นแนวให้มีความกว้าง 0.63 เซนติเมตร ยาว 7.5 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 7 วัน ก่อนนำจุลินทรีย์ทดสอบ คือ *E. coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *M. luteus* TISTR 884 และ *C. albicans* BCC 5390 ลากให้มีความกว้าง 0.63 เซนติเมตร ทำมุม 90 องศากับแนวแอคติโนมัยสีท ตรวจผลการยับยั้งหลังจากการบ่ม 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 °C โดยดูบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้นระหว่างรอยขีดของแอคติโนมัยสีทและจุลินทรีย์ทดสอบ (Lyons and Pridham, 1971) ทำจำนวน 3 ซ้ำ บันทึกระยะการยับยั้งและหาค่าสถิติ

ศึกษาการเจริญของเซลล์และผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไอโซเลท NN91 ในอาหารเหลว

เลี้ยงแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท NN91 ลงบนอาหาร ISP3 เป็นเวลา 7 วัน โดยขูดสปอร์ลงใน 1/4 ringer solution นับจำนวนสปอร์ด้วย hemacytometer เจือจางให้มีจำนวนสปอร์เริ่มต้นเท่ากับ 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เติมสปอร์แขวนลอยจำนวน 1 มิลลิลิตร (2 %) ลงในอาหารเหลว ISP2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิห้อง (30 °C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นเชื้อตั้งต้น (seed inoculum) ถ่ายหัวเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว ISP2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง หาน้ำหนักเซลล์แห้งในวันที่ 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 และ 13 ของการบ่ม โดยปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้อง ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที แยกเซลล์ออก ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นและปั่นเหวี่ยงซ้ำที่สภาวะเดิม นำเซลล์ที่ปั่นแยกมาอบที่อุณหภูมิ 100 $^{\circ}$C เป็นเวลา 2 วัน ชั่งน้ำหนักแห้ง (Sengupta *et al.*, 2015) นำน้ำเลี้ยงเซลล์ของแต่ละวันมาทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบโดยเลี้ยงแบคทีเรียทดสอบในอาหารเหลว NB (nutrient broth) ส่วนยีสต์เลี้ยงในอาหารเหลว YM (yeast malt extract broth) บ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความหนาแน่นของเซลล์โดยการวัดความขุ่น (turbidimetric method) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ให้มีค่า O.D. เท่ากับ 0.25 ด้วยการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากนั้นใช้สำลีพันปลายไม้ปลอดเชื้อจุ่มเซลล์แขวนลอยจุลินทรีย์ทดสอบที่ได้ความเข้มข้นที่ปรับไว้ได้ เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารแข็ง NA หรือ YM ให้สม่ำเสมอ แล้ววาง paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร ที่หยดน้ำเลี้ยงเซลล์แอคติโนมัยสีทปริมาตร 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 ซ้ำ วางลงบนผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้นเพื่อหาค่าสถิติ

ศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์

เพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท NN91 ลงบนอาหาร ISP2 เป็นเวลา 7 วัน ถ่ายภาพโคโลนีบนผิวหน้าจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และส่องดูลักษณะของเส้นใยและสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) กำลังขยาย 500 เท่า (500 X) เพื่อส่องตัวอย่างจากจานเพาะโดยตรง โดยไม่ทำให้เส้นใยและสปอร์ของแอคติโนมัยสีทเสียหายจากการเตรียมสไลด์

การศึกษาความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำเลี้ยงเซลล์ของไอโซเลท NN91

นำน้ำเลี้ยงเซลล์ที่เก็บในวันที่ 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 และ 13 ของการบ่มแบบเขย่านำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 100 $^{\circ}$C เป็นเวลา 15 นาที วิเคราะห์ความคงตัวของสารที่อยู่ในน้ำเลี้ยงเซลล์ของแต่ละวัน นำน้ำเลี้ยงเซลล์ของวันที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีที่สุด จากการทดลองในข้อที่ 7 มาเพิ่มระยะเวลาในการทดสอบความคงตัวต่อความร้อนที่ 100 $^{\circ}$C โดยเพิ่มเวลาการบ่มมากขึ้นเป็น 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 นาที นำน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการบ่มแล้วที่เวลาต่าง ๆ ไปทดสอบยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ ซึ่งวิธีวัดความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ ทำเหมือนกับข้อที่ 2 (การศึกษาการเจริญของเซลล์ และผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ)

การเตรียมสารสกัดหยาบและการหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC)

เตรียมเชื้อตั้งต้น (seed inoculum) ของไอโซเลท NN91 ถ่ายหัวเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว ISP2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตรที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงในเครื่องเขย่าชนิดที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 220 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C เป็นเวลา 7 วัน ปั่นเหวี่ยงแยกเอาเซลล์ออก นำมาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท ในอัตราส่วน 1 : 1 เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 2 - 3 นาที ใช้กรวยแยก (separatory funnel) เก็บส่วนเอทิลอะซีเตทแล้วนำ supernatant มาสกัดซ้ำด้วยเอทิลอะซิเตทในอัตราส่วน 1 : 1 นำส่วนเอทิลอะซิเตท ทั้งหมดมารวมกัน ระเหยเอาเอทิลอะซิเตทออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 $^{\circ}$C จนหมด นำสารสกัดหยาบที่ได้ ละลายใน DMSO ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาหาค่า MIC ด้วยวิธี macrodilution (Siddiqi *et al.*, 1993) มีวิธีการดังนี้คือ เตรียมหลอดอาหาร NB ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 15 หลอด เติมสารสกัดหยาบ 0.5 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 : 1) ลงในหลอดแรก ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer จากนั้นดูดสารผสม

จากหลอดแรก เติมลงในหลอดที่ 2 ผสมให้เข้ากัน ทำการเจือจางเช่นเดียวกันนี้ในหลอดที่ 3 ถึง 15 ดูดสารละลายในหลอดสุดท้าย ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรทิ้งไป ใช้ autopipette เติมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียทดสอบ (เลี้ยงในอาหารเหลว NB เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปรับความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้เท่ากับ 0.25) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองทั้ง 15 หลอด ทำให้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบหลอดที่ 1 ถึง 10 คือ 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078, 0.039, 0.019 และ 0.009 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีชุดควบคุมที่มีทั้งหลอดที่เติมสารสกัดหยาบ (positive control) และไม่เติมสารสกัดหยาบ (negative control) บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 $^{\circ}$C ตรวจสอบการเจริญของเชื้อ โดยตรวจสอบความขุ่น (turbidity) ของหลอดเชื้อเป้าหมายกับหลอดควบคุมทั้งสองหลอด โดยในหลอดที่พบความขุ่น (Figure 1) คือการบ่งชี้การเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบ โดยความเข้มข้นของสารที่น้อยที่สุดในหลอดที่จุลินทรีย์ทดสอบไม่สามารถเจริญได้ คือค่า MIC บันทึกผลการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ โดยคำนวณเทียบกับปริมาณสารสกัดที่มีอยู่ในหลอดนั้น ๆ

การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *16S rRNA*

สกัดดีเอ็นเอของแอคติโนมัยสีท ตามวิธีของ Kieser *et al*. (2000) เพิ่มปริมาณยีนบริเวณ 16S rRNA โดยใช้ ไพรเมอร์ 27F (5’-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-‘3, M = C:A) และไพรเมอร์ 1525R (5’AAGGAGGTGWTCCARCC- ‘3, W = A:T และ R = A:G) (Lane, 1991) ด้วย PCR (Gene Amp® PCR System 9700) ทำผลิตภัณฑ์ PCR ให้บริสุทธิ์และหาลำดับเบส นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ Genbank /EMBL/ DDBJ โดยใช้ BLASTn program และ alignment software (CLUSTAL W program package)

ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท NN91 ด้วยวิธี agar - streak tests

ไอโซเลท NN91 สร้างระยะยับยั้งต่อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *M. luteus* TISTR 884 ได้มากกว่า 50 มิลลิเมตร ส่วน *C. albicans* BCC 5390 มีระยะยับยั้งที่ 36 มิลลิเมตร แต่ไม่พบการยับยั้งต่อ *E. coli* ATCC 8739 บนอาหารแข็ง

การเจริญของเซลล์และการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไอโซเลท NN91 ในอาหารเหลว

พบว่า ไอโซเลท NN91 เริ่มมีการเจริญในอาหารเหลวระหว่างวันที่ 2 ถึงวันที่ 3 ในช่วงปลายของระยะนี้จะมีการเจริญเพิ่มน้ำหนักแห้งมากขึ้น เมื่อการบ่มดำเนินเข้าสู่วันที่ 4 ถึงวันที่ 5 พบว่า มีการเจริญของเซลล์อย่างรวดเร็ว จากนั้นน้ำหนักเซลล์จะยังไม่เปลี่ยนแปลงมากนักจนถึงวันที่ 5 และวันที่ 7 แต่เมื่อการเจริญผ่านในวันที่ 8 ปริมาณเซลล์จะเริ่มลดลง

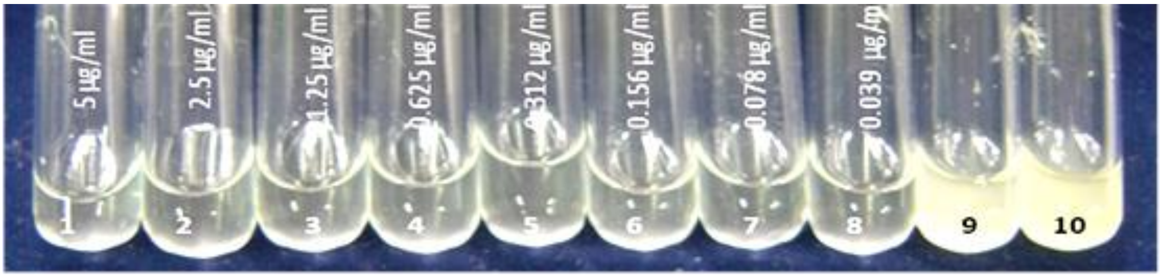

Figure 1. Example of minimum inhibitory concentration (MIC) assay of actinomycetes isolate NN91 against *Micrococcus luteus*, tube No. 9 and 10 showed the growth of microbial test while tube No. 8 showed the minimum inhibitory concentration

อย่างต่อเนื่อง เมื่อนำน้ำเลี้ยงเซลล์มาทดสอบการยับยั้งต่อ *E. coli* พบว่า น้ำเลี้ยงเซลล์ในช่วง 3 - 13 วัน มีบริเวณยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ 1 และ 2 วัน ส่วนการทดสอบการยับยั้งต่อ *S. aureus* พบว่า ทุกระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ให้ผลต่อบริเวณยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ 11 วัน สามารถยับยั้งได้มากที่สุด ส่วนการยับยั้งต่อ *M. luteus* พบว่า การเลี้ยงเซลล์ที่ระยะเวลา 5, 7 และ 13 ให้ผลการยับยั้งมากที่สุด ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์อื่น ๆ ส่วนการยับยั้ง *C. albicans* พบว่า การเลี้ยงเซลล์ที่ระยะเวลา 7 และ 11 ให้ผลการยับยั้งมากที่สุด ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์อื่น ๆ (Table 1)

ความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำเลี้ยงเซลล์ของไอโซเลท NN91

น้ำเลี้ยงเซลล์ของแอคติโนมัยสีทไอโซเลท NN91 มีความคงตัว เมื่อบ่มที่ 100 °C เป็นเวลา 15 นาที เมื่อนำน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากวันที่ 7 ซึ่งเป็นวันที่พบการยับยั้งสูงสุดในจุลินทรีย์ทดสอบทุกชนิดมาเพิ่มเวลาการบ่ม เป็นเวลา 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 นาที พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่มความกว้างของบริเวณยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบของน้ำเลี้ยงเซลล์ มีแนวโน้มที่ลดลง (Table 2) โดยพบว่า ความสามารถในการยับยั้งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำเลี้ยงเซลล์ควบคุมในทุกเชื้อทดสอบ

สัณฐานวิทยาของไอโซเลท NN91

หลังเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท NN91 ลงบนอาหาร ISP2 เป็นเวลา 7 วัน พบว่า สัณฐานวิทยาการเจริญบนผิวอาหาร ISP2 มีโคโลนีสีขาวคล้ายจุดแป้ง และเมื่อตรวจดูจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา กำลังขยาย 500 เท่า พบว่า มีรูปร่างสปอร์ชนิดเกลียว (spiral) ดังแสดงใน Figure 2 ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสกุล *Streptomyces*

Table 1. Cell dry weight and antimicrobial activity of supernatant from actinomycetes isolate NN91

Time (day)	Cell dry weight (g)	Inhibition zone diameter (mm)			
		E. coli	*S. aureus*	*M. luteus*	*C. albicans*
1	0.033 ± 0.015	0.00 ± 0.00^{c}	1.66 ± 0.01^{f}	0.00 ± 0.00^{f}	0.00 ± 0.00^{f}
2	0.039 ± 0.010	4.66 ± 0.03^{b}	3.67 ± 0.07^{e}	3.33 ± 0.03^{e}	0.00 ± 0.00^{f}
3	0.042 ± 0.010	5.32 ± 0.02^{a}	4.07 ± 0.12^{d}	4.66 ± 0.01^{d}	2.66 ± 0.01^{e}
4	0.052 ± 0.007	5.33 ± 0.02^{a}	4.07 ± 0.06^{d}	5.33 ± 0.01^{c}	3.65 ± 0.01^{d}
5	0.079 ± 0.002	5.33 ± 0.08^{a}	6.32 ± 0.02^{c}	9.66 ± 0.01^{a}	4.66 ± 0.02^{c}
7	0.081 ± 0.002	5.33 ± 0.01^{a}	8.00 ± 0.10^{b}	**9.66 ± 0.00^{a}**	**5.33 ± 0.01^{a}**
9	0.067 ± 0.002	5.29 ± 0.08^{a}	8.03 ± 0.15^{b}	9.34 ± 0.01^{b}	5.03 ± 0.06^{b}
11	0.054 ± 0.008	5.30 ± 0.05^{a}	**8.33 ± 0.01^{a}**	9.33 ± 0.01^{b}	**5.33 ± 0.00^{a}**
13	0.040 ± 0.004	5.30 ± 0.06^{a}	8.00 ± 0.10^{b}	**9.66 ± 0.01^{a}**	5.00 ± 0.10^{b}

Mean ± SE within the same column follow by different letters showed significantly different at $p \leq 0.05$ by Duncan's multiple range test

Table 2. Antimicrobial activity of actinomycetes isolate NN91 supernatant (7 - day cultivation) after boiling at 100 °C

Boiling time (min)	Inhibition zone diameter by three replica (mm)			
	E. coli	*S. aureus*	*M. luteus*	*C. albicans*
0	5.33 ± 0.01^{a}	8.33 ± 0.06^{a}	9.66 ± 0.01^{a}	5.32 ± 0.02^{a}
15	5.33 ± 0.01^{a}	8.33 ± 0.01^{a}	9.66 ± 0.10^{a}	5.33 ± 0.01^{a}
30	0.00 ± 0.00^{b}	5.50 ± 0.10^{d}	5.63 ± 0.25^{c}	3.00 ± 0.00^{b}
45	0.00 ± 0.00^{b}	5.80 ± 0.10^{c}	4.50 ± 0.20^{de}	2.53 ± 0.15^{c}
60	0.00 ± 0.00^{b}	5.13 ± 0.06^{e}	4.63 ± 0.06^{d}	2.60 ± 0.00^{c}
70	0.00 ± 0.00^{b}	4.33 ± 0.15^{f}	4.60 ± 0.00^{d}	0.00 ± 0.00^{d}
90	0.00 ± 0.00^{b}	4.53 ± 0.25^{f}	4.30 ± 0.10^{e}	0.00 ± 0.00^{d}
105	0.00 ± 0.00^{b}	4.30 ± 0.10^{f}	4.53 ± 0.06^{d}	0.00 ± 0.00^{d}
120	0.00 ± 0.00^{b}	3.60 ± 0.20^{g}	4.53 ± 0.06^{d}	0.00 ± 0.00^{d}

Mean ± SE within the same column follow by different letters showed significantly different at $p \leq 0.05$ by Duncan's multiple range test

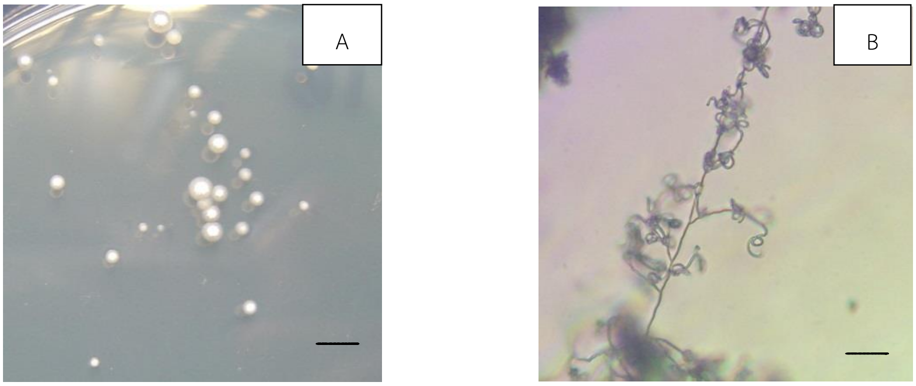

Figure 2. Morphology of Isolate *Streptomyces coerulescens* NN91

A) colony on ISP2, 7 days (scale bar 1 mm) B) aerial mycelia (scale bar 10 μm)

ค่า minimum inhibitory concentration **ของสารสกัดหยาบแอคติโนมัยสีทไอโซเลท** NN91

ผลของการใช้สารสกัดหยาบความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า มีค่า MIC ต่อการเจริญของ *M. luteus* เท่ากับ 0.039 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง *S. aureus* คือ 0.009 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *16S rRNA*

จากการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *16S rRNA* บางส่วน (partial sequence) จำนวน 720 คู่เบส (bp) พบว่า ไอโซเลท NN91 มีความคล้ายคลึงกับ *Streptomyces coerulescens* NBRC 12758^{T} (AB184122) ที่ 98.9 % จึงให้ชื่อว่า *Streptomyces coerulescens* ไอโซเลท NN91

วิจารณ์

ไอโซเลท NN91 สามารถต้านการเจริญของ *C. albicans* BCC 5390, *M. luteus* TISTR 884 และ *S. aureus* ATCC 25923 ทั้งอาหารแข็งและในอาหารเหลวได้ดี แต่พบการยับยั้งต่อ *E. coli* ATCC 8739 ในอาหารเหลวเท่านั้น อาจเป็นเพราะความแตกต่างของการเลี้ยงในอาหารทั้งสองแบบ การเลี้ยงบนอาหารเหลวที่มีอัตราการให้อากาศอย่างสม่ำเสมอ อาจทำให้ *S. coerulescens* ไอโซเลท NN91 สร้างสารบางชนิด ที่ไม่ผลิตออกมาเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง เช่นเดียวกับงานวิจัยที่ผ่านมาได้รายงานว่าสารปฏิชีวนะแวนโคมัยซิน (vancomycin) ถูกสร้างจาก *Amycolatopsis orientalis* ในสภาวะให้อากาศเท่านั้น ดังนั้น ออกซิเจนจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสร้างสารออกฤทธิ์จากแอคติโนมัยสีท (Clark *et al*., 1995) ในเมื่อพิจารณาการเจริญในอาหารเหลวภายใต้สภาวะแบบเขย่า พบว่า *S. coerulescens* ไอโซเลท NN91 เริ่มมีการเจริญระหว่างวันที่ 2 ถึงวันที่ 3 โดยการเจริญของเซลล์เป็นไปอย่างช้า ๆ ต่อมาในช่วงปลายของระยะนี้มีการเจริญเพิ่มน้ำหนักแห้งมากขึ้น เมื่อการบ่มดำเนินเข้าสู่วันที่ 4 ถึงวันที่ 5 พบว่า มีการเจริญของเซลล์อย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นการเจริญแบบ exponential จากนั้นน้ำหนักเซลล์ยังไม่เปลี่ยนแปลงมากนักจนถึงวันที่ 5 และวันที่ 7 ซึ่งเป็นช่วง stationary phase ซึ่งมีจำนวนเซลล์สูงสุดและคงที่ แต่เมื่อการเจริญผ่านในวันที่ 8 ปริมาณเซลล์เริ่มลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งอยู่ในช่วง decline phase เนื่องจากแหล่งอาหารเริ่มหมดลง รวมทั้งสารที่เป็นของเสียที่สะสมจากกระบวนการเมแทบอลิซึมไปมีผลต่อการเจริญ จากข้อมูลพบว่า น้ำหนักเซลล์ที่เพิ่มขึ้น สัมพันธ์กับบริเวณยับยั้งที่กว้างขึ้น อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยพบว่าการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบในบางวันมีค่าเพิ่มขึ้น จากนั้นจะลดลงเล็กน้อยในวันต่อมา เช่น *S. aureus* และ *C. albican* ในวันที่ 11 หรือ *M. luteus* ในวันที่ 13 อาจเป็นเพราะสภาวะการเลี้ยงเชื้อในครั้งนี้เป็นการให้อากาศด้วยเครื่องเขย่าแบบไม่มีอุปกรณ์ควบคุมอุณภูมิ ทำให้อุณหภูมิห้องสามารถเปลี่ยนแปลงได้ เป็นปัจจัยส่งผลต่อค่าการยับยั้งของสารออกฤทธิ์หรืออาจเกิดปฏิกิริยาบางอย่างตามธรรมชาติระหว่างสารมากกว่า 1 ชนิดในน้ำเลี้ยงเซลล์ ค่าการยับยั้งจึงไม่สัมพันธ์กับน้ำหนักเซลล์ตามทฤษฎีอย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องศึกษาต่อไป

เมื่อเพิ่มเวลาการบ่ม supernatant ที่ 100 °C เป็นเวลา 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 นาที พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่ม ความกว้างของบริเวณยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบของน้ำเลี้ยงเซลล์ มีแนวโน้มที่ลดลง จากผลที่ได้ทำให้กล่าวได้ว่า ความคงตัวต่ออุณหภูมิของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำเลี้ยงเซลล์ของ *S. coerulescens* ไอโซเลท NN91 ต่อความร้อนที่ 100 °C นั้น มีความคงตัวอยู่เพียงช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น พบว่า ที่ความร้อนที่ 100 °C ในระยะเวลา 15 นาที สามารถคงความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบทุกสายพันธุ์ได้ แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาเป็น 30 นาที จะเริ่มสูญเสียคุณสมบัติในการยับยั้ง *E. coli* ไป ส่วนคุณสมบัติในการยับยั้งต่อ *S. aureus, M. luteus* และ *C. albicans* เริ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเวลาในการให้ความร้อนผ่านไป 70, 45 และ 70 นาที ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่รายงานว่า สารต้านจุลินทรีย์ที่พบใน streptomyces หลายชนิด เป็นสารในกลุ่มเอนไซม์ เช่น ไคติเนส (chitinase) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เสียสภาพได้เมื่อผ่านความร้อนสูงเป็นระยะเวลานาน (Narayana and Vijayalakshmi, 2009)

ค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง *M. luteus* ของการทดลองครั้งนี้ เท่ากับ 0.039 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง *M. luteus* ของแอคติโนมัยสีทในกลุ่ม Streptomyces จากงานวิจัยอื่น ๆ เช่น Atta *et al*. (2009) ได้เลี้ยง *Streptomyces* sp. AZ-NIOFD1 ในอาหารเหลวและสกัดสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลาย พบว่า ค่า MIC ของสารนี้ต่อ *M. luteus* มีค่าเท่ากับ 15.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่ามากกว่างานวิจัยในครั้งนี้ หรือตัวอย่างงานวิจัยของ Selvin *et al*. (2004) ได้คัดแยก *Streptomyces* sp. (BTL7) จากฟองน้ำทะเล *(Dendrilla nigra)* จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สกัดโดยใช้ hexane dichloromethane

และ methanol เป็นตัวทำละลาย หาค่า MIC ต่อ *M. luteus* พบค่าเท่ากับ 44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะเห็นได้ว่า สารสกัดจาก *S. coerulescens* ไอโซเลท NN91 ของงานวิจัยในครั้งนี้ มีประสิทธิภาพที่สูงกว่างานทดลองที่ผ่านมาซึ่งเป็นแหล่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแหล่งอื่น ๆ โดยความเข้มข้นของสารเพียง 0.039 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้งการเจริญของ *M. luteus* ได้ เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง *S. aureus* กับงานวิจัยชิ้นอื่นพบว่า งานวิจัยของ Arasu *et al*. (2008) รายงานว่าสารสกัดหยาบจาก *Streptomyces* spp. ไอโซเลท ERI-26 มีค่า MIC ต่อ *S. aureus* มากกว่า 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในทุกส่วนสกัด (fractions) จากการเปรียบเทียบดังกล่าว แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *S. coerulescens* ไอโซเลท NN91 ที่มีประสิทธิภาพที่สูงกว่าสารสกัดจาก *Streptomyces* spp. ไอโซเลท ERI-26 เป็นอย่างมาก

อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างของค่า MIC ของสารสกัดหยาบจาก *S. coerulescens* ไอโซเลท NN91 ที่ได้ กับงานวิจัยอื่น ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็น ชนิดและการเจริญของของแอคติโนมัยสีทที่นำมาเลี้ยงและสกัด อาหารที่ใช้ในการเลี้ยง สภาวะต่าง ๆ ในการเลี้ยง ไม่ว่าจะเป็น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารที่ใช้เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแต่ละชนิดนั้น มีคุณสมบัติในการชะสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่อยู่ในน้ำเลี้ยงเซลล์ได้แตกต่างกัน จึงต้องมีการพิจารณาเลือกใช้ตัวทำลายที่เหมาะสมในการสกัดด้วย

สรุป

งานวิจัยในครั้งนี้พบว่า แอคติโนมัยสีท ไอโซเลท NN91 สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์ทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ *E. coli* ATCC 8739 *S. aureus* ATCC 25923 และ *M. luteus* TISTR 884 และยีสต์ทดสอบ คือ *C. albicans* BCC 5390 ได้เป็นอย่างดี โดยระยะเวลา 7 วัน สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ในอาหารเหลว ISP2 ได้ดีที่สุด สารออกฤทธิ์ดังกล่าว สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมดได้ ถึงแม้ว่าจะผ่านความร้อน 100 °C เป็นเวลาถึง 15 นาทีก็ตาม และพบว่าประสิทธิภาพลดลงเมื่อใช้เวลาให้ความร้อนมากขึ้น โดยฤทธิ์การยับยั้งต่อ *S. aureus* และ *M. luteus* ยังคงอยู่ ถึงแม้ว่าเวลาในการให้ความร้อนจะผ่านไปถึง 120 นาที ค่า MIC ต่อการเจริญของ *M. luteus* เท่ากับ 0.039 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง *S. aureus* คือ 0.009 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การศึกษาลำดับเบสของยีน *16S rRNA* เพื่อจัดจำแนกชนิดของไอโซเลทดังกล่าว พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *S. coerulescens* NBRC 12758^{T} (AB184122) ที่ 98.9 %

S. coerulescens ไอโซเลท NN91 มีศักยภาพในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถต้านได้ทั้งกลุ่มยีสต์ซึ่งเป็นยูคาริโอต และแบคทีเรียที่เป็นโปรคาริโอต แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบบหลากกลุ่มซึ่งถือว่ามีความพิเศษที่น่าสนใจ สามารถต่อยอดในทางการแพทย์หรือพัฒนาเป็นยาต้านจุลินทรีย์ในอนาคต โดยสารที่ได้อาจเป็นสารชนิดใหม่ ซึ่งยังต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างทางเคมี หรือกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. กรรณิการ์ ดวงมาลย์ รองศาสตราจารย์ ดร. นันทนา สีสุข และรองศาสตราจารย์ ดร. อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต ที่ดูแลให้คำปรึกษาตลอดจนเอื้อเฟื้อเครื่องมือและสถานที่ในการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York. 467 p.

Arasu, M.V., V. Duraipandiyan, P. Agastian and S. Ignacimuthu. 2008. Antimicrobial activity

of *Streptomyces* spp. ERI-26 recovered from Western Ghats of Tamil Nadu. Journal de Mycologie Médicale 18(3): 147-153.

Atta, H.M., S.M. Dabour and S.G. Desoukey. 2009. Sparsomycin antibiotic production by *Streptomyces* sp. AZ-NIOFD1: Taxonomy, fermentation, purification and biological activities. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science 5(3): 368-377.

Boudjella, H., K. Bouti, A. Zitouni, F. Mathieu, A. Lebrihi and N. Sabaou. 2006. Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium* Sg 10 isolated from a Saharan soil. Microbiological Research 161(4): 288-298.

Clark, G.J., D. Langley and M.E. Bushell. 1995. Oxygen limitation can induce microbial secondary metabolite formation: investigations with miniature electrodes in shaker and bioreactor culture. Microbiology 141: 663-669.

Kieser, T., M.J, Bibb, M.J. Buttner, K.F. Chater and D.A. Hopwood. 2000. Practical *Streptomyces* Genetics. John Innes Foundation, Norwich. 613p.

Lazzarini A., L. Cavaletti, G. Toppo and F. Marinelli. 2000. Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. Antonie Van Leeuwenhoek 78(3): 399-405.

Lyons, A.J. and T.G. Pridham. 1971. *Streptomyces torulosus* sp. n., an unusual knobby-spored Taxon. Applied Microbiology 22(2): 190-193.

Maleki, H., A. Dehnad, S. Hanifian and S. Khani. 2013. Isolation and molecular identification of *Streptomyces* spp. with antibacterial activity from northwest of Iran. BioImpacts 3(3): 129-134.

Niyomvong, N., W. Pathom-aree, A. Thamchaipenet and K. Duangmal. 2012. Actinomycetes from tropical limestone caves. Chiang Mai Journal of Science 39(3): 373-388.

Narayana, K.J.P. and M. Vijayalakshmi. 2009. Chitinase Production by *Streptomyces* sp. ANU 6277. Brazilian Journal of Microbiology 40(4): 725-733.

Okami, Y. and K. Hotta. 1988. Search and discovery of new antibiotics. pp. 33-67. *In*: M. Goodfellow, S.T. Williams and M. Mordarski (eds.). Actinomycetes in Biotechnology. Academic Press, London

Olano, C., C. Mendez and J.A. Salas. 2009. Antitumor compounds from marine actinomycetes. Marine Drugs 7(2): 210-248.

Sasaki, T., T. Otani, K. Yoshida, N. Unemi, M. Hamada and T. Takeuchi. 1997. Discovery of methyl-2-(2'-hydroxyphenyl)-2-oxazoline-4-carboxylate as a secondary metabolite from *Actinomadura* sp. Journal of Antibiotics 50(10): 881-883.

Schumacher, R.W., B.L. Harrigan and B.S. Davidson. 2001. Kahakamides A and B, new neosidomycin metabolites from a marine-derived actinomycete. Tetrahedron Letters 42(31): 5133-5135.

Selvin, J., S. Joseph, K.R.T. Asha, W.A. Manjusha, V.S. Sangeetha, D.M. Jayaseema, M.C. Antony and A.L. Denslin Vinitha. 2004. Antibacterial potential of antagonistic *Streptomyces* sp. isolated from marine sponge *Dendrilla nigra*. FEMS Microbiology Ecology 50(2): 117-122.

Sengupta, S., A. Pramanik, A. Ghosh and M. Bhattacharyya. 2015. Antimicrobial activities of actinomycetes isolated from unexplored regions of Sundarbans mangrove ecosystem. BMC microbiology 15(1): 170, doi: 10.1186/s12866-015-0495-4

Siddiqi, S.H., L.B. Heifets, M.H. Cynamon, N.M. Hooper, A. Laszlo, J.P. Libonati, P.J. Lindholm-Levy and N. Pearson. 1993. Rapid broth macrodilution method for determination of MICs for *Mycobacterium avium* isolates. Journal of Clinical Microbiology 31(9): 2332-2338.

ผลของการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดต่อความรู้ ของผู้เข้ารับการอบรมที่อำเภอเชียงกลาง จังหวัดน่าน

Effect of Cricket Culture Training on Trainees' Knowledge, at Chiang Klang District, Nan Province

ก้องภพ กุลสาริน[1] จุฑาทิพย์ เฉลิมผล[1*] รุจ ศิริสัญลักษณ์[1] และ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์[2]

Kongphop Kulsarin[1], Juthathip Chalermphol[1*], Ruth Sirisunyaluck[1] and Piyawan Suttiprapan[2]

[1]ภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[1]Department of Agricultural Economy and Development, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[2]ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[2]Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

**Corresponding author: Email: kongphop.kulsarin@gmail.com*

(Received: 19 May 2021; Accepted: 12 July 2021)

Abstract: This research aimed to 1) study the trainees' knowledge participating in cricket raising training, 2) compare the trainees' knowledge of cricket raising before and after training, and 3) explore the problems and suggestions from the trainees. Data were collected through questionnaires from a sample group of 70 participants in cricket culture training in March 2019 in Chiang Klang district, Nan province. The data were analyzed using frequency, percentage, arithmetic mean, maximum, minimum, standard deviation, and paired t - test. The study results showed that most of the trainees were female aged between 31 - 45 years old, with primary education. They were farmers, and most of them raised house cricket species. The trainees had 10 crickets cultured ponds and 3 - 5 years of experience in cricket raising. Most trainees were trained in cricket raising the first time and received knowledge and support from the district agricultural office. Hypothesis testing results showed that the trainees' knowledge level of cricket culture after training was higher than before. After training, the overall score of trainees was significantly different from before training at 0.05. The trainees' problems indicated that the trainees did not have the knowledge and new techniques in cricket culture management, crickets had diseases and pests, cricket eggs did not hatch, and crickets grew in different stages and became smaller which caused the reduction of the number of crickets. Besides, there were increasing cricket feed costs and cricket price was controlled by the middleman. Regarding suggestions, related agencies should support management and disease prevention in cricket culture. Including a group being formed to provide inexpensive inputs to its members. Cricket price insurance schemes should also be provided for the group members or trainees.

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

Keywords: Crickets raising, farmers, training, technology transfer

บทคัดย่อ: การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาความรู้ของผู้เข้ารับการอบรมการเลี้ยงจิ้งหรีด 2) เปรียบเทียบความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดก่อนและหลังการอบรมของผู้เข้ารับการอบรม และ 3) ศึกษาปัญหาและข้อเสนอแนะของผู้เข้ารับการอบรมการเลี้ยงจิ้งหรีด ได้ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างที่เป็นผู้เข้ารับการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดในอำเภอเชียงกลาง จังหวัดน่าน ที่ได้เข้ารับการอบรมจำนวน 70 ราย ในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 โดยใช้แบบสอบถามในการเก็บรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูลด้วยค่าความถี่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุด ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และใช้สถิติ paired t-test ผลการศึกษา พบว่า ผู้เข้ารับการอบรมส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง มีอายุระหว่าง 31 - 45 ปี จบการศึกษาระดับประถมศึกษา มีอาชีพการเกษตร ส่วนใหญ่เลี้ยงจิ้งหรีดสายพันธุ์สะดิ้ง มีบ่อเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด 10 บ่อ มีประสบการณ์การเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด 3 - 5 ปี ส่วนใหญ่ได้รับการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดเป็นครั้งแรก ได้รับความรู้และการสนับสนุนจากสำนักงานเกษตรอำเภอ ผลการทดสอบสมมติฐาน พบว่า ระดับความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดหลังการอบรมมีสูงกว่าก่อนอบรม ผู้เข้ารับการอบรมได้คะแนนรวมหลังการอบรมแตกต่างจากก่อนการอบรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 ปัญหาของผู้เข้ารับการอบรม พบว่า ผู้เข้ารับการอบรมขาดความรู้และเทคนิควิธีการใหม่ ๆ ในการจัดการการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด จิ้งหรีดเป็นโรคและมีศัตรูหลายชนิด ไข่จิ้งหรีดไม่ฟักตัว จิ้งหรีดเจริญเติบโตไม่พร้อมกันและมีขนาดของลำตัวเล็กลง ทำให้ปริมาณของผลผลิตที่ได้ลดลง นอกจากนี้ ยังมีต้นทุนอาหารของจิ้งหรีดมีราคาสูงขึ้น และการจำหน่ายจิ้งหรีดถูกกดราคาจากพ่อค้าคนกลาง ส่วนข้อเสนอแนะคือควรให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องเข้ามาให้การสนับสนุนเกี่ยวกับการจัดการ และการป้องกันโรคในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด รวมถึงมีการรวมกลุ่มกันเพื่อจัดหาปัจจัยการผลิตที่มีราคาถูกจำหน่ายแก่สมาชิก และควรมีการประกันราคารับซื้อล่วงหน้าแก่สมาชิก/ผู้เข้ารับการอบรม

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด เกษตรกร การฝึกอบรม การถ่ายทอดเทคโนโลยี

* ข้อมูลอายุถามเป็นช่วงจึงไม่สามารถนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ยได้

คำนำ

จากปัญหาประชากรโลกที่เพิ่มขึ้นและสภาวะโลกร้อน พบว่า ปัจจุบันการขาดแคลนอาหารของโลกมีแนวโน้มรุนแรงขึ้น มีประชากรที่ขาดแคลนอาหารกว่า 850 ล้านคน จากจำนวนประชากรโลกทั้งหมด 7,000 ล้านคน (Suwannakoot, 2017) องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations หรือ FAO) จึงมีการวางแผนส่งเสริมให้แมลงเป็นอาหารโลก เนื่องจากแมลงมีคุณค่าทางโภชนาการสูง วงจรชีวิตสั้น สามารถขยายและเพิ่มจำนวนได้รวดเร็ว การเลี้ยงแมลงเพื่อนำมาเป็นอาหารจึงเป็นแนวทางที่จะช่วยลดปัญหาการขาดแคลนอาหารในอนาคตที่จะเกิดขึ้นได้อีกด้วย (Wongsiri, 1983)

ปัจจุบันจิ้งหรีดเป็นแมลงที่ได้รับความนิยมสูง เนื่องจากเพาะเลี้ยงได้ง่าย ให้ผลผลิตมาก มีอัตราการวางไข่สูง และมีคุณค่าทางอาหารสูง และสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายประเภท (Jamjanya and Tavorn-anukulkit, 2005) ทั้งนี้ ประเทศไทยมีฟาร์มเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดอยู่ประมาณ 20,000 แห่ง มีผลผลิตรวมประมาณ 7,500 ตันต่อปี รวมมูลค่ากว่า 900 ล้านบาท (Jamjanya, 2012) โดยสายพันธุ์จิ้งหรีดที่มีการเลี้ยงในประเทศไทยและ

เป็นที่ต้องการของตลาดมี 3 ชนิด ได้แก่ จิ้งหรีดทองดำ จิ้งหรีดทองแดง และจิ้งหรีดบ้าน หน่วยงานภาครัฐโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้เริ่มประกาศใช้มาตรฐานการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มจิ้งหรีด (มกษ. 8202 - 2560) หรือ GAP เมื่อวันที่ 28 พฤศจิกายน พ.ศ. 2560 เพื่อรองรับการยกระดับมาตรฐานฟาร์มเลี้ยงจิ้งหรีด (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, 2017)

จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูล พบว่า จังหวัดน่าน เป็นจังหวัดหนึ่งที่มีเกษตรกรเลี้ยงจิ้งหรีดเพื่อการค้าและการบริโภค มีการเลี้ยงมาอย่างต่อเนื่องและยาวนานหลายปี จนประสบความสำเร็จสามารถพึ่งพาตนเองได้ อีกทั้งยังได้รับการยอมรับจากพ่อค้ารับซื้อจิ้งหรีดหลายรายในภาคเหนือ และได้รับการคัดเลือกจากหน่วยงานต่าง ๆ ในการจัดให้เป็นแหล่งศึกษาเรียนรู้ให้กับผู้ที่สนใจเลี้ยงจิ้งหรีดอีกด้วย อย่างไรก็ตาม แต่แม้ว่าเกษตรกรจะมีการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดมาเป็นเวลานาน ยังพบว่า เกษตรกรบางรายยังขาดความรู้พื้นฐานที่จำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดให้มีประสิทธิภาพ ได้คุณภาพและมาตรฐานความปลอดภัย ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาเพื่อทราบว่าการอบรมมีส่วนในการเพิ่มความรู้และพัฒนาผู้เข้ารับการอบรมอย่างไร ผู้เข้ารับการอบรมมีปัญหาและข้อเสนอแนะใดบ้าง เพื่อนำผลการวิจัยที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการส่งเสริมให้เกษตรกรเลี้ยงจิ้งหรีดเพื่อให้มีปริมาณอาหารที่เพียงพอ มีคุณค่าทางสารอาหาร และปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ คือ ผู้เข้ารับการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดในอำเภอเชียงกลาง จังหวัดน่าน ในปี พ.ศ. 2562 จำนวนทั้งหมด 85 ราย

กระบวนการวิจัย

ผู้วิจัยกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยการคำนวณโดยใช้สูตรของ Yamane (1973) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ซึ่งคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาได้ 70 ราย ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ผู้วิจัยเก็บรวบรวมข้อมูลโดยใช้แบบสอบถามประกอบไปด้วยตอนที่ 1 ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคลเศรษฐกิจและสังคม ตอนที่ 2 ทดสอบความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด และ ตอนที่ 3 ปัญหาและข้อเสนอแนะของผู้เข้ารับการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด ได้ตรวจสอบความถูกต้องโดยนำแบบสอบถามไปปรึกษาคณะกรรมการที่ปรึกษาเพื่อตรวจสอบความถูกต้องของเนื้อหา (content validity) และทำการแก้ไขให้สมบูรณ์ นำแบบสอบถามที่ไปทดสอบกับผู้เข้ารับการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดในอำเภอเชียงกลาง จังหวัดน่าน ที่ไม่ใช่กลุ่มตัวอย่างจำนวน 20 ราย จากนั้น นำแบบทดสอบความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด มาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาค่า reliability coefficient ตามวิธีของ Cronbach (Vanichbuncha, 2018) โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูปเพื่อการวิจัยทางสังคมศาสตร์ ซึ่งผลปรากฏว่ามีค่าสัมประสิทธิ์อัลฟา (Cronbach's alpha) เท่ากับ 0.809

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ใช้ข้อมูลลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคลเศรษฐกิจ และสังคม ประกอบด้วย เพศ อายุ การศึกษา อาชีพ สายพันธุ์จิ้งหรีด จำนวนบ่อ ประสบการณ์ จำนวนครั้งที่อบรม และหน่วยงานที่ให้ความรู้และสนับสนุน และใช้แบบทดสอบความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดจำนวน 21 ข้อ นอกจากนี้ได้ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลการวิจัยอยู่ในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2562 โดยมีการเก็บรวบรวมข้อมูลจากแบบสอบถาม และมีการทดสอบความรู้ของผู้เข้าร่วมอบรมก่อนการอบรมและหลังการอบรม

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลจากแบบสอบถามที่ได้เก็บรวบรวมจากผู้เข้ารับการอบรมการเพาะ

เลี้ยงจิ้งหรีด เพื่อนำผลมาประมวลโดยใช้โปรแกรม SPSS / PC for Windows ซึ่งสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) เพื่ออธิบายลักษณะของข้อมูล ได้แก่ ค่าความถี่ (frequency) ค่าร้อยละ (percentage) ค่าเฉลี่ย (arithmetic mean) ค่าสูงสุด (maximum) ค่าต่ำสุด (minimum) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และสถิติเชิงอ้างอิง (inferential statistics) เพื่อใช้วิเคราะห์เปรียบเทียบความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดก่อนและหลังการอบรมของผู้เข้ารับการอบรมในอำเภอเชียงกลาง จังหวัดน่าน โดยใช้สถิติ paired t - test

การแปลผล

ใช้แบบสอบถามที่สร้างขึ้นตามวัตถุประสงค์ จำนวน 21 ข้อ ซึ่งเป็นข้อคำถามที่มีความหมายเชิงบวก 16 ข้อ ถ้าตอบว่า “ถูกต้อง” ให้คะแนนเป็น 1 ถ้าตอบว่า “ไม่ถูกต้อง” ให้คะแนนเป็น 0 และข้อคำถามที่มีความหมายเชิงลบ 5 ข้อ คือ ข้อ 2, 3, 6, 13, 17 ถ้าตอบว่า “ถูกต้อง” ให้คะแนนเป็น 0 ถ้าตอบว่า “ไม่ถูกต้อง” ให้คะแนนเป็น 1

ใช้ค่าคะแนนที่มีค่าตั้งแต่ 0 - 21 โดยพิจารณาตามการแปลผลระดับคะแนนความรู้แบบอิงเกณฑ์ของ Bloom (1968) ตอบถูกร้อยละ 80 - 100 อยู่ในระดับสูง ตอบถูกร้อยละ 60 - 79 อยู่ในระดับปานกลาง และตอบถูกน้อยกว่าร้อยละ 60 อยู่ในระดับต่ำ ส่วนการเทียบคะแนน ถ้ามีระดับคะแนน 16.60 - 21.00 หมายถึง อยู่ในระดับสูง ระดับคะแนน 12.60 - 16.59 หมายถึง อยู่ในระดับปานกลาง และระดับคะแนนน้อยกว่า 12.60 หมายถึง อยู่ในระดับต่ำ

ผลการศึกษา

ลักษณะพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคมของผู้เข้ารับการอบรมการเลี้ยงจิ้งหรีด

ผู้เข้ารับการอบรมส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง มีอายุระหว่าง 31 - 45 ปี จบการศึกษาระดับต่ำกว่ามัธยมศึกษา ประกอบอาชีพทางการเกษตร ส่วนใหญ่เลี้ยงจิ้งหรีดสายพันธุ์สะดิ้ง มีบ่อเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด 10 บ่อ มีประสบการณ์การเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด 3 - 5 ปี ส่วนใหญ่ได้รับการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดเป็นครั้งแรก และได้รับความรู้และการสนับสนุนจากสำนักงานเกษตรอำเภอ (Table 1)

Table 1. Characteristics of cricket culture trainees

n = 70

Characteristics	Numbers	Percentage
Genders		
Male	30	42.9
Female	40	57.1
Age groups		
23 - 30 years old	3	4.3
31 - 45 years old	37	52.9
Over 46 years old	30	42.9
Education levels		
Primary education	28	40.0
Secondary education	19	27.1
Bachelor's degree	17	24.3
Master's degree	6	8.6

Table 1. Continued

n = 70

Characteristics	Numbers	Percentage
Occupations		
Farmers	36	51.4
Personal business	25	35.7
Government agencies	7	10.0
Private sector employees	1	1.4
Store employees	1	1.4
Cricket species		
House crickets	42	60.0
Golden crickets	21	30.0
Copper crickets	7	10.0
Number of ponds		
2	15	21.4
8	3	4.3
10	39	55.7
12	8	11.4
20	5	7.1
Average: 9.14 ponds		
Maximum: 20 ponds		
Minimum: 2 ponds		
Experience		
No experience	24	34.3
1 - 2 years	13	18.6
3 - 5 years	24	34.3
Over 6 years	9	12.8
Numbers of training sessions		
First time	15	21.4
1 - 2 times	55	78.6
Education and support agencies		
Sub - district agricultural office	27	38.6
Chiang Mai University	17	24.3
Department of Agricultural Extension	11	15.7
Provincial and district livestock offices	15	21.4

ระดับความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดก่อนและหลังการอบรมของผู้เข้ารับการอบรมการเลี้ยงจิ้งหรีด

ก่อนการอบรม พบว่า ผู้เข้ารับการอบรม ร้อยละ 57.1 มีความรู้อยู่ในระดับสูง รองลงมาร้อยละ 34.3 มีความรู้อยู่ในระดับปานกลาง และร้อยละ 8.6 มีความรู้อยู่ในระดับต่ำ ข้อที่ผู้เข้ารับการอบรมตอบถูก ร้อยละ 80 ขึ้นไป มี 15 ประเด็น

หลังการอบรม พบว่า ผู้เข้ารับการอบรม ร้อยละ 81.4 มีความรู้อยู่ในระดับสูง รองลงมา ร้อยละ 18.6 มีความรู้อยู่ในระดับปานกลาง ข้อที่ผู้เข้ารับการอบรม ตอบถูก ร้อยละ 80 ขึ้นไป มี 17 ประเด็น

เปรียบเทียบความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดก่อนและหลังการอบรมของผู้เข้ารับการอบรมการเลี้ยงจิ้งหรีด

ระดับความรู้หลังการอบรมสูงกว่าก่อนอบรม จากการใช้ paired t - test จะเห็นได้ว่าผู้เข้ารับการอบรม ได้คะแนนรวมหลังการอบรมแตกต่างจากก่อนการอบรม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.01 โดยก่อนการอบรมมีคะแนนเฉลี่ย 16.50 และหลังการอบรมมีคะแนนเฉลี่ย 18.64 และมีค่า t - test เท่ากับ -6.358 sig. เท่ากับ 0.000 มีคำถาม 12 ข้อ ซึ่งผู้เข้ารับการอบรมมีความรู้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 มี 8 ข้อ และผู้เข้ารับการอบรมมีความรู้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 มี 4 ข้อ (Table 2)

Table 2. The knowledge comparation of cricket culture before and after training

No.	Subject matters	Pre-test/ Post-test	Correct answers	$\bar{x}$	S.D.	t	Sig.
1.	GAP is farm standard	Pre-test	69	0.99	0.120	-1.000	0.321
		Post-test	70	1.00	0.000		
2.	Operators seeking farm certification are not required GAP	Pre-test	49	0.70	0.462	-3.169	0.002**
		Post-test	62	0.89	0.320		
3.	Operators' farm animal standard certification must only apply at the provincial livestock office's farm	Pre-test	19	0.27	0.448	-1.922	0.059
		Post-test	27	0.39	0.490		
4.	The provincial livestock office selects an assessor to audit the farm	Pre-test	65	0.93	0.259	-2.304	0.024*
		Post-test	70	1.00	0.000		
5.	The provincial livestock office makes an inspectional report to submit to the certification committee	Pre-test	61	0.87	0.337	-3.191	0.002**
		Post-test	70	1.00	0.000		
6.	The district livestock office issues a farm standard certificate to the operators once per 5 years	Pre-test	28	0.40	0.493	-4.288	0.000**
		Post-test	46	0.66	0.478		
7.	Farmers certified to farm standards must comply by the department of livestock development	Pre-test	67	0.96	0.204	-1.000	0.321
		Post-test	69	0.99	0.120		

Table 2. Continued

No.	Subject matters	Pre-test/ Post-test	Correct answers	$\bar{x}$	S.D.	t	Sig.
8.	Major nonconformity does not meet the requirements of GAP	Pre-test	62	0.89	0.320	-1.425	0.159
		Post-test	66	0.94	0.234		
9.	The operator can correct the defect 2 times for 3 months	Pre-test	54	0.77	0.423	-2.601	0.011*
		Post-test	64	0.91	0.282		
10.	The renewal of the certificate is done every 3 years	Pre-test	58	0.83	0.380	-3.778	0.000**
		Post-test	70	1.00	0.000		
11.	No certification for 3 years without certified conditions	Pre-test	60	0.86	0.352	-0.705	0.483
		Post-test	62	0.89	0.320		
12.	Beta agonist, nitrofurans, nitroimidazoles, and chloramphenicol are prohibited	Pre-test	56	0.80	0.403	-2.800	0.007**
		Post-test	66	0.94	0.234		
13.	The animal owner must notify a veterinarian within 24 hours	Pre-test	21	0.30	0.462	-2.716	0.008**
		Post-test	34	0.49	0.503		
14.	Personnel performing standard farm have a medical certificate	Pre-test	59	0.84	0.369	-2.580	0.006**
		Post-test	67	0.97	0.169		
15.	The water quality analysis is for animal husbandry in microbiology	Pre-test	62	0.89	0.320	-1.934	0.057
		Post-test	68	0.97	0.168		
16.	The standard farm should be at least 5 km from the animal source	Pre-test	64	0.91	0.282	-1.425	0.159
		Post-test	68	0.97	0.168		
17.	If there is disinfection no need to record anything	Pre-test	45	0.64	0.483	-2.245	0.028*
		Post-test	54	0.77	0.423		
18.	Use of standard farm animal drugs must comply with TAS 9032	Pre-test	66	0.94	0.234	-2.045	0.045*
		Post-test	70	1.00	0.000		
19.	Standard farms need to record farm and product management and keep the data for at least 3 years	Pre-test	67	0.96	0.204	-0.445	0.658
		Post-test	68	0.97	0.168		
20.	For destruction, animal carcasses shall be buried.	Pre-test	60	0.86	0.352	-2.984	0.004**
		Post-test	68	0.97	0.168		
21.	The animal farm requires a license to operate an unhealthy business	Pre-test	63	0.90	0.302	-1.000	0.321
		Post-test	66	0.94	0.234		
	Total				-6.358		0.000**

* The difference was statistically significant at the 0.05 level

** There was a statistically significant difference at the 0.01 level

ผลการศึกษาด้านปัญหาและข้อเสนอแนะ

ปัญหาของผู้เข้ารับการอบรม พบว่า ผู้เข้ารับการอบรมขาดความรู้และเทคนิควิธีการใหม่ ๆ ในการจัดการการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด จิ้งหรีดเป็นโรคและมีศัตรูหลายชนิด ไข่จิ้งหรีดไม่ฟักตัว จิ้งหรีดเจริญเติบโตไม่พร้อมกันและมีขนาดของลำตัวเล็กลง ทำให้ปริมาณของผลผลิตที่ได้ลดลง นอกจากนี้ยังมีต้นทุนอาหารของจิ้งหรีดมีราคาสูงขึ้น และการจำหน่ายจิ้งหรีดถูกกดราคาจากพ่อค้าคนกลาง ส่วนข้อเสนอแนะคือควรให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องเข้ามาให้การสนับสนุนเกี่ยวกับการจัดการและการป้องกันโรคในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด รวมถึงมีการรวมกลุ่มกันเพื่อจัดหาปัจจัยการผลิตที่มีราคาถูกจำหน่ายแก่สมาชิก และควรมีการประกันราคารับซื้อล่วงหน้าแก่สมาชิก/ผู้เข้ารับการอบรม

วิจารณ์

การศึกษาวิจัยเรื่องผลของการอบรมต่อความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดของผู้เข้ารับการอบรมในอำเภอเชียงกลาง จังหวัดน่าน เป็นการวิจัยเชิงทดลองชนิด pre - experimental design ซึ่งมีประเด็นที่นำมาอภิปรายผลได้ ดังนี้

1) ความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดก่อนและหลังการอบรมของผู้เข้ารับการอบรม

พบว่า ผู้ที่เข้ารับการอบรมมีความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดเพิ่มขึ้นหลังการอบรม ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Srikanlayaniwart (2016) ที่พบว่า การพัฒนาความรู้ในการทำวิจัยโดยการอบรมที่มีการทดสอบก่อนการอบรมและหลังการอบรม ทำให้ผู้ที่เข้ารับการอบรมมีความรู้เพิ่มขึ้นทุกด้าน ซึ่งผลการเปรียบเทียบความรู้ในการทำวิจัยก่อนการอบรมและหลังการอบรม พบว่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 แสดงว่าผู้เข้ารับการอบรมมีความตั้งใจเพื่อเตรียมความพร้อมต่อการอบรมและการทดสอบมากขึ้น ทำให้คะแนนหลังการอบรมมีคะแนนเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน

2) เปรียบเทียบความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดก่อนและหลังการอบรมของผู้เข้ารับการอบรม

พบว่า ผู้เข้ารับการอบรมมีความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ 12 ประเด็น แต่มีประเด็นที่น่าสนใจอีก 9 ประเด็นที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเป็นเพราะผู้เข้ารับการอบรมบางรายยังไม่ได้เริ่มเลี้ยงจิ้งหรีดหรือเลี้ยงจิ้งหรีด 1 - 2 ปี จึงยังไม่ทราบข้อมูลการยื่นคำขอรับการตรวจรับรองมาตรฐานฟาร์มเลี้ยงสัตว์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Panyayuen *et al.* (2020) ที่พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อความรู้ของเกษตรกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ การศึกษา ประสบการณ์การ และการได้รับข่าวสารเกี่ยวกับการทำการเกษตร นอกจากนี้ผู้เข้าอบรมไม่สามารถตอบคำถามในการวัดความรู้บางประเด็นได้ อาจเนื่องมาจากผู้เข้ารับการอบรมยังไม่เข้าใจข้อมูล เพราะการใช้คำศัพท์ทางวิชาการ จึงควรมีการปรับเปลี่ยนข้อความให้เข้าใจง่ายขึ้น และประเด็นเกี่ยวกับฟาร์มมาตรฐานต้องมีการบันทึกข้อมูลการบริหารฟาร์ม และการจัดการด้านผลผลิต อาจเป็นเพราะผู้เข้ารับการอบรมขาดความรู้ในด้านมาตรฐานการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับฟาร์มจิ้งหรีด สอดคล้องกับการศึกษาของ Kanjina *et al.* (2019) ที่ทำการศึกษาเรื่องระบบการเลี้ยงจิ้งหรีดเพื่อการค้าของเกษตรกรได้เสนอแนะว่าการส่งเสริมการเลี้ยงจิ้งหรีดควรต้องมีการทำความเข้าใจบริบทชุมชนทั้งในเชิง พื้นที่ เศรษฐกิจและสังคม ที่เอื้อต่อการเลี้ยงจิ้งหรีด รวมถึงปัจจัยเสี่ยงทางการตลาดและสอดคล้องกับการศึกษาของ Tangtis and Intaruccomporn (2015) ที่พบว่า การพัฒนาเกษตรกรให้ประสบความสำเร็จ เกษตรกรจะต้องได้รับการส่งเสริมความรู้ในปริมาณที่เพียงพอ และเจ้าหน้าที่ที่จะเข้าไปปฏิบัติงานจะต้องมีความรู้ความเชี่ยวชาญทำงานร่วมกับเกษตรกรในพื้นที่ได้อย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอ

3) ปัญหาที่พบในการเลี้ยงจิ้งหรีด

เกษตรกรมีปัญหาเรื่องการจัดการต้นทุนและราคาจำหน่าย สอดคล้องกับการศึกษาของ Soithongdee and Nilapornkul (2019) ได้ทำการศึกษา

เรื่อง ต้นทุนและผลตอบแทนในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดเชิงพาณิชย์ พบว่า โครงสร้างโรงเรือนในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันส่งผลให้ต้นทุนการผลิตแตกต่างกันด้วย ทั้งนี้การลงทุนเลี้ยงจิ้งหรีดเชิงพาณิชย์สามารถขยายจากครัวเรือนสู่การดำเนินธุรกิจเชิงพาณิชย์ได้มาก เพราะยังเป็นที่ต้องการของตลาดโลก

สรุป

ผลการศึกษา พบว่า ผู้เข้ารับการอบรมส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง มีอายุระหว่าง 31 - 45 ปี จบการศึกษาระดับต่ำกว่ามัธยมศึกษา มีอาชีพการเกษตร ส่วนใหญ่เลี้ยงจิ้งหรีดสายพันธุ์สะดิ้ง มีบ่อเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด 10 บ่อ มีประสบการณ์การเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด 3 - 5 ปี ส่วนใหญ่ได้รับการอบรมการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดเป็นครั้งแรก ได้รับความรู้และการสนับสนุนจากสำนักงานเกษตรอำเภอ ผลการทดสอบสมมติฐานพบว่าระดับความรู้ในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีดหลังการอบรมมีมากกว่าก่อนอบรม จะเห็นได้ว่าโดยภาพรวมผู้เข้ารับการอบรมได้คะแนนรวมหลังการอบรมแตกต่างจากก่อนการอบรม โดยก่อนการอบรมมีคะแนนรวมเฉลี่ย 16.50 และหลังการอบรมมีคะแนนรวมเฉลี่ย 18.64

ผลการศึกษาปัญหาและข้อเสนอแนะของผู้เข้ารับการอบรมพบว่า ปัญหาคือผู้เข้ารับการอบรมขาดความรู้และเทคนิควิธีการใหม่ ๆ ในการจัดการการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด และในระหว่างการเลี้ยงจิ้งหรีดเป็นโรค และมีศัตรูหลายชนิด เช่น ไร ตัวหนอนแมลงวันลาย มอด และจิ้งจก รวมทั้งไข่จิ้งหรีดไม่ฟักตัว การเลี้ยงจิ้งหรีดเป็นเวลานาน หลายรุ่น ทำให้จิ้งหรีดเจริญเติบโตไม่พร้อมกันและมีขนาดของลำตัวเล็กลง ทำให้ปริมาณของผลผลิตที่ได้ลดลง และต้นทุนอาหารของจิ้งหรีดมีราคาสูงขึ้น อีกทั้งการจำหน่ายจิ้งหรีดถูกกดราคาจากพ่อค้าคนกลาง ส่วนข้อเสนอแนะในการเลี้ยงจิ้งหรีดคือควรให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องเข้ามาให้การสนับสนุนเกี่ยวกับเทคนิควิธีการ การจัดการ และการป้องกันโรคในการเพาะเลี้ยงจิ้งหรีด ผู้เข้ารับการอบรมเสนอให้มีการรวมกลุ่มกัน เพื่อจัดหาปัจจัยการผลิตที่มีราคาถูกจำหน่ายแก่สมาชิก และควรมีการประกันราคารับซื้อล่วงหน้าแก่สมาชิก/ผู้เข้ารับการอบรม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่สนับสนุนงบประมาณการจัดอบรม และสำนักงานปศุสัตว์เขต 5 วิทยากรผู้บรรยายความรู้เรื่องจิ้งหรีด รวมทั้งเกษตรกรผู้อบรมการเลี้ยงจิ้งหรีดในอำเภอเชียงกลาง จังหวัดน่าน ที่ได้ช่วยเหลือและสนับสนุนในการเก็บรวบรวมข้อมูลในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Bloom, B. S. 1968. Learning for mastery. Evaluation Comment 1(2): 1-12.

Jamjanya, T. 2012. Sustainability of edible insect business. Khon Kaen Agriculture Journal. 40(3): 203-206. (in Thai)

Jamjanya, T. and C. Thavorn-anukulkit. 2005. Mass rearing of edible cricket (*Modicogryllus confirmata* Walker). pp. 428-432. *In*: Proceedings of the 2nd Symposium on Thai Resources: All Things are Intertwined. Center of Plant Genetic Conservation, Khlong Phai, Nakhon Ratchasima. (in Thai)

Kanjina, C., S. Simaraks, S. Laohasiriwong and S. Choenkwan. 2019. Commercial cricket raising system by farmers in a village of Khon Kaen province. Khon Kaen Agriculture Journal 47 (Suppl. 1): 225-232. (in Thai)

National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. 2017. Thai agricultural standard for good agricultural practices for cricket farm. National Bureau of Agricultural

Commodity and Food Standards, Bangkok. 10 p. (in Thai)

Panyayuen, S., S. Fongmul, P. Sakkatat and K. Kanokhong. 2020. Factors effecting knowledge about pesticide-free vegetable growing of farmers in Muangpan district, Lampang province. pp. 1469-1479. *In:* Proceedings of the 13th UDRU National Graduate Research Conference: Disruption in Academic Research. Graduate School of Udon Thani Rajabhat University, Udon Thani. (in Thai)

Tangtis, N. and W. Intaraccomporn. 2558. Factors Affecting of Successful Implementation of the Royal Project Development Centers. Journal of Agriculture 31(1): 59-68.

Soithongdee, N. and N. Nilapornkul. 2019. Cost and return of commercial cricket farming. MBA-KKU Journal 12(1): 165-186. (in Thai)

Srikanlayaniwart, S. 2016. Develop the knowledge and ability to research of personnel Faculty of Medicine at the Naresuan University. pp. 1582-1596. *In*: Proceedings of the 12th Naresuan Research: Research and Innovation for National Development. Naresuan University, Phitsanulok. (in Thai)

Suwannakoot, A. 2017. When FAO persuades people to eat insects. (Online). Available: http://www.doa.go.th/pibai/pibai/n16/v_5-june/ceaksong.html (October 6, 2017). (in Thai)

Vanichbuncha, K. 2018. Using SPSS for Windows in Data Analysis. 31st ed. Chulalongkorn University Press, Bangkok. 520 p. (in Thai)

Wongsiri, S. 1983. Insect Pests of Agricultural Crops in Thailand. Odeon Store, Bangkok. 375 p. (in Thai)

Yamane, T. 1973. Statistics: An Introductory Analysis. Harper and Row, New York.

ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รี อย่างยั่งยืนของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่

Factors Related to Growers' Need for Sustainable Strawberry Cultivation in Chiang Mai Province

นำโชค บุญมี [1*] พัฒนา สุขประเสริฐ [1] สุวิสา พัฒนเกียรติ [2] และ ศิรส ทองเชื้อ [3]

Numchok Bunmee [1*], Patana Sukprasert [1], Suwisa Pattanakiat [2] and Siros Tongchure [3]

[1]ภาควิชาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Agricultural Extension and Communication, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[2]สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2]Extension and Training Office, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[3]คณะเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม กรุงเทพฯ 10900

[3]Faculty of Agriculture and Life Sciences, Chandrakasem Rajabhat University, Bangkok 10900, Thailand

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

(Received: 24 May 2021; Accepted: 24 August 2021)

Abstract: The objectives of this research were to study 1) Socio - economic background of farmers 2) Strawberry cultivation management according to academic requirements 3) Sustainability in strawberry cultivation needs of farmers and 4) Factors related to growers' need for sustainable strawberry cultivation. The target population consisted of 541 strawberry growers in Chiang Mai, and 230 samples were selected by stratified random sampling. The interview form was used as a tool for data collection. The data were analyzed by using descriptive statistics and their relationship were determined using multiple regression. The results showed that 1) 74.78 % of strawberry farmers were male, average age at 45.73 years old, 39.57 % of farmers completed primary school education level, average number of household members at 4.69 people, average number of strawberry planting labors at 3.42 people, average size of strawberry planting area at 3.04 rai, average strawberry yield at 2,010.72 kg / rai, cost of strawberry cultivation averaged at 37,994.20 baht / rai and income from strawberry cultivation averaged at 66,836.72 baht / rai. 2) The farmers managed the strawberry cultivation according to academic requirements at the level of sometimes in overall. 3) In terms of need for sustainable strawberry cultivation, the results revealed high levels in overall, while the environment and the economic sides showed the highest levels. and 4) The factors related to growers' need for sustainable strawberry cultivation were the labor force, group / cooperative membership, and planting management according to the academic requirements for applying the results.

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

Keywords: Strawberry cultivation, farmer needs, sustainable agriculture

บทคัดย่อ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา 1) ลักษณะพื้นฐานบางประการทางสังคมและเศรษฐกิจของเกษตรกร 2) การจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการของเกษตรกร 3) ความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนของเกษตรกร และ 4) ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนของเกษตรกร ประชากรเป้าหมาย คือ เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 541 คน กลุ่มตัวอย่าง จำนวน 230 คน ได้จากการสุ่มแบบแบ่งชั้นภูมิ ใช้แบบสัมภาษณ์เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติพรรณนา และหาค่าความสัมพันธ์โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ถดถอยพหุ ผลการศึกษา พบว่า 1) เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รี ร้อยละ 74.78 เป็นเพศชาย อายุเฉลี่ย 45.73 ปี ร้อยละ 39.57 จบการศึกษาระดับประถมศึกษา มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 4.69 คน จำนวนแรงงานปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 3.42 คน ขนาดพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 3.04 ไร่ ได้รับผลผลิตเฉลี่ย 2,010.72 กิโลกรัมต่อไร่ มีรายจ่ายในการปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 37,994.20 บาทต่อไร่ และรายได้จากการปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 66,836.72 บาทต่อไร่ 2) เกษตรกรมีการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการโดยรวมและรายด้านในระดับปฏิบัติบางครั้ง 3) เกษตรกรมีความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนโดยรวมอยู่ในระดับมาก โดยด้านที่มีความต้องการในระดับมากที่สุด คือ ด้านสิ่งแวดล้อมและด้านเศรษฐกิจ และ 4) ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการของผู้ปลูกในการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน คือ จำนวนแรงงาน การเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ และการจัดการการปลูกตามข้อกำหนดทางวิชาการด้านการนำผลไปปรับใช้

คำสำคัญ: การปลูกสตรอว์เบอร์รี ความต้องการของเกษตรกร เกษตรกรรมอย่างยั่งยืน

คำนำ

สตรอว์เบอร์รี (strawberry) เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญชนิดหนึ่งของพื้นที่ภาคเหนือตอนบน ที่พระบาทสมเด็จพระมหาภูมิพลอดุลยเดชมหาราช บรมนาถบพิตร ทรงมีพระราชดำริให้ศึกษาและส่งเสริมการปลูกเพื่อทดแทนการปลูกฝิ่นของชาวไทยภูเขา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2512 เป็นต้นมา ซึ่งสามารถสร้างอาชีพใหม่และรายได้ที่มากพอ แก้ไขปัญหาพืชเสพติด ป้องกันการแผ้วถางป่า บุกรุกพื้นที่ต้นน้ำบนเทือกเขาสูงทางภาคเหนือ และมุ่งไปสู่การพัฒนาการปลูกสตรอว์เบอร์รีในเชิงพาณิชย์ โดยยึดแนวทางการพัฒนาที่ไม่เปลี่ยนแปลงวิถีชีวิตของราษฎร ตามหลักปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียง กับหลักการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (Maitrawattana, 2014) เนื่องจากความเหมาะสมของสภาพพื้นที่และภูมิอากาศ ทำให้ผลผลิตสตรอว์เบอร์รีในแต่ละปีสามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรเป็นมูลค่าปีละหลายร้อยล้านบาท ซึ่งเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงรายมีสตรอว์เบอร์รีเป็นพืชหลักในการสร้างรายได้มาโดยตลอด (Pipattanawong *et al.*, 2011) โดยในปี พ.ศ. 2560 มีพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีมากที่สุดในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 5,835 ไร่ ส่วนใหญ่อยู่ในอำเภอสะเมิงและอำเภอกัลยาณิวัฒนา (Chiang Mai Provincial Agricultural Extension Office, 2017) โดยมีผลผลิตรวมไม่น้อยกว่า 10,000 ตัน สามารถสร้างงานและสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรจากการจำหน่ายผลผลิตภายในประเทศรวมทั้งการส่งออก และสามารถส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงเกษตรในพื้นที่ คิดเป็นมูลค่ารวมกว่า 400 ล้านบาท

ปัจจุบันแนวโน้มความต้องการทางการตลาดของสตรอว์เบอร์รีมีเพิ่มมากขึ้น ทั้งในรูปแบบของการบริโภคผลสด และการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในหลายประเภท ได้แก่ น้ำสตรอว์เบอร์รี ผลสตรอว์เบอร์รีแห้ง แยม และไวน์ จากความต้องการดังกล่าวนี้ทำให้ประเทศไทยมีการนำเข้าสตรอว์เบอร์รี ในปี พ.ศ.

2561 คิดเป็นมูลค่า 435 ล้านบาท (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, 2020) แต่ในขณะเดียวกัน การปลูกสตรอว์เบอร์รีของเกษตรกรส่วนใหญ่ในจังหวัดเชียงใหม่กำลังประสบปัญหาหลายประการในด้านการผลิต ได้แก่ คุณภาพและปริมาณผลผลิตลดลง โรคและแมลงศัตรูพืชที่สะสมในแปลงปลูกเพิ่มมากขึ้น การใช้สารเคมีทางการเกษตรเกินกว่าอัตราแนะนำทำให้มีรายจ่ายเพิ่มขึ้นและเกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อมและในผลผลิต ทำให้ความเชื่อมั่นของผู้บริโภคลดลง (Panjaruang *et al.*, 2014) ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านการตลาด ได้แก่ ราคาผลผลิตลดต่ำลงเนื่องจากคุณภาพที่ลดลงทั้งในด้านขนาดและรสชาติ ทั้งนี้เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ยังไม่ได้มีการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ เพราะมุ่งหวังเฉพาะปริมาณของผลผลิตมากกว่าการคำนึงถึงคุณภาพผลผลิตและสภาพปัจจัยแวดล้อม อีกทั้งหน่วยงานที่เกี่ยวข้องยังขาดรายละเอียดที่ชัดเจนในเรื่องความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนของเกษตรกร ที่อาจจะส่งผลให้เกิดปัญหาต่อเนื่องตามมาในการประกอบอาชีพปลูกสตรอว์-เบอร์รี

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงศึกษาเรื่องปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการจัดการเพื่อให้เกิดความยั่งยืนจากความสมดุลแบบเป็นพลวัตในด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม (Office of the National Economic and Social Development Council, 2021) เพื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้เป็นแนวทางในการส่งเสริมและพัฒนาการปลูกสตรอว์เบอร์รีให้เป็นไปตามข้อกำหนดทางวิชาการ โดยประยุกต์จากแนวทางการจัดการอย่างเป็นระบบหรือวงจรเดมมิ่งที่ประกอบด้วย PDCA ได้แก่ การวางแผน (Plan) การดำเนินงาน (Do) การตรวจสอบ (Check) และการนำผลไปปรับใช้ (Act) (Bordeerat, 2000) และให้สอดคล้องกับความต้องการของเกษตรกร เพื่อให้สามารถประกอบอาชีพปลูกสตรอว์เบอร์รีได้อย่างยั่งยืนต่อไป โดยไม่เปลี่ยนแปลงวิถีชีวิตของเกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการวิจัย คือ เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีเป็นอาชีพหลักในจังหวัดเชียงใหม่ที่มีรายชื่อในทะเบียนเกษตรกรของกรมส่งเสริมการเกษตร ปี พ.ศ. 2561 จำนวน 541 คน หาขนาดของกลุ่มตัวอย่างโดยใช้วิธีการของ Yamane (1973) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ได้ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 230 คน สุ่มตัวอย่างแบบแบ่งชั้นภูมิ โดยแยกเป็นรายอำเภอที่มีรายชื่อเกษตรกร ได้แก่ อำเภอสะเมิง ประชากร จำนวน 346 คน กลุ่มตัวอย่าง จำนวน 147 คน อำเภอแม่แจ่ม ประชากร จำนวน 107 คน กลุ่มตัวอย่าง จำนวน 45 คน อำเภอกัลยาณิวัฒนา ประชากร จำนวน 59 คน กลุ่มตัวอย่าง จำนวน 25 คน อำเภอแม่วาง ประชากร จำนวน 23 คน กลุ่มตัวอย่าง จำนวน 10 คน และอำเภอฝาง ประชากร จำนวน 6 คน กลุ่มตัวอย่าง จำนวน 3 คน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ใช้แบบสัมภาษณ์แบบมีโครงสร้างเป็นเครื่องมือในการเก็บข้อมูล โดยนำแบบสัมภาษณ์ให้ผู้เชี่ยวชาญ จำนวน 3 ท่าน ตรวจสอบความถูกต้อง (validity) และนำมาปรับปรุงแก้ไข จากนั้นนำไปทดลองใช้ (tryout) กับเกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีที่ไม่ใช่ประชากรเป้าหมายและมีความใกล้เคียงกับประชากรที่ใช้ในการวิจัยมากที่สุด (Ercan *et al.*, 2007) จำนวน 30 ราย นำข้อมูลในตอนที่ 2 การจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ และตอนที่ 3 ความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน ของแบบสัมภาษณ์ มาคำนวณค่าความเชื่อมั่น (reliability) โดยวิธีการของ Cronbach (1951) ได้ค่า Cronbach’s alpha ของตอนที่ 2 เท่ากับ 0.79 และตอนที่ 3 เท่ากับ 0.81 ซึ่งอยู่ในระดับความเชื่อมั่นสูง (Arikunto, 2013) ซึ่งสามารถนำมาใช้เก็บรวบรวมข้อมูลได้

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติพรรณนา ได้แก่ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุด และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในการบรรยายสรุปข้อมูล และหาค่าความสัมพันธ์โดยใช้สถิติอนุมาน คือ การวิเคราะห์ถดถอยพหุ ในการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนของเกษตรกร โดยตัวแปรอิสระที่นำมาวิเคราะห์ มีทั้งหมด 15 ตัวแปร กำหนดการวัดแต่ละตัวแปร ดังนี้ เพศ (ชายหรือหญิง) อายุ (จำนวนปี) ระดับการศึกษา (จำนวนปี) จำนวนสมาชิกในครัวเรือน (จำนวนคน) จำนวนแรงงานปลูกสตรอว์เบอร์รี (จำนวนคน) ขนาดพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รี (จำนวนไร่) การเข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ (เป็นหรือไม่เป็น) ปริมาณผลผลิตสตรอว์เบอร์รี (จำนวนกิโลกรัมต่อปี) รายจ่ายในการปลูกสตรอว์เบอร์รี (จำนวนบาทต่อปี) รายได้จากการปลูกสตรอว์เบอร์รี (จำนวนบาทต่อปี) การได้รับการรับรองมาตรฐานการผลิตสตรอว์เบอร์รี (ได้หรือไม่ได้) และการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ ด้านการวางแผน (Plan) (จำนวนคะแนน) ด้านการดำเนินงาน (Do) (จำนวนคะแนน) ด้านการตรวจสอบ (Check) (จำนวนคะแนน) และด้านการนำผลไปปรับใช้ (Act) (จำนวนคะแนน) ตัวแปรตาม คือ ความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน (ค่าเฉลี่ย) โดยวัดระดับความต้องการตามมาตรวัด 5 ระดับ ของ Likert และกำหนดเกณฑ์การแปลความหมายโดยใช้เกณฑ์ ค่าเฉลี่ย 4.21 - 5.00 หมายถึง มากที่สุด ค่าเฉลี่ย 3.41 - 4.20 หมายถึง มาก ค่าเฉลี่ย 2.61 - 3.40 หมายถึง ปานกลาง ค่าเฉลี่ย 1.81 - 2.60 หมายถึง น้อย และค่าเฉลี่ย 1.00 - 1.80 หมายถึง น้อยที่สุด

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะพื้นฐานทางสังคมและเศรษฐกิจ

เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีส่วนใหญ่ร้อยละ 74.78 เป็นเพศชาย อายุเฉลี่ย 45.73 ปี ร้อยละ 39.57 จบการศึกษาระดับประถมศึกษา จำนวนสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 4.69 คน จำนวนแรงงานปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 3.42 คน มีขนาดพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 3.04 ไร่ ร้อยละ 61.74 ไม่ได้เข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ ได้ผลผลิตสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 2,010.72 กิโลกรัมต่อไร่ รายจ่ายในการปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 37,994.20 บาทต่อไร่ รายได้จากการปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 66,836.72 บาทต่อไร่ และร้อยละ 83.48 ไม่ได้รับการรับรองมาตรฐานการผลิตสตรอว์เบอร์รี สอดคล้องกับงานวิจัยของ Panjaruang *et al.* (2014) ที่รายงานว่า เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีในอำเภอสะเมิงซึ่งมีพื้นที่ปลูกมากที่สุดในจังหวัดเชียงใหม่ส่วนใหญ่เป็นเพศชาย อายุเฉลี่ย 42.44 ปี จบการศึกษาระดับประถมศึกษา จำนวนสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 4.23 คน และขนาดพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีเฉลี่ย 2.66 ไร่

การจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ

เกษตรกรมีการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการโดยรวมอยู่ในระดับปฏิบัติบางครั้ง (ค่าเฉลี่ย 0.97) ซึ่งเป็นการจัดการในด้านการดำเนินงาน (Do) (ค่าเฉลี่ย 1.06) ด้านการตรวจสอบ (Check) (ค่าเฉลี่ย 0.93) ด้านการนำผลไปปรับใช้ (Act) (ค่าเฉลี่ย 0.90) และด้านการวางแผน (Plan) (ค่าเฉลี่ย 0.88) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาแต่ละด้าน มีรายละเอียดดังนี้

1. ด้านการวางแผน (Plan) ในภาพรวมเกษตรกรมีการจัดการในระดับปฏิบัติบางครั้ง (ค่าเฉลี่ย 0.88) โดยในประเด็นที่มีการจัดการในระดับปฏิบัติบางครั้งที่มีค่าเฉลี่ยสูง 3 อันดับแรก ได้แก่ การคัดเลือกพันธุ์สตรอว์เบอร์รีที่เหมาะสมกับเป้าหมายและพื้นที่ปลูก (ค่าเฉลี่ย 1.17) การคัดเลือกพื้นที่ที่มีความเหมาะสมต่อการปลูกสตรอว์เบอร์รี (ค่าเฉลี่ย 1.10) และการกำหนดเป้าหมายหรือวัตถุประสงค์ในการปลูกสตรอว์เบอร์รีเป็นอาชีพได้อย่างชัดเจน (ค่าเฉลี่ย 1.01) ตามลำดับ แต่มีการจัดการในระดับไม่ได้ปฏิบัติ ใน 2 ประเด็น ได้แก่ การวิเคราะห์ธาตุอาหารหรือคุณภาพของดินก่อนการปลูกหรือก่อนการให้ปุ๋ยสตรอว์เบอร์รี (ค่าเฉลี่ย 0.65) และการจัดทำแผนการผลิตหรือแผนการตลาดของสตรอว์-

เบอร์รี (ค่าเฉลี่ย 0.36) ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gámez and Rey (2020) ที่รายงานว่า ระบบการผลิตสตรอว์เบอร์รีแบบเปิดโดยทั่วไปในพื้นที่โล่งไม่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเมื่อเปรียบเทียบกับระบบปิด สาเหตุสำคัญเกิดจากปุ๋ยที่ตกค้าง ก่อให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชันและความเป็นพิษต่อระบบนิเวศ เพราะเกษตรกรไม่ได้มีการปฏิบัติในการวิเคราะห์ธาตุอาหารหรือคุณภาพของดินก่อนการปลูกหรือก่อนการให้ปุ๋ยสตรอว์เบอร์รี จึงใส่ปุ๋ยเคมีในปริมาณมากเกินกว่าอัตราแนะนำ และทำให้มีสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้เกษตรกรส่วนใหญ่ยังคงจำหน่ายผลผลิตผ่านพ่อค้าคนกลาง รวมทั้งยังขาดความรู้และความเข้าใจ จึงไม่ได้มีการจัดทำแผนการผลิตหรือแผนการตลาดของสตรอว์เบอร์รี

2. ด้านการดำเนินงาน (Do) ในภาพรวมมีการจัดการในระดับปฏิบัติบางครั้ง (ค่าเฉลี่ย 1.06) โดยในประเด็นที่มีการจัดการในระดับปฏิบัติบางครั้งที่มีค่าเฉลี่ยสูง 4 อันดับแรก ได้แก่ การจัดการในเรื่องการเก็บเกี่ยวผลผลิต (ค่าเฉลี่ย 1.32) การจัดการในเรื่องการป้องกันและกำจัดโรคของสตรอว์เบอร์รี (ค่าเฉลี่ย 1.27) การจัดการในเรื่องการป้องกันและกำจัดแมลงที่เป็นศัตรูของสตรอว์เบอร์รี (ค่าเฉลี่ย 1.27) และการจัดการในเรื่องการคัดเกรดผลผลิตก่อนการจำหน่าย (ค่าเฉลี่ย 1.27) ตามลำดับ แต่มีการจัดการในระดับไม่ได้ปฏิบัติใน 2 ประเด็น ได้แก่ การเพิ่มมูลค่าผลผลิตได้อย่างมั่นใจ (ค่าเฉลี่ย 0.63) และการจัดการในการลดของเสียจากการผลิต (ค่าเฉลี่ย 0.53) ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Supamala (2006) ที่รายงานว่า เกษตรกรส่วนใหญ่จำหน่ายสตรอว์เบอร์รีในรูปแบบผลสด เนื่องมาจากราคาผลสตรอว์เบอร์รีสดยังเป็นที่น่าพอใจ เกษตรกรจึงไม่ได้มีการปฏิบัติในการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิต นอกจากนี้เกษตรกรยังไม่เห็นความสำคัญและไม่เข้าใจการจัดการในการลดของเสียจากการผลิต เช่น การนำใบแก่ของสตรอว์เบอร์รีที่ได้ตัดทิ้งไปทำเป็นปุ๋ยหมัก

3. ด้านการตรวจสอบ (Check) ในภาพรวมมีการจัดการในระดับปฏิบัติบางครั้ง (ค่าเฉลี่ย 0.93) โดยในประเด็นที่มีการจัดการในระดับปฏิบัติบางครั้งที่มีค่าเฉลี่ยสูง 3 อันดับแรก ได้แก่ การติดตามผลที่เกิดขึ้นจากการทำกิจกรรมในการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างต่อเนื่อง (ค่าเฉลี่ย 1.22) การตรวจสอบสิ่งที่เกิดขึ้นจากการทำกิจกรรมในการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างใกล้ชิด (ค่าเฉลี่ย 1.21) และการจดบันทึกการดำเนินงานในแต่ละกิจกรรมของการปลูกสตรอว์เบอร์รี (ค่าเฉลี่ย 0.71) ตามลำดับ แต่มีการจัดการในระดับไม่ได้ปฏิบัติในประเด็นการจัดการในเรื่องการบันทึกข้อมูลกระบวนการผลิตและการจำหน่ายเพื่อให้สามารถตรวจประเมินและตามสอบได้อย่างรวดเร็ว (ค่าเฉลี่ย 0.56) งานวิจัยของ Saetiew *et al.* (2013) รายงานว่า เหตุผลที่เกษตรกรไม่มีการปฏิบัติในการบันทึกข้อมูล เป็นเพราะว่ามีเวลาน้อย และเกษตรกรบางส่วนเขียนหนังสือไม่คล่อง อีกทั้งการบันทึกข้อมูลต้องกระทำอย่างสม่ำเสมอ รวมทั้งเกษตรกรก็ยังขาดความเข้าใจในประโยชน์จากการบันทึกข้อมูล

4. ด้านการนำผลไปปรับใช้ (Act) ในภาพรวมมีการจัดการในระดับปฏิบัติบางครั้ง (ค่าเฉลี่ย 0.90) โดยในประเด็นที่มีการจัดการในระดับปฏิบัติบางครั้งที่มีค่าเฉลี่ยสูง 3 อันดับแรก ได้แก่ การได้ปฏิบัติตามความรู้จากประสบการณ์ตรงในการปลูกสตรอว์เบอร์รี (ค่าเฉลี่ย 1.25) การนำสิ่งที่ได้รับรู้จากการปลูกสตรอว์เบอร์รีด้วยประสบการณ์ตรงไปปรับแก้ไขได้อย่างชัดเจนและมีความต่อเนื่อง (ค่าเฉลี่ย 1.25) และการนำสิ่งที่เกิดจากข้อตกลงร่วมในระหว่างผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีหรือชุมชนไปปรับแก้ไขได้อย่างชัดเจน (ค่าเฉลี่ย 1.00) ตามลำดับ แต่มีการจัดการในระดับไม่ได้ปฏิบัติในประเด็นการรวมกลุ่มเพื่อให้เกิดความร่วมมือในเรื่องการประเมินผลการดำเนินงาน (ค่าเฉลี่ย 0.39) Bhrammanachote (2018) รายงานว่า เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีควรมีการรวมกลุ่มและสร้างเครือข่ายเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดำเนินงาน ทั้งการปลูกและการแปรรูปสตรอว์เบอร์รี เพราะการรวมกลุ่มของเกษตรกรยังขาดความร่วมมือในเรื่องการประเมินผลการดำเนินงานและเกษตรกรส่วนใหญ่ยังไม่ได้เข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม ในภาพรวมของการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ แสดงใน Table 1

Table 1. Strawberry planting management according to academic requirements

Items	$\bar{x}$	SD	Management level
Plan (P)	0.88	0.33	Sometimes
Do (D)	1.06	0.37	Sometimes
Check (C)	0.93	0.39	Sometimes
Act (A)	0.90	0.39	Sometimes
Overall	0.97	0.32	Sometimes

ความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน

เกษตรกรมีความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนโดยรวมในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 4.13) เนื่องจากกำลังประสบปัญหาหลายประการทั้งในด้านการผลิตและการตลาด เมื่อพิจารณาแต่ละด้าน มีรายละเอียดดังนี้

1. ด้านเศรษฐกิจ ในภาพรวมเกษตรกรมีความต้องการในระดับมากที่สุด (ค่าเฉลี่ย 4.23) โดยประเด็นที่มีความต้องการในระดับมากที่สุดที่มีค่าเฉลี่ยสูง 3 อันดับแรก ได้แก่ การมีรายได้จากการปลูกสตรอว์เบอร์รีอยู่ในระดับเป็นที่น่าพอใจ (ค่าเฉลี่ย 4.62) การมีรายได้จากการปลูกสตรอว์เบอร์รีสูงกว่ารายจ่ายอย่างเป็นที่น่าพอใจ (ค่าเฉลี่ย 4.53) และรายจ่ายในการลงทุนปลูกสตรอว์เบอร์รีอยู่ในระดับเป็นที่ยอมรับได้ (ค่าเฉลี่ย 4.44) ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ağir *et al.* (2015) ที่รายงานว่า รายได้ที่ยั่งยืนเป็นปัจจัยด้านกลยุทธ์การจัดการความเสี่ยงที่สำคัญที่สุดที่เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีมีการรับรู้อย่างมีนัยสำคัญ เกษตรกรจึงมีความต้องการรายได้จากการปลูกสตรอว์เบอร์รีมากที่สุด

2. ด้านสังคม ในภาพรวมมีความต้องการในระดับมาก (ค่าเฉลี่ย 3.90) โดยประเด็นที่มีความต้องการในระดับมากที่สุด ได้แก่ การมีความเข้มแข็งหรือความมั่นคงในการดำเนินชีวิตประจำวัน (ค่าเฉลี่ย 4.29) และมีความต้องการในระดับมากที่มีค่าเฉลี่ยสูง 3 อันดับแรก ได้แก่ การมีกลุ่มที่สามารถสร้างความร่วมมือหรือให้ความช่วยเหลือในเรื่องการตลาดและการจำหน่ายสตรอว์เบอร์รี (ค่าเฉลี่ย 4.10) การมีกลุ่มที่สามารถสร้างความร่วมมือหรือให้ความช่วยเหลือในเรื่องปัจจัยการผลิต (ค่าเฉลี่ย 3.92) และการมีกลุ่มที่สามารถสร้างความร่วมมือหรือให้ความช่วยเหลือในเรื่องการสร้างเครือข่ายหรือการพัฒนาอาชีพ (ค่าเฉลี่ย 3.89) ตามลำดับ Ağir *et al.* (2015) รายงานว่า ความเสี่ยงที่สำคัญที่สุดที่เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีรับรู้จากการประกอบอาชีพปลูกสตรอว์เบอร์รี คือ การขาดกำลังการผลิต ทำให้เกษตรกรผู้ที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีเป็นอาชีพหลักต้องการมีความเข้มแข็งและความมั่นคงในการดำเนินชีวิตประจำวัน จากการที่สามารถประกอบอาชีพปลูกสตรอว์เบอร์รีได้อย่างต่อเนื่อง

3. ด้านสิ่งแวดล้อม ในภาพรวมมีความต้องการในระดับมากที่สุด (ค่าเฉลี่ย 4.25) โดยในประเด็นที่มีความต้องการในระดับมากที่สุด ได้แก่ การมีสิ่งแวดล้อมที่เป็นปัจจัยสนับสนุนให้มีการตัดสินใจปลูกสตรอว์เบอร์รีเป็นอาชีพได้อย่างมั่นใจ (ค่าเฉลี่ย 4.50) และการมีสิ่งแวดล้อมที่ช่วยสร้างความมั่นใจได้ในเรื่องการปลูกสตรอว์เบอร์รีเป็นอาชีพได้อย่างต่อเนื่อง (ค่าเฉลี่ย 4.27) ตามลำดับ และมีความต้องการในระดับมากในประเด็นการมีสิ่งแวดล้อมที่เป็นปัจจัยสนับสนุนให้มีการปลูกสตรอว์เบอร์รีเป็นอาชีพและประสบความสำเร็จได้โดยง่าย (ค่าเฉลี่ย 3.97) Wichachoo (2013) กล่าวว่าการปลูกสตรอว์เบอร์รีต้องคำนึงถึงองค์ประกอบสำคัญ 4 ประการ คือ ดิน น้ำ พันธุ์ และศัตรูพืช เนื่องจากสตรอว์เบอร์รีเป็นไม้ผลขนาดเล็กที่มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ความต้องการทั้ง 3 ด้าน สรุปได้ดัง Table 2

Table 2. Growers' need for sustainable strawberry cultivation

Items	$\bar{x}$	SD	Needs level
Economics	4.23	0.43	Highest
Social	3.90	0.63	High
Environment	4.25	0.51	Highest
Overall	4.13	0.47	High

ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน

ผลการวิเคราะห์การถดถอยพหุ พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเชิงพหุ (multiple coefficient of determination, R^2) มีค่าเท่ากับ 0.251 หมายความว่า ตัวแปรอิสระทั้งหมดร่วมกันอธิบายความผันแปรของความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนได้ร้อยละ 25.1 และในบรรดาตัวแปรอิสระทั้งหมด 15 ตัวแปร มีตัวแปรอิสระจำนวน 3 ตัวแปร ที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. จำนวนแรงงานปลูกสตรอว์เบอร์รี มีความสัมพันธ์เชิงลบกับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 อธิบายได้ว่า เกษตรกรที่มีจำนวนแรงงานปลูกสตรอว์-เบอร์รีมาก จะมีความต้องการระดับน้อยในการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน ส่วนเกษตรกรที่มีจำนวนแรงงานปลูกสตรอว์เบอร์รีน้อยกว่า จะมีความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนมากกว่า ทั้งนี้ เนื่องจากเกษตรกรที่มีจำนวนแรงงานปลูกสตรอว์เบอร์รีมากเป็นเกษตรกรรายใหญ่และเน้นการปลูกเพื่อให้ได้ผลผลิตในปริมาณมาก

2. การเข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 โดยมีความสัมพันธ์ในทางบวก กล่าวคือ เกษตรกรที่เข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ มีความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนมากกว่าเกษตรกรที่ไม่ได้เข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ ทั้งนี้ เนื่องจากการเข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ทำให้เกษตรกรมีโอกาสที่จะได้รับข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการปลูกสตรอว์เบอร์รีของตนเองและได้รับผลตอบแทนจากการปลูกสตรอว์เบอร์รีมากขึ้น เนื่องจากกลุ่มมีข้อกำหนดหรือแนวทางในการดำเนินงานและการแบ่งปันผลประโยชน์ร่วมกัน รวมทั้งกลุ่มที่มีความเข้มแข็งจะมีอำนาจต่อรองที่ทำให้สมาชิกได้รับผลประโยชน์มากกว่าเกษตรกรที่ไม่ได้เป็นสมาชิก Panjaruang *et al.* (2014) รายงานว่า ระยะเวลาในการเข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่มมีความสัมพันธ์ทางบวกกับการปลูกสตรอว์เบอร์รีโดยการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืชอาหาร (GAP) เนื่องจากกลุ่มมีกฎหรือแนวทางในการดำเนินงานร่วมกันที่ชัดเจน

3. การจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ ด้านการนำผลไปปรับใช้ (Act) มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 โดยมีความสัมพันธ์ในทางลบ กล่าวคือ เกษตรกรที่มีการจัดการในระดับมากในด้านการนำผลไปปรับใช้ มีความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนน้อยกว่าเกษตรกรที่มีการจัดการในระดับน้อยในการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ ด้านการนำผลไปปรับใช้ ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะการจัดการด้านการนำผลไปปรับใช้ เป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้การจัดการเป็นไปอย่างครบวงจร เพราะเป็นการนำข้อค้นพบมาปรับปรุงแก้ไขในการดำเนินงานครั้งต่อไปอย่างต่อเนื่อง โดยส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการรวมกลุ่มของเกษตรกรซึ่งในภาพรวมยังไม่มีความเข้มแข็งเพียงพอ เพราะ

จากผลการวิจัย พบว่า เกษตรกรยังมีการจัดการในระดับไม่ได้ปฏิบัติในประเด็นการรวมกลุ่มเพื่อให้เกิดความร่วมมือในเรื่องการประเมินผลการดำเนินงาน ดังนั้นเมื่อมีการตัดสินใจภายในกลุ่มเกี่ยวกับการปรับปรุงแก้ไขการดำเนินงาน จึงขาดการร่วมคิดร่วมตัดสินใจอย่างแท้จริง ทำให้เกษตรกรมีทัศนคติในเชิงลบ งานวิจัยของ Bhrammanachote (2018) รายงานว่า ปัญหาของเกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รีส่วนหนึ่ง คือ ยังขาดการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ซึ่งกันและกันหรือยังเป็นไปในลักษณะต่างคนต่างทำ ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน แสดงรายละเอียดดัง Table 3

Table 3. Factors related to need for sustainable strawberry cultivation

Independent variables	Need for sustainable strawberry cultivation		
	B	t	P - value
Constant	105.326	17.173	0.000
Gender	0.055	0.885	0.377
Age	-0.030	-0.382	0.703
Educational level	0.072	0.956	0.340
Number of household member	-0.059	-0.905	0.366
Number of labors	-0.156	-2.094	0.037*
Size of strawberry planting area	-0.023	-0.312	0.755
Membership in group or cooperative	0.237	3.116	0.002**
Strawberry yield	-0.040	-0.575	0.566
Cost of planting strawberry	0.103	1.103	0.271
Income from strawberry cultivation	0.173	1.712	0.088
Strawberry production standard certification	0.101	1.395	0.165
Strawberry cultivation management according to academic planning requirements (Plan)	0.016	0.172	0.864
Strawberry cultivation management according to academic operating requirements (Do)	-0.055	-0.595	0.553
Strawberry cultivation management according to academic inspecting requirements (Check)	-0.104	-1.212	0.227
Strawberry cultivation management according to academic applying the results requirements (Act)	-0.261	-2.790	0.006**
R^2 = 0.251 SEE = 9.718 F = 3.699 P-value = 0.000			

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

สรุป

เกษตรกรมีการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการโดยรวมอยู่ในระดับปฏิบัติบางครั้ง ซึ่งเป็นการจัดการในด้านการดำเนินงาน (Do) ด้านการตรวจสอบ (Check) ด้านการนำผลไปปรับใช้ (Act) และด้านการวางแผน (Plan) ตามลำดับ

ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืนของเกษตรกร คือ ปัจจัยด้านลักษณะพื้นฐานทางสังคมและเศรษฐกิจ ได้แก่ จำนวนแรงงานปลูกสตรอว์เบอร์รีและการเข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ ส่วนปัจจัยด้านการจัดการปลูกสตรอว์-เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการที่มีความสัมพันธ์กับความต้องการปลูกสตรอว์เบอร์รีอย่างยั่งยืน คือ การจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการด้านการนำผลไปปรับใช้ (Act)

ข้อเสนอแนะ

1. ข้อเสนอแนะต่อเกษตรกร

เกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รี ควรเข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ เพื่อให้ได้รับข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนา การปลูกสตรอว์เบอร์รีของตนเองและได้รับผลตอบแทนจากการปลูกสตรอว์เบอร์รีมากขึ้น และควรเรียนรู้และให้ความสำคัญกับการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ ตลอดจนมีการปฏิบัติอย่างสม่ำเสมอในด้านการวางแผน (Plan) การดำเนินงาน (Do) การตรวจสอบ (Check) และการนำผลไปปรับใช้ (Act) อย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพที่จะสามารถสร้างรายได้เพิ่มขึ้น

2. ข้อเสนอแนะสำหรับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร

เจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร ควรสร้างเสริมความรู้และความเข้าใจให้เกษตรกรเห็นถึงความสำคัญของการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ ที่จะก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งตนเองและกลุ่มได้อย่างต่อเนื่อง และติดตามปัญหาการปฏิบัติของเกษตรกรในด้านการวิเคราะห์ธาตุอาหารหรือคุณภาพของดินการจัดทำแผนการผลิตหรือแผนการตลาด การเพิ่มมูลค่าผลผลิต การลดของเสียในการผลิต การบันทึกข้อมูลกระบวนการผลิตและจำหน่าย และการประเมินผลการดำเนินงานของกลุ่ม เพื่อหาทางแก้ไขและช่วยเหลือให้เกษตรกรสามารถปฏิบัติได้ และส่งเสริมการปลูกสตรอว์เบอร์รีแบบประณีตที่มีความเข้มข้นในเรื่องของการจัดการตามข้อกำหนดทางวิชาการที่สอดคล้องกับจำนวนแรงงานปลูกสตรอว์เบอร์รี รวมทั้งส่งเสริมและสนับสนุนการเข้าร่วมเป็นสมาชิกกลุ่ม/สหกรณ์ของเกษตรกร และพัฒนากลุ่มให้มีความเข้มแข็งอย่างต่อเนื่อง

3. ข้อเสนอแนะต่อหน่วยงานในการบูรณาการในพื้นที่

หน่วยงานส่งเสริมการเกษตร ควรบูรณาการกับหน่วยงานในพื้นที่ โดยกำหนดแผนงานหรือโครงการส่งเสริมและพัฒนาการปลูกสตรอว์เบอร์รีที่มีความเหมาะสมและสอดคล้องกับความต้องการของเกษตรกร โดยการสนับสนุนอย่างต่อเนื่องและจริงจังให้เกษตรกรได้มีการปฏิบัติในการจัดการปลูกสตรอว์เบอร์รีตามข้อกำหนดทางวิชาการ และสร้างแรงจูงใจให้แก่เกษตรกรด้านราคาจำหน่ายผลผลิตที่ได้รับการรับรองมาตรฐานการผลิตที่สูงกว่าราคาผลผลิตทั่วไป เพื่อให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น

เอกสารอ้างอิง

Ağir, H.B., G. Saner and H. Adanacioğlu. 2015. Risk sources encountered by farmers in the open field production of strawberry and risk management strategies: a case of Menemen-Emiralem district of Izmir. Journal of Agricultural Sciences 21: 13-25.

Arikunto, S. 2013. Dasar-Dasar Evaluasi Pendidikan. 2nd ed. Bumi Aksara, Jakarta. 344 p.

Bhrammanachote, W. 2018. The study of an implementation of strawberry farmers to strengthen the community: a case study of

Pong Yaeng Nok, Maerim district, Chiang Mai province. Research report. Faculty of Management Sciences, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai. 67 p. (in Thai)

Bordeerat, W. 2000. PDCA Cycle to Success. Prachachon Co., Ltd., Bangkok. 18 p. (in Thai)

Chiang Mai Provincial Agricultural Extension Office. 2017. Economic fruit planting area in 2017. Chiang Mai Provincial Agricultural Extension Office, Chiang Mai. 22 p. (in Thai)

Cronbach, L. J. 1951. Coefficient alpha and the internal structure of tests. Psychometrika. 16(3): 297-334.

Ercan, I., B. Yazici, G. Ocakoglu, D. Sigirli and I. Kan. 2007. Review of reliability and factors affecting the reliability. Academic document. Uludag University, Bursa. 22 p.

Romero-Gámez, M. and E.M., Suárez-Rey. 2020. Environmental footprint of cultivating strawberry in Spain. The International Journal of Life Cycle Assessment 25(4): 719-732.

Maitrawattana, S. 2014. Strawberry due to the Royal Initiative. The Crown Property Bureau, Bangkok. 186 p. (in Thai)

National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. 2020. Seminar project to brainstorm on the draft agricultural standards on strawberry. Project document. National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards, Bangkok. 4 p. (in Thai)

Panjaruang, S., B. Keowan and S.K. Sanserm. 2014. Strawberry production adhering to good agricultural practice by farmers in Samoeng district of Chiang Mai province. pp. 1-11. *In*: Proceedings of 5th STOU Graduate Research Conference, Sukhothai Thammathirat Open University, Nonthaburi. (in Thai)

Pipattanawong, N., H. Akagi, W. Tacha, B. Thongyeun and S. Tiwong. 2011. Strawberry Pharachatan 80 varieties. Kasetsart Extension Journal 56(1): 22-28. (in Thai)

Office of the National Economic and Social Development Council. 2021. Sustainable Development Goals. (Online). Available: https://sdgs.nesdc.go.th/about-sdgs (May 28, 2021). (in Thai)

Saetiew, P., P. Nilvises and B. Keowan. 2013. Application of good agricultural practice in melinjo production of farmers in Raj Good Sub-district, Muang district, Ranong province. pp. 2861-2869. *In*: Proceedings of 10th National Kasetsart University Kamphaeng Saen Conference, Kasetsart University, Nakhon Pathom province. (in Thai)

Supamala, S. 2006. Farmers needs on strawberry production technology at Tambon Borkeaw, Amphoe Samoeng, Changwat Chiang Mai. M.S. Thesis. Kasetsart University, Bangkok. 113 p. (in Thai)

Wichachoo, P. 2013. Safe Strawberry. Kasikorn Newspaper 86(2): 44-51. (in Thai)

Yamane, T. 1973. Statistics: An Introductory Analysis. 3rd ed. Harper and Row, New York. 1130 p.

การคัดเลือกแอคติโนแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าว ที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

Screening of Actinobacteria from Coconut Plantation Soils with Plant Growth Promotion Properties

รัชนี มิ่งมา[1*] และ กรรณิการ์ ดวงมาลย์[2]

Ratchanee Mingma[1] and Kannika Duangmal[2]

[1]โครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

[1]Department of Microbiology, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2]Department of Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

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

(Received: 18 March 2021; Accepted: 25 May 2021)

Abstract: Coconut is an important economic crop in Thailand. In addition to the soil organic matter, microorganisms living in soil also play an important role in plant growth promotion by enhancing mineral absorption and controlling plant - pathogenic microorganisms. The aims of this study were to isolate actinobacteria from aromatic (Nam - Hom) coconut plantation soil and investigated their plant growth promotion properties. The results showed that a total of 38 actinobacteria were obtained from the coconut plantation soil of Pran Buri, Prachuap Khiri Khan (20 isolates) and Bang Khonthi, Samut Songkhram (18 isolates). All isolates were screened for plant growth promotion properties. The results revealed that 10 isolates were found to solubilize phosphate, 25 and 17 isolates showed siderophore and indole acetic acid production, respectively. Furthermore, actinobacteria 18 and 19 isolates could produce enzyme degrade cellulose and chitin on tested - medium, respectively. Isolates R17 - 116, R17 - 210 and R17 - 208 showed high potentials of plant growth promotion features. They could convert insoluble phosphorus into soluble forms that can easily be assimilated by plants. Furthermore, they could produce siderophore which is an iron - bound substance capturing iron from soil and could produce indole acetic acid, plant hormone of auxin class. These 3 isolates will be selected for further study and for application in agriculture.

Keywords: Actinobacteria, plant growth promotion, coconut plantation soil

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: มะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ดินที่ใช้ปลูกนอกจากจะต้องมีอินทรียวัตถุที่สมบูรณ์แล้ว จุลินทรีย์ในดินยังมีบทบาทสำคัญที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ และป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกแอคติโนแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าว และศึกษาคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ผลการทดลองพบว่าสามารถแยกแอคติโนแบคทีเรียได้ทั้งสิ้น 38 ไอโซเลต จากดินสวนมะพร้าวน้ำหอม อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (20 ไอโซเลต) และอำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม (18 ไอโซเลต) เมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช พบว่า มี 10 ไอโซเลต สามารถละลายฟอสเฟตได้ 25 และ 17 ไอโซเลต สามารถสร้างไซเดอร์โรฟอร์และผลิตกรดอินโดลอะซิติกได้ ตามลำดับ นอกจากนี้ มี 18 และ 19 ไอโซเลต สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสและไคตินบนอาหารทดสอบได้ ตามลำดับ โดยไอโซเลต R17-116, R17-210 และ R17-208 มีคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชได้ดีที่สุด สามารถเปลี่ยนรูปฟอสเฟตจากรูปที่ไม่ละลายน้ำไปอยู่ในรูปที่ละลายน้ำ ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้ง่าย นอกจากนี้ยังสามารถสร้างไซเดอร์โรฟอร์ซึ่งเป็นสารที่ช่วยดักจับธาตุเหล็กในดิน และสามารถสร้างกรดอินโดลอะซิติกซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน แอคติโนแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต จะถูกคัดเลือกเพื่อนำมาศึกษาต่อและนำไปใช้ประโยชน์ด้านการเกษตรต่อไป

คำสำคัญ: แอคติโนแบคทีเรีย การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดินสวนมะพร้าว

คำนำ

แอคติโนแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีปริมาณเบสกวานีนและไซโทซีนสูง มีการเจริญโดยการสร้างเส้นใย (hyphae) คล้ายเชื้อรา แอคติโนแบคทีเรียพบได้ทั่วไปในดิน มีบทบาทเป็นผู้ย่อยสลายอินทรียวัตถุ และเป็นที่รู้จักกันดีว่าสามารถผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยมีปริมาณคิดเป็น 65 - 70 % ของสารเมแทบอไลต์ทั้งหมดที่ผลิตจากจุลินทรีย์ (Bérdy, 2005) สารเมแทบอไลต์ดังกล่าว ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งทางการแพทย์ ทางการเกษตรและทางอุตสาหกรรม เช่น ใช้ผลิตยาปฏิชีวนะ ผลิตสารต้านมะเร็ง สารกดภูมิคุ้มกัน สารต้านจุลินทรีย์ ผลิตเอนไซม์ (Salwan and Sharma, 2020) เป็นต้น อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการผลิตเอนไซม์และกรดอินทรีย์บางชนิดที่ช่วยเปลี่ยนรูปแร่ธาตุในดินให้อยู่ในรูปที่พืชดูดซึมไปใช้ได้ แอคติโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) นำมาใช้เป็นป้องกันและควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคพืชได้ (Olanrewaju and Babalola, 2019)

มะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยเฉพาะมะพร้าวน้ำหอมซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดสูงและมีแนวโน้มในการส่งออกเพิ่มขึ้น จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม ราชบุรี และนครปฐม ถือว่าเป็นแหล่งผลิตมะพร้าวน้ำหอมที่สำคัญของไทย การปลูกมะพร้าวนิยมทำแปลงปลูก 2 แบบ คือแบบยกร่อง (พื้นที่ลุ่ม) และแบบพื้นราบ (พื้นที่ดอน) ดินที่ใช้ปลูกมีปริมาณอินทร์วัตถุและธาตุอาหารที่เหมาะสม จุลินทรีย์ในดินมีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนธาตุอาหารที่พืชดูดไปใช้ไม่ได้ให้มาอยู่ในรูปที่พืชสามารถดูดซึมไปเป็นอาหารได้ รวมถึงย่อยสลายสารอินทรีย์เป็นสารอนินทรีย์ซึ่งเป็นสารอาหารให้แก่พืชและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ตัวอย่างเช่น *Azospirillum brasilense*, *Bacillus* spp., *Beijerinckia indica*, *Pseudomonas* spp., *Azoarcus*, *Arthrobacter* เป็นต้น ซึ่งแยกได้จากดินรอบรากมะพร้าว มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ละลายฟอสฟอรัสและแร่ธาตุต่าง ๆ ในดินให้เป็นประโยชน์ต่อพืช (Gupta *et al*., 2016) การศึกษาแอคติโนแบคทีเรียในดินสวนมะพร้าวยังมีไม่มากนัก การค้นหาแอคติโนแบคทีเรียจากแหล่งที่ยังไม่เคยมีการศึกษาอาจนำไปสู่การค้นพบจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติดีและเป็นประโยชน์ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและคัดเลือกแอคติโนแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าว และนำมาทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ได้แก่ การละลายฟอสเฟต การสร้างไซเดอร์โรฟอร์ การสร้างกรดอินโดลอะซิติก และการย่อยไคติน โดยแอคติโนแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเหล่านี้จะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปทำวิจัยต่อยอดที่อาจเป็นประโยชน์ในทางการเกษตรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ดิน

เก็บตัวอย่างดินจากสวนมะพร้าว 2 พื้นที่ คือ สวนมะพร้าวน้ำหอม อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (12.381320, 99.940832) ซึ่งทำแปลงปลูกแบบพื้นราบ (Figure 1a) ดินมีลักษณะร่วนซุย สีน้ำตาลอ่อน และสวนมะพร้าวน้ำหอม อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม (13.491559, 100.015436) ซึ่งทำแปลงปลูกแบบยกร่อง (Figure 1b) ดินมีลักษณะเหนียว สีน้ำตาลเข้มถึงดำ เก็บตัวอย่างดินพื้นที่ละ 10 จุด ปาดผิวหน้าดินด้านบนออก ขุดดินที่ระดับความลึกไม่เกิน 15 เซนติเมตร นำตัวอย่างดินทั้ง 10 จุดมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นแบ่งตัวอย่างดิน 500 กรัม ส่งวิเคราะห์ดินทางกายภาพและทางเคมีที่ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. การศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในดินและการแยกแอคติโนแบคทีเรีย

นำตัวอย่างดินที่ผ่านการผึ่งแห้งในที่ร่ม เป็นเวลา 1 สัปดาห์ มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีค่าความเจือจางเท่ากับ 10^{-3} ถึง 10^{-5} ดูดสารแขวนลอยดินในแต่ละความเจือจางปริมาตร 100 ไมโครลิตร เกลี่ยลงบนจานอาหาร nutrient agar บ่มจานอาหารเป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียทั้งหมดที่เจริญบนอาหาร การแยกแอคติโนแบคทีเรีย เกลี่ยตัวอย่างดินบนผิวหน้าอาหาร starch - casein (SC) agar (Küster and Williams, 1964) ที่เติมยาปฏิชีวนะ nalidixic acid 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ ketoconazole 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 14 วัน ตรวจดูการเจริญของโคโลนีแอคติโนแบคทีเรียหลังบ่มผ่านไป 7 วัน เขี่ยโคโลนีแอคติโนแบคทีเรียมาทำให้บริสุทธิ์บนอาหาร International *Streptomyces* Project (ISP) - 2 (Shirling and Gottlieb, 1966) โดยวิธี cross streak ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ สีสปอร์ สีเส้นใยอาหาร และสีรงควัตถุ เก็บเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้บนอาหารผิวเอียง ISP - 2 ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บสปอร์และเส้นใยในสารละลาย 20 % (w/v) กลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ -20 °C สำหรับการเก็บรักษาระยะยาว

3. การศึกษาความสามารถในการละลายฟอสเฟต

เลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ISP - 2 บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะโคโลนีแอคติโนแบคทีเรีย นำมาวางบนอาหารทดสอบ

Figure 1. Coconut plantation at Pran Buri, Prachuap Khiri Khan (a) and Bang Khonthi, Samut Songkhram (b)

Pikovskaya's (PVK) medium (Pikovskaya, 1948) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ บ่มจานอาหารในที่มืด เป็นเวลา 14 วัน แอคติโนแบคทีเรียที่มีวงใสรอบโคโลนีแสดงว่าสามารถละลายฟอสเฟตได้ บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสนำมาลบกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีในหน่วยมิลลิเมตร

4. การทดสอบความสามารถในการสร้างไซเดอร์โรฟอร์

เลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ISP - 2 บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนโคโลนีแอคติโนแบคทีเรีย นำไปวางบนอาหารทดสอบ chrome azurol sulfonate (CAS) agar (Schwyn and Neilands, 1987) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 5 วัน แอคติโนแบคทีเรียที่สร้างไซเดอร์โรฟอร์ได้จะเกิดโซนสีส้มรอบโคโลนี ตรวจผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนส้มในหน่วยมิลลิเมตร

5. การสร้างกรดอินโดลอะซิติก

เลี้ยงแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง ISP - 2 เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะโคโลนีแอคติโนแบคทีเรียจำนวน 2 ชิ้นใส่หลอดทดลองที่มีอาหารเหลว glucose yeast extract (GYE) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่เติมทริปโตเฟน 0.2 % (w/v) บ่มแบบเขย่าในที่มืด ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงเซลล์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Salkowski's reagent (Gordon and Weber, 1951) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ในที่มืดเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงว่ามีการสร้างกรดอินโดลอะซิติก นำตัวอย่างสารละลายที่เปลี่ยนเป็นสีชมพูไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดปริมาณการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) คำนวณความเข้มข้นของกรดอินโดลอะซิติก โดยเปรียบเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานของกรดอินโดลอะซิติก ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

6. การทดสอบความสามารถในการย่อยไคติน

ทดสอบการย่อยไคตินโดยเลี้ยงแอคติโนแบคทีเรีย บนอาหาร chitin agar (Sato *et al*., 2009) โดยใช้เทคนิคการจุดเชื้อ (point inoculation) บ่มจานอาหารทดสอบที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 14 วัน ตรวจดูการเกิดโซนใสรอบโคโลนี แสดงว่าสามารถย่อยไคตินได้ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส และคำนวณค่า hydrolysis capacity (HC) ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี

$$\text{Hydrolysis capacity (HC)} = \frac{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส}}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี}}$$

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์ดิน

ผลการวิเคราะห์ดินทางกายภาพและทางเคมี พบว่า ดินจากสวนมะพร้าว อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งทำแปลงปลูกแบบพื้นราบ มีลักษณะเป็นดินเหนียวปนทรายแป้ง ค่า pH เป็นด่างปานกลาง (8.28) มีปริมาณอินทรียวัตถุในระดับปานกลาง และมีปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในปริมาณสูง - สูงมาก ค่าการนำไฟฟ้าของดิน (EC) เท่ากับ 4.76 ซึ่งจัดอยู่ในระดับเค็มปานกลาง ในขณะที่ดินสวนมะพร้าว อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม ซึ่งเป็นแปลงปลูกแบบยกร่อง มีน้ำตลอดปี ดินเป็นดินเหนียว มีค่า pH เป็นด่างเล็กน้อย (7.49) มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินสูงกว่าดินจากสวนมะพร้าว อำเภอปราณบุรี รวมทั้งมีปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมในปริมาณสูง - สูงมาก ค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 6.11 ซึ่งจัดอยู่ในระดับเค็มปานกลาง (Table 1) ค่าการนำไฟฟ้าของดินเป็นค่าที่เกี่ยวข้องกับปริมาณเกลือที่ละลายได้ (soluble salts) ในดิน เช่น แคลเซียม (Ca^{2+}) โซเดียม (Na^{+}) และแมกนีเซียม (Mg^{2+})

ดินจากแปลงปลูกแบบยกร่อง ซึ่งมีน้ำขังท้องร่องตลอดปี น้ำมีส่วนช่วยในการละลายและการแพร่กระจายของเกลือ (Yan *et al*., 2015) จึงมีผลทำให้ดินมีค่าความเข้มข้นของเกลือที่ละลายได้สูงกว่าดินจากแปลงปลูกแบบพื้นราบ

2. **การศึกษาปริมาณแบคทีเรียและการแยกแอคติโนแบคทีเรีย**

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในตัวอย่างดินสวนมะพร้าว อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และ อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม พบว่า มีจำนวนแบคทีเรียเท่ากับ 5.4×10^6 CFUต่อกรัม และ 7.7×10^6 CFUต่อกรัม ตามลำดับ จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าจำนวนแบคทีเรียที่พบในดินส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในช่วง 2.44×10^6 ถึง 2.14×10^7 CFUต่อกรัม (Zhao *et al*., 2018) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียในดินทั้ง 2 แหล่ง พบว่า ดินจากสวนมะพร้าวที่ทำแปลงปลูกแบบยกร่องแม้มีปริมาณอินทรียวัตถุสูงกว่าแต่พบว่า มีจำนวนแบคทีเรียน้อยกว่า เนื่องจากดินจากแปลงปลูกแบบยกร่องมีลักษณะเป็นดินเหนียว (มีอนุภาคดินเหนียว 60.16 % และอนุภาคทรายแป้ง 26.99 %) มีน้ำท่วมขังในท้องร่องตลอดปี ทำให้มีปริมาณออกซิเจนในดินต่ำและส่งผลต่อปริมาณแบคทีเรียในดิน (Eccles *et al*., 1990) ออกซิเจนจำเป็นต่อกระบวนการหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรีย ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเลคตรอนตัวสุดท้ายของกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน นอกจากนี้ ค่าการนำไฟฟ้าของดิน (EC) ยังมีผลต่อจำนวนแบคทีเรียในดินเช่นเดียวกัน จากงานวิจัยนี้พบว่าดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ (ดินจากแปลงปลูกแบบพื้นราบ) พบจำนวนแบคทีเรียสูงกว่าดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าสูง (ดินจากแปลงปลูกแบบยกร่อง) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ghorbani-Nasrabadi *et al*. (2013) พบว่า ในดินทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ซึ่งมีค่าการนำไฟฟ้าของดิน (17.5 dS/m) สูงกว่าดินบริเวณที่มีฝนตกชุก (7.1 dS/m) ดินเพาะปลูก (1.5 dS/m) และดินป่า (1.2 dS/m) พบจำนวนแบคทีเรียในดินน้อยกว่า (เท่ากับ 0.7, 1.58, 2.87 และ 2.08×10^6 CFUต่อกรัม ตามลำดับ) เมื่อค่าการนำไฟฟ้าของดินสูงขึ้นจำนวนแบคทีเรียในดินจะลดลง โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียที่ไวต่อความเข้มข้นเกลือสูง ดินที่มีปริมาณเกลือที่ละลายได้สูง จะทำให้ค่าแรงดันออสโมซิส (osmotic pressure) ของน้ำในดินเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ศักย์ของน้ำในดิน (water potential) ลดลง มีผลทำให้น้ำในเซลล์ถูกดึงออกและทำให้เซลล์แบคทีเรียตาย (Yan *et al*., 2015)

Table 1. Analysis of the physical and chemical properties of soil

Analysis	Sample*	
	Soil A	Soil B
Texture	Silty Clay	Clay
(Sand; %)	12.41	12.85
(Silt; %)	46.37	26.99
(Clay; %)	41.22	60.16
pH (Soil:H_2O (1:1))	8.28	7.49
Electrical conductivity (dS/m)	4.76	6.11
Organic matter (%)	2.21	5.09
Available phosphorus (mg/kg)	555.99	311.63
Exchangeable potassium (mg/kg)	496.82	884.88
Exchangeable calcium (mg/kg)	2,220.36	4,118.44
Exchangeable magnesium (mg/kg)	1,032.83	1,521.91

* Soil A: collected from Pran Buri, Prachuap Khiri Khan; Soil B: collected from Bang Khonthi, Samut Songkhram

ตัวอย่างดินที่ความเจือจาง 10^{-4} เป็นความเจือจางที่เหมาะสมในการแยกและนับจำนวนแอคติโนแบคทีเรียในตัวอย่างดินทั้งสอง พบว่า แอคติโนแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร SC โคโลนีมีลักษณะเล็ก แข็งและฝังแน่นในเนื้อวุ้น โคโลนีส่วนใหญ่มีสีน้ำตาล สีส้ม และสีครีม พบการสร้างสปอร์สีขาวและสีเทาที่มีลักษณะคล้ายผงแป้งบนผิวหน้าโคโลนี (Figure 2) ทำการแยกแอคติโนแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกันได้ทั้งสิ้น 38 ไอโซเลต จากดินสวนมะพร้าว อำเภอปราณบุรี จำนวน 20 ไอโซเลต ให้รหัสเชื้อ RM17 - 101 ถึง RM17 - 121 และจากดินสวนมะพร้าว อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 18 ไอโซเลต ให้รหัสเชื้อ RM17 - 201 ถึง RM17 - 222 จากแอคติโนแบคทีเรีย 38 ไอโซเลต สามารถจัดกลุ่มตามสีสปอร์บนอาหาร ISP - 2 ได้ทั้งสิ้น 5 กลุ่มส่วนใหญ่สร้างสปอร์สีขาว (36.8 %) รองลงมาคือสีเทา (26.3 %) สีเส้นใยอาหารส่วนใหญ่เป็นสีเหลือง - น้ำตาล (73.7 %) มีเพียง 11 ไอโซเลต (28.9 %) สร้างรงควัตถุสีเหลือง (Table 2)

3. การศึกษาคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

3.1 **ความสามารถในการละลายฟอสเฟต**

ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหาร PVK ที่มีอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปของแคลเซียม-ฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$) ที่ไม่ละลายน้ำ พบว่า จากแอคติโนแบคทีเรียทั้งหมด 38 ไอโซเลตที่นำมาทดสอบ มีเพียง 9 ไอโซเลต (23.6 %) มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตเปลี่ยนรูปอนินทรีย์ฟอสเฟตซึ่งเป็นรูปที่ไม่ละลายน้ำ ให้อยู่ในรูปไดและโมโนเบสิกฟอสเฟต (HPO_4^{2-}และ $H_2PO_4^-$) ที่พืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ สังเกตได้จากการการเกิดวงใสรอบโคโลนี (Figure 3a) จากการทดลองพบว่าไอโซเลต RM17-220 ละลายฟอสเฟต ได้ดีที่สุด มีขนาดความกว้างวงใสเท่ากับ 11.5 มิลลิเมตร รองลงมาคือไอโซเลต R17 - 208 (8.5 มิลลิเมตร) และ R17 - 116 (7.5 มิลลิเมตร) ตามลำดับ ทั้งนี้ ผลการละลายฟอสเฟตของแอคติโนแบคทีเรียที่แยกได้ถือว่าอยู่ในระดับไม่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Chaiharn *et al.* (2018) ได้ทำการแยกแบคทีเรียและแอคติโนแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตจำนวน 320 ไอโซเลทจากดินรอบรากพืชพบว่า มีความกว้างของวงใสบนอาหาร PVK 13.3 - 63 มิลลิเมตร แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตมีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินให้สูงขึ้น ดินทั่วไปมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในสารละลายดินอยู่ในช่วง 0.031 - 3.1

Figure 2. Actinobacterial colonies growing on starch casein agar, supplemented with ketoconazole (100 µg/ml) and nalidixic acid (25 µg/ml) and incubated at 30 °C for 14 days

Table 2. Color grouping of actinobacteria isolated from coconut plantation soils on ISP - 2 medium at 30 °C for 14 days

Color of spore	Color of substrate mycelium	Diffusible pigments	Number of isolates	Isolates
Gray	Yellowish brown	ND	4	R17-101, R17-108, R17-116, R17-207
	Yellowish brown	Yellow	3	R17-110, R17-201, R17-221
	Yellow	Yellow	1	R17-220
	Yellow	ND	2	R17-118, R17-217
Yellow	Yellow	ND	5	R17-109, R17-119, R17-203, R17-210, R17-222
	Yellow	Yellow	1	R17-203
White	Yellow	ND	6	R17-102, R17-105, R17-114, R17-121, R17-202, R17-209
	Yellow	Yellow	5	R17-205, R17-208, R17-211, R17-215, R17-216
	Blackish violet	ND	1	R17-111
	Brown	ND	1	R17-218
	Cream	ND	1	R17-117
Orange	Orange	ND	4	R17-103, R17-120, R17-206, R17-213
Brown	Brown	Yellow	1	R17-113
	Brown	ND	2	R17-104, R17-107
	Yellow	ND	1	R17-106

* ND : Not detectable

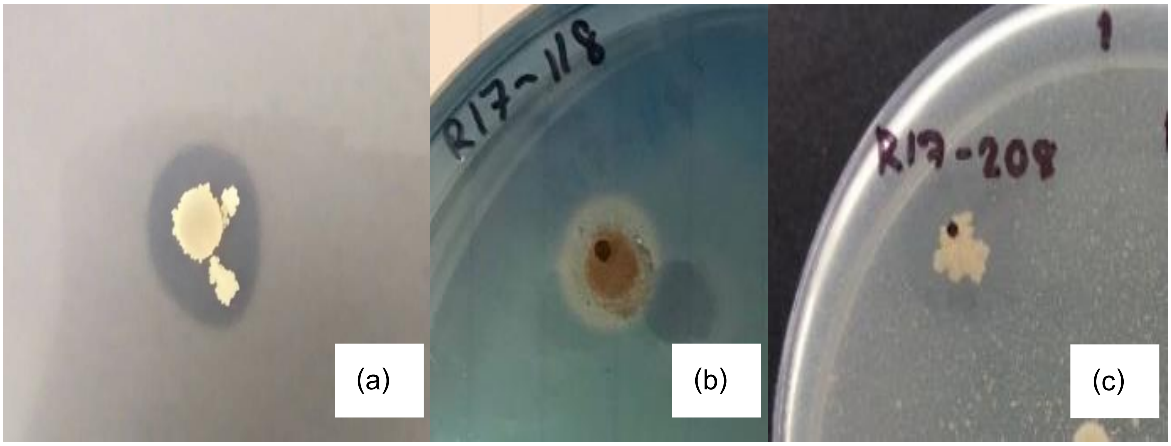

Figure 3. Phosphate solubilizing (isolate R17 - 118) (a), siderophore producing (b) and chitin degradation (c) of actinobacteria

มิลลิกรัมต่อลิตร (Syers *et al*., 2008) จากการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินทั้ง 2 แหล่ง พบว่า มีค่าอยู่ในระดับสูง - สูงมาก (555.99 และ 311.63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ซึ่งกิจกรรมการละลายฟอสเฟตยังสามารถพบได้ในแบคทีเรียกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่แอคติโนแบคทีเรีย โดยเฉพาะสกุล *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azotobacter* และ *Rhizobium* (Alori *et al*., 2017)

กลไกในการเปลี่ยนรูปฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์กับพืช เกิดจากจุลินทรีย์สร้างกรดอินทรีย์ (organic acid) ชนิดต่าง ๆ เช่น กรดออกซาลิก (oxalic acid) กรดมาลิก (malic acid) กรดกลูโคนิก (gluconic acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดซัคซินิก (succinic acid) และเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) (Vyas and Gulati, 2009) ละลายเกลือฟอสเฟต เป็นการเพิ่มฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และพืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ดียิ่งขึ้น (Alori *et al*., 2017) ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช หากพืชขาดฟอสฟอรัสจะทำให้แคระแกร็น และการเจริญหยุดชะงัก แอคติโนแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตสามารถนำไปใช้ด้านการเกษตร มีรายงานว่าช่วยเพิ่มชีวมวลต้นข้าวสาลีและเพิ่มการดูดซึมธาตุอาหาร (Jog *et al*., 2014) และแก้ปัญหาดินขาดธาตุฟอสฟอรัสได้ (Sharma *et al*., 2013)

3.2 การสร้างไซเดอร์โรฟอร์

จากการทดสอบการสร้างไซเดอร์โรฟอร์บนอาหาร CAS พบว่า มีแอคติโนแบคทีเรียจำนวน 25 ไอโซเลต (65.8 %) เกิดโซนสีส้มรอบโคโลนี แสดงถึงความสามารถในการสร้างไซเดอร์โรฟอร์ (Figure 3b) เมื่อวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซน พบว่า สร้างปริมาณไม่มาก โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์โซนไม่เกิน 10 มิลลิเมตร เท่านั้น ไอโซเลตที่สร้างไซเดอร์ฟอร์มากที่สุด คือ R17-118 และ R17-211 มีขนาดโซนกว้างเท่ากัน 10 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Himaman *et al*. (2016) แยกแอคติโนแบคทีเรียจำนวน 477 ไอโซเลต จากตัวอย่างดิน พบว่ามีจำนวน 464 ไอโซเลต สามารถสร้างไซเดอร์โรฟอร์ได้ โดยในจำนวนนี้ 33 % (153 ไอโซเลต) เกิดโซนสีส้มรอบโคโลนีมีขนาดความกว้างมากกว่า 20 มิลลิเมตร

ไซเดอร์โรฟอร์เป็นสารที่แบคทีเรียสร้างขึ้นเพื่อดักจับธาตุเหล็กในดินก่อนจะนำเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต โดยธาตุเหล็กทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม นอกจากนี้ ไซเดอร์โรฟอร์มีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม ทางตรงคือพืชสามารถนำธาตุเหล็กที่จับอยู่กับไซเดอร์โรฟอร์เข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ในการเจริญ ส่วนทางอ้อมคือเมื่อแบคทีเรียสร้างไซเดอร์โรฟอร์จับธาตุเหล็กในดิน ทำให้ปริมาณธาตุเหล็กในดินลดน้อยลง จึงทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคพืชที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงขาดธาตุเหล็ก ทำให้ไม่สามารถเจริญและก่อโรคได้ (Hopkinson and Morel, 2009)

3.3 การสร้างกรดอินโดลอะซิติก

เมื่อนำแอคติโนแบคทีเรียทั้ง 38 ไอโซเลตมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซิติก พบว่า มี 17 ไอโซเลต สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู (ให้ผลบวก) แสดงว่าสามารถสร้างกรดอินโดล-อะซิติกได้ เมื่อนำหลอดที่ให้ผลบวกไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟของสารละลายมาตรฐาน IAA ที่ความเข้มข้น 0.5 - 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีปริมาณกรดอินโดลอะซิติกอยู่ในช่วง 1.34 - 10.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยไอโซเลต R17 - 109 มีความสามารถในการสร้าง IAA สูงที่สุด (10.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือ R17-207 (8.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ R17-203 (7.65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ

ทั้งนี้เมื่อเทียบกับผลงานวิจัยอื่น พบว่าปริมาณ IAA ที่สร้างถือว่าอยู่ในปริมาณน้อย เช่นงานวิจัยของ Sameera *et al*. (2018) ทดสอบการสร้าง IAA ของแอคติโนแบคทีเรียที่แยกจากดินปลูกต้นกาแฟ พบว่าจากจำนวน 32 ไอโซเลต มี 27 ไอโซเลต ผลิต IAA ปริมาณ 17.36 - 109.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แอคติโนแบคทีเรียที่ผลิต IAA สามารถใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช โดยเกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ด

และการเจริญของราก Goudjal *et al*. (2013) รายงานว่า IAA ที่สกัดได้จาก *Streptomyces* ช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดมะเขือเทศและการยืดยาวของราก

3.4 การย่อยไคติน

นำแอคติโนแบคทีเรียทั้ง 38 ไอโซเลต มาทดสอบความสามารถในการย่อยไคตินบนอาหารแข็ง chitin agar จะพบว่ามีจำนวน 19 ไอโซเลต (50 %) เกิดโซนใสรอบโคโลนี (Figure 3c) แสดงว่าสามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) ย่อยไคตินบนอาหารทดสอบได้ ตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสและเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี พบว่า ไอโซเลต R17 - 208 ย่อยไคตินได้ดีที่สุด มีอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีสูงที่สุด เท่ากับ 1.90 รองลงมาคือไอโซเลต R17 - 217 และ R17 - 211 (1.78 และ 1.72 ตามลำดับ) ไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่พบมากในธรรมชาติเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส โดยพบเป็นองค์ประกอบหลักในโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ในเปลือกหอย กุ้ง ปู รวมถึงเปลือกของแมลง รวมถึงเป็นโครงสร้างหลักของผนังเซลล์เชื้อรา พบว่า แอคติโนแบคทีเรียที่สามารถย่อยไคตินได้ถูกนำมาใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพ ป้องกันและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ยกตัวอย่างเช่น *Streptomyces* AC4 และ AC7 ที่แยกจากปุ๋ยหมักมูลม้า มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ chitinase และ chitosanase และสามารถยับยั้ง *Rhizoctonia solani* และ *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นราก่อโรคพืชได้ (González-Franco *et al*., 2017)

จากการศึกษาคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช พบว่า มีแอคติโนแบคทีเรียเพียงไอโซเลตเดียว คือ R17-116 มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชครบทั้ง 4 ชนิดที่ทดสอบ คือการละลายฟอสเฟต การสร้างไซเดอร์โรฟอร์และกรดอินโดอะซิติก และการย่อยไคติน มี 6 ไอโซเลตมีคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช 3 ชนิดที่ทดสอบ คือ ไอโซเลต R17 - 208 และ R17 - 211 สามารถละลายฟอสเฟต สร้างไซเดอร์โรฟอร์และย่อยไคตินได้ แต่ไม่ผลิตกรดอินโดลอะซิติก ไอโซเลต R17-112, R17-207, R17-217 และ R17-221 สามารถ ผลิตไซเดอร์โรฟอร์ กรดอินโดลอะซิติก และย่อยสลายไคติน แต่ไม่ละลายฟอสเฟต (Table 3) แอคติโนแบคทีเรียนอกเหนือจากนี้ (78.9 %) มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพียง 2 ชนิดที่ทดสอบหรือน้อยกว่า และมีไอโซเลต R17-121 ไม่แสดงคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ทดสอบ แอคติโนแบคทีเรียทั้ง 7 ไอโซเลตที่มีคุณสมบัติดีเหล่านี้ (Table 3) จะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและระบุชนิดของเชื้อในระดับสกุลต่อไป

Table 3. Characteristics of selected actinomycete active isolates based on plant growth promotion traits

Isolates	Diameter of zone around colony (mm.)		IAA production (µg / ml))	Chitin degradation (HC)*
	phosphate solubilization	siderophore production		
R17 - 112	-	7.0	3.27	1.2
R17 - 116	7.5	8.0	3.20	1.5
R17 - 207	-	7.0	1.22	1.4
R17 - 208	8.5	7.0	-	2.5
R17 - 211	5.5	10.0	-	1.7
R17 - 217	-	7.0	1.04	1.8
R17 - 221	-	7.0	1.47	1.4

* HC: Hydrolysis capacity

สรุป

ดินสวนมะพร้าวที่ทำแปลงปลูกแบบยกร่อง (อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม) เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีปริมาณอินทรียวัตถุในดิน รวมถึงมีธาตุอาหารต่าง ๆ เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม สูงกว่าดินสวนมะพร้าวที่ทำแปลงปลูกแบบพื้นราบ (อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์) จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในดินทั้ง 2 แหล่ง พบว่าดินจากแปลงปลูกแบบยกร่องมีจำนวนแบคทีเรียน้อยกว่า เนื่องจากดินจากแปลงปลูกแบบยกร่องมีน้ำท่วมขังในท้องร่องตลอดปี ดินมีลักษณะเป็นดินเหนียว ทำให้มีปริมาณออกซิเจนในดินจำกัด รวมทั้งมีค่าการนำไฟฟ้า (EC) หรือปริมาณเกลือที่ละลายได้สูงกว่า จึงส่งผลให้มีจำนวนแบคทีเรียน้อยในดินน้อยกว่าดินจากแปลงปลูกแบบพื้นราบ

แยกแอคติโนแบคทีเรียจากดินสวนมะพร้าว อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ได้จำนวน 20 ไอโซเลต และดินสวนมะพร้าว อำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงคราม จำนวน 18 ไอโซเลต นำแอคติโนแบคทีเรียทั้ง 38 ไอโซเลต มาทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช พบว่า แอคติโนแบคทีเรียทุกไอโซเลต ยกเว้นไอโซเลต R17 - 121 แสดงคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ความสามารถในการละลายฟอสเฟต (10 ไอโซเลต) เปลี่ยนรูปของแคลเซียมฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำและเป็นประโยชน์กับพืช การผลิตกรดอินโดลอะซิติก (17 ไอโซเลต) ซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชที่เกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ดและการเจริญของราก การสร้างไซเดอร์โรฟอร์ (25 ไอโซเลต) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยจับธาตุเหล็ก ทำให้พืชได้รับธาตุเหล็กเพียงพอและช่วยป้องกันพืชจากจุลินทรีย์ก่อโรค และการย่อยไคติน (19 ไอโซเลต) ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพในการป้องกันและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

แอคติโนแบคทีเรียจำนวน 7 ไอโซเลต คือ R17 - 112, R17 - 116, R17 - 207, R17 - 208, R17 - 211, R17 - 217 และ R17 - 221 ซึ่งมีคุณสมบัติที่ดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช จะถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาเพิ่มเติมและระบุชนิดของเชื้อในระดับสกุลต่อไป ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าดินสวนมะพร้าวเป็นแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจในการแยกแอคติโนแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าของสวนมะพร้าวน้ำหอม คุณนภวรรณ มิ่งมา และคุณสง่า เฟื่องรอด ที่ให้ความอนุเคราะห์เข้าไปเก็บตัวอย่างดินสำหรับใช้ในงานวิจัย งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัย ประเภทโครงการสนับสนุนวิจัยเพื่อพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มก. ประจำปี 2560 รหัสโครงการวิจัย ร-ม 25.60 สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2562

เอกสารอ้างอิง

Alori, E.T., B.R. Glick and O.O. Babalola. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. Frontiers in Microbiology 8: 971, doi: 10.3389/fmicb.2017.00971.

Bérdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. Journal of Antibiotics 58(1): 1-26.

Chaiharn, M., W. Pathom-aree, N. Sujada and S. Lumyong. 2018. Characterization of phosphate solubilizing streptomyces as a biofertilizer. Chiang Mai Journal of Science 45(2): 701-716.

Eccles, W.J., C. Matthew and A.C.P. Chu. 1990. Response of Matua prairie grass and Ellett

perennial ryegrass to excess soil moisture in sand, silt and clay soils. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 51: 127-130.

González-Franco, A.C., L. Robles-Hernández and J.L. Strap. 2017. Chitinase, chitosanase, and antifungal activities from thermophilic streptomycetes isolated from compost. International Journal of Experimental Botany 86: 14-27.

Ghorbani-Nasrabadi, R., R. Greiner, H.A. Alikhani, J. Hamedi and B. Yakhchali. 2013. Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13(1): 223-236.

Gordon, S.A. and R.P. Weber. 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. Plant Physiology 26(1): 192-195.

Goudjal, Y., O. Toumatia, N. Sabaou, M. Barakate, F. Mathieu and A. Zitouni. 2013. Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. World Journal of Microbiology and Biotechnology 29(10): 1821-1829.

Gupta, A., M. Gopal and G.V. Thomas. 2016. Beneficial microorganisms in coconut based cropping/farming systems. pp. 9. *In*: Book of Abstracts of National Seminar on Plantation Based Cropping System for Improving Livelihood Security. ICAR-CPCRI, Kerala, India.

Himaman, W., A. Thamchaipenet, W. Pathom-aree and K. Duangmal. 2016. Actinomycetes from *Eucalyptus* and their biological activities for controlling *Eucalyptus* leaf and shoot blight. Microbiological Research 188-189: 42-52.

Hopkinson, B.M. and F.M.M. Morel. 2009. The role of siderophores in iron acquisition by photosynthetic marine microorganisms. Biometals 22: 659-669.

Jog, R., M. Pandya, G. Nareshkumar and S. Rajkumar. 2014. Mechanism of phosphate solubilization and antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from wheat roots and rhizosphere and their application in improving plant growth. Microbiology 160: 778-788.

Küster, E. and S.T. Williams. 1964. Selection of media for isolation of streptomycetes. Nature 202: 928-929.

Olanrewaju, O.S. and O.O. Babalola. 2019. *Streptomyces*: implications and interactions in plant growth promotion. Applied Microbiology and Biotechnology 103: 1179-1188.

Pikovskaya, R.I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya 17: 362-370.

Salwan, R. and V. Sharma. 2020. Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria. Microbiological Research 231: 126374, doi: 10.1016/j.micres.2019.126374.

Sameera, B., H. Prakash and M.S. Nalini. 2018. Indole acetic acid production by the actinomycetes of coffee plantation soils of western ghats. International Journal of Current Research 10(10): 74482-74487.

Sato, K., Y. Kato, G. Taguchi, M. Nogawa, A. Yokota and M. Shimosaka. 2009. *Chitiniphilus*

shinanonensis gen. nov., sp. nov., a novel chitin-degrading bacterium belonging to *Betaproteobacteria*. The Journal of General and Applied Microbiology 55(2): 147-153.

Schwyn, B. and J.B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry 160(1): 47-56.

Sharma, S.B., R.Z. Sayyed, M.H. Trivedi and T.A. Gobi. 2013. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus. 2: 587, doi: 10.1186/2193-1801-2-587.

Shirling, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 16(3): 313-340.

Syers, J.K., A.E. Johnston and D. Curtin. 2008. Efficiency of Soil and Fertilizer Phosphorus use. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 109 p.

Vyas, P. and A. Gulati. 2009. Organic acid production *in vitro* and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent *Pseudomonas*. BMC Microbiology 9: 174, doi: 10.1186/1471-2180-9-174.

Yan, N., P. Marschner, W. Cao, C. Zuo and W. Qin. 2015. Influence of salinity and water content on soil microorganisms. International Soil and Water Conservation Research 3(4): 316-323.

Zhao, Y., C. Song, H. Dong, Y. Luo, Y. Wei, J. Gao, Q. Wu, Y. Huang, L. An and H. Sheng. 2018. Community structure and distribution of culturable bacteria in soil along an altitudinal gradient of Tianshan Mountains, China. Biotechnology and Biotechnological Equipment 32(2): 397-407.

ผลของการให้ปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนต่อคุณภาพของผลเมล่อน

Effect of Calcium - Boron Fertilizer Application on Quality of Melon Fruit

ธีรยุทธ คล้ำชื่น* นิยม บัวบาน พันทิพา ลิ้มสงวน และ จันทร์เพ็ญ ชัยมงคล

Teerayut Klumchaun*, Niyom Buaban, Pantipa Limsanguan and Chanpen Chaimongkol

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12130

Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12130, Thailand

**Corresponding author: Email: Teerayut_k@rmutt.ac.th*

(Received: 8 April 2021; Accepted: 19 July 2021)

Abstract: This study aimed to investigate the effect of calcium - boron fertilizer application on growth and yield of melon (cv. Inthanon) by spraying 0, 250, 500, 750 and 1,000 ppm of calcium - boron. The experimental design was RCBD with 5 treatments, which each treatment consisted of 3 replications (10 trees / replication). The study revealed that 750 ppm calcium - boron gave the highest average height at the second - fourth week (28.71, 76.32 and 141.44 cm) and the leaves number in the second and the third weeks (10.20 and 19.77 leaves). While, 1,000 ppm calcium - boron treatment showed the highest nodes number (25.57 nodes), however, it was not significantly different from 250 and 750 ppm. Calcium-Boron spraying at all concentrations, the yield of fresh weight, width circumference, length circumference and firmness were not significant. However, there was significantly different affected sweetness. The highest brix of melon fruit was obtained from 250 ppm calcium - boron (15.25 °Brix). The lowest of sweetest was obtained from the control (13.00 °Brix). The data of this study demonstrated that in the production of good quality melon, it should be sprayed with 250 ppm calcium - boron fertilizer. The concentration is suitable for the growth and yield of melon.

Keywords: Foliar fertilizer, yield, TSS

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของเมล่อนสายพันธุ์อินทนนท์ โดยพ่นแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 0, 250, 500, 750 และ 1,000 ppm วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก randomized complete block design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น และ 5 ตำรับการทดลอง ผลการทดลอง พบว่า การพ่นแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 750 ppm มีค่าความสูงเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 2 ถึง 4 สูงที่สุด (28.71, 76.32 และ 141.44 เซนติเมตร) และจำนวนใบเฉลี่ยสัปดาห์ที่ 2 และ 3 สูงที่สุด (10.20 และ 19.77 ใบ) การพ่นแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 1,000 ppm ส่งผลให้จำนวนข้อเฉลี่ยสูงที่สุด (25.57 ข้อ) แต่ไม่แตกต่างจากการพ่นแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 250 และ 750 ppm การพ่นแคลเซียม - โบรอนทุกความเข้มข้นไม่ทำให้น้ำหนักผลผลิต ความกว้างผล ความยาวผลและความแน่นเนื้อแตกต่างกัน แต่ส่งผลให้ความหวานของเมล่อนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการพ่นแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 250 ppm ให้ความหวานเฉลี่ยสูงที่สุด (15.25 องศาบริกซ์) ขณะที่การไม่พ่นแคลเซียม - โบรอนส่งผลให้ความหวานเฉลี่ยของผลเมล่อนต่ำที่สุด (13.00 องศาบริกซ์) ข้อมูลจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการผลิตเมล่อนคุณภาพ ควรพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 250 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและผลผลิตของเมล่อน

คำสำคัญ: ปุ๋ยทางใบ ผลผลิต ของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้

คำนำ

เมล่อน (melon) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cucumis melo* L. จัดอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae และมีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย (Khamudom, 1988) เมล่อนเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญในเชิงการค้าในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก เพราะมีกลิ่นหอมและรสชาติหวาน (Villanueva *et al.,* 2004) ผลของเมล่อนอุดมไปด้วยวิตามินเอและซี รวมทั้งเบต้า-แคโรทีน (Laur and Tian, 2011) และยังสามารถช่วยลดความเสี่ยงของโรคเบาหวาน (Naito *et al.*, 2005) มีน้ำเป็นองค์ประกอบสูงช่วยลดการกระหายน้ำ และลดอุณหภูมิในร่างกาย (Paris *et al.*, 2012) เมล่อนจึงจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่ให้ผลตอบแทนและตลาดมีแนวโน้มต้องการบริโภคสูง (Tira-umphon and Kumthong, 2001) การปลูกเมล่อนในปัจจุบันจึงเป็นที่นิยมสำหรับการเพาะปลูก ในประเทศไทยมีการขยายพื้นที่ปลูกเมล่อนออกไปหลายพื้นที่ Suphanburi Provincial Agriculture and Cooperatives Office (2017) รายงานว่าประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกเมล่อน 6,040.25 ไร่ ผลผลิตเก็บเกี่ยวได้ 9.39 ล้าน กิโลกรัม และผลผลิตเฉลี่ย 2,000 กิโลกรัมต่อไร่ แต่การเพาะปลูกเมล่อนส่วนใหญ่ประสบปัญหาหลายด้าน เช่น โรคและแมลง รวมทั้งคุณภาพของผลผลิต เช่น ความหวาน เป็นต้น ซึ่งปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของเมล่อนนั่นก็คือการจัดการธาตุอาหารที่พืชได้รับ โดยเฉพาะธาตุแคลเซียมและโบรอน เนื่องจากมีความสำคัญต่อผลผลิตและคุณภาพผลผลิต (Thongjoo *et al.*, 2016) ซึ่งแคลเซียมเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ มีผลต่อเนื้อเยื่อความแข็งแรงของผนังเซลล์ ส่งเสริมให้ผลมีความแน่นเนื้อและความกรอบมากขึ้น ในระยะการพัฒนาของผล พบว่าธาตุแคลเซียมทำหน้าที่ควบคุมการหายใจของพืช สร้างน้ำตาลและแป้ง ช่วยเร่งการเจริญเติบโตและช่วยในการดูดซึมธาตุอาหารอื่น ๆ โดยเฉพาะไนโตรเจน (Feungchan, 1995; Suksawat, 2001; Suthipradit, 1993) นอกจากนี้แคลเซียมยังเป็นธาตุอาหารพืชที่ไม้ผลมีความต้องการในปริมาณมาก โดยมีระดับความเข้มข้นในส่วนใบของพืชอยู่ระหว่าง 2.4 - 60.0 กรัมต่อกิโลกรัม (Reuter and Robinson, 1997) ระดับของแคลเซียมของส่วนเหนือดินที่ถือว่าเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของพืช คือ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ในแต่ละปีไม้ผลมีความต้องการแคลเซียมในปริมาณ 40 - 80 กิโลกรัมต่อไร่ (250 - 500 กิโลกรัม Ca ต่อเฮกแตร์) (Marschner, 1986) ขณะที่โบรอนมีหน้าที่สำคัญคือช่วยให้รากสามารถดูดซึมแคลเซียม และมีบทบาทเด่นใน

การสังเคราะห์และสร้างความสมบูรณ์ให้ผนังเซลล์และเคลื่อนย้ายน้ำตาล (Osotsapar, 2003) อย่างไรก็ตามการขาดโบรอนในระยะเจริญพันธุ์ (reproductive stage) มีผลกระทบต่อการลดลงของผลผลิตอย่างมาก เนื่องจากมีผลเสียต่อการออกดอก การติดผลและการพัฒนาของเมล็ด (Noppakoonwong *et al*., 1997; Srivastava *et al*., 1997) นอกจากนี้โบรอนยังเกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของเซลล์เมมเบรนบริเวณผิวรากทำให้มีการดูดซึมไอออนของธาตุอาหารต่างๆ เป็นไปได้อย่างปกติ (Osotsapar, 2003) และมีรายงานว่าการให้โบรอนที่เพียงพอสามารถทำให้การดูดซึมฟอสฟอรัสของรากถั่วเพิ่มจาก 112 nmol/g/h เป็น 152 nmol/g/h ส่วนในรากข้าวโพดเพิ่มจาก 116 nmol/g/h เป็น 190 nmol/g/h (Marschner, 1986) เนื่องจากโบรอนมีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการพัฒนาและสร้างเซลล์ใหม่ ดังนั้น จึงมีความสัมพันธ์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาผลหลังจากมีการผสมเกสรและการเจริญยืดตัวของท่อละอองเกสร โดยเฉพาะในจุดที่กำลังมีการแบ่งเซลล์ หรือกำลังเจริญเติบโต ซึ่งในกรณีของท่อละอองเกสร ถ้ามีการขาดโบรอนส่งผลให้ท่อละอองเกสรเจริญเติบโตผิดปกติ มีอาการพองปริแตก และไม่มีการยืดตัว (Marschner, 1986) รวมทั้งการขาดโบรอนยังมีผลทำให้เนื้อเยื่อบริเวณท่อละอองเกสรผิดปกติ ส่งผลให้มีการสูญเสียน้ำตาลได้ เช่นเดียวกับการขาดโบรอนในปาล์มน้ำมันมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ของการผสมเกสรติดลดลง และมีผลต่อความยาวของก้านละอองเกสร หรือความยาวของท่อรังไข่ ตลอดจนมีผลต่อการซึมรั่วของน้ำตาล (Dickinson, 1978) นอกจากนี้ยังพบว่าการให้แคลเซียม และโบรอนทางดินทำให้ส้มโอพันธุ์ทองดีมีคุณภาพด้านรสชาติดีที่สุด (Jaipin *et al*., 2016) ดังนั้น จะเห็นได้ว่าแคลเซียมมีผลต่อการสร้างน้ำตาลและแป้ง รวมทั้งช่วยในการดูดซึมธาตุอาหาร โดยเฉพาะไนโตรเจน ขณะที่โบรอนช่วยในการเคลื่อนย้ายน้ำตาล และการพัฒนาของผลหลังการผสมเกสร จึงสนใจที่จะศึกษาผลของการให้ปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของเมล่อน

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาผลของการให้ปุ๋ยแคลเซียม-โบรอนทางใบ ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของเมล่อนสายพันธุ์อินทนนท์ (Inthanon RZ F1) หรือโกลเด้นเอ็มเมอรัล (golden emerald) จากบริษัท ริจก์ ซวาน ประเทศเนเธอร์แลนด์ ได้ดำเนินการ ณ แปลงวิจัยของสาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ศูนย์รังสิต ในระหว่างเดือนมกราคม 2563 ถึงพฤษภาคม 2563 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อค randomized complete block design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ และ 5 ตำรับการทดลอง ดังนี้

ตำรับที่ 1 ไม่พ่นแคลเซียม - โบรอน (ชุดควบคุม)

ตำรับที่ 2 พ่นด้วยแคลเซียม - โบรอน ความเข้มข้น 250 ppm

ตำรับที่ 3 พ่นด้วยแคลเซียม - โบรอน ความเข้มข้น 500 ppm

ตำรับที่ 4 พ่นด้วยแคลเซียม - โบรอน ความเข้มข้น 750 ppm

ตำรับที่ 5 พ่นด้วยแคลเซียม - โบรอน ความเข้มข้น1,000 ppm (อัตราแนะนำจากบริษัทแอ็กสเปค (ไทยแลนด์) จำกัด)

การเตรียมแปลงปลูก ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินถมที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างต่ำ มีค่าอินทรียวัตถุ 1.02 % available P 11.05 mg/kg และ exchangeable K 60.84 mg/kg จึงทำการปรับปรุงดินโดยใช้มูลวัวอัตรา 3,000 กิโลกรัมต่อไร่ หลังจากนั้นใช้รถไถพรวนดินขนาดเล็กพรวนคลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วทำการขึ้นแปลงปลูกขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 5 เมตร จำนวน 15 แปลง พร้อมทำค้างไม้ไผ่สำหรับโยงเชือกพันต้นและลูกเมล่อน

การเตรียมต้นกล้า โดยการเพาะกล้าเมล่อนในถาดเพาะเมล็ดที่บรรจุพีทมอส (BVB substrate บริษัท ดัทช์ กรีนเนอรี่ จำกัด) เพาะเมล็ดในถาดเพาะหลุมละ 1 เมล็ด จำนวน 5 ถาด รดน้ำให้ชุ่มทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 14 วัน หลังจากนั้นทำการย้ายปลูกลงแปลงที่เตรียมไว้ข้างต้น โดยปลูกเป็นสองแถวคู่ มี

ระยะห่างระหว่างแถว 50 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างต้น 30 เซนติเมตร รวมจำนวนทั้งหมด 30 ต้นต่อแปลง หลังย้ายปลูก 7 วันทำการใส่ปุ๋ยเคมีเกรด 15 - 15 - 15 อัตรา 7.5 กรัมต่อต้น จำนวน 4 ครั้ง ที่อายุ 15, 30, 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก และใส่ปุ๋ยเคมีเกรด 0 - 0 - 60 อัตรา 3.75 กรัมต่อต้น ที่อายุ 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก

การให้น้ำทำการให้น้ำผ่านระบบน้ำหยด 2 ช่วงเวลา คือ เช้าและเย็น ครั้งละ 5 - 10 นาที ทุกวัน โดยสังเกตจากความชื้นของดินปลูก และงดให้น้ำก่อนการเก็บเกี่ยวผลผลิตหนึ่งสัปดาห์ ส่วนการควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่น เพลี้ยไฟใช้สารเคมีอีมาเมกตินเบนโซเอต 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 1 ครั้งต่อสัปดาห์ ด้วงเต่าแตงใช้สารเคมีอิมิดาโคลพริด 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่น 1 ครั้งต่อสัปดาห์ และหยุดพ่นก่อนการเก็บเกี่ยวผลผลิตเป็นเวลา 14 วัน ส่วนการควบคุมโรคพืชใช้เมทาแลกซิล 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร รดบริเวณโคนต้นและพ่นที่ใบ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นจำนวน 4 ครั้งหลังปลูก 1 เดือน เพื่อป้องกันโรครากเน่าโคนเน่าและราน้ำค้าง

การเตรียมแคลเซียม - โบรอน ใช้แคลเซียม - โบรอนสำเร็จรูปทางการค้าผลิตภัณฑ์ของ บริษัท แอ็กสเปค (ไทยแลนด์) จำกัด ซึ่งประกอบด้วยแคลเซียม 13.8 % และโบรอน 1 % จากนั้นผสมแคลเซียม - โบรอน ความเข้มข้นตามตำรับการทดลอง โดยพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอน จำนวน 3 ช่วง ได้แก่ ช่วงแรก ระยะดอกบาน คือ 30 วันหลังย้ายปลูก ช่วงที่สอง ระยะเริ่มติดผล คือหลังผสมเกสรไปแล้ว 3 วัน และช่วงที่สาม ระยะติดผล คือตั้งแต่ติดผลจนถึงหนึ่งสัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว แต่ละตำรับการทดลองพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนอัตรา 250 มิลลิลิตรต่อต้นต่อครั้ง

การเก็บข้อมูล ทำการสุ่มเก็บข้อมูล จำนวน 10 ต้นต่อแปลง ของแต่ละตำรับการทดลอง โดยนำเชือกมัดแสดงสัญลักษณ์ต้นที่ใช้เก็บข้อมูลในการวัดการเจริญเติบโตและคุณภาพผลของเมล่อน ด้วยการบันทึกข้อมูล ได้แก่ ความสูง โดยใช้ตลับเมตรวัดความสูงของต้นเมล่อนจากโคนต้นบริเวณผิวดินถึงยอดทุก 7 วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (7, 14, 21 และ 28 วันหลังย้ายปลูก) แล้วตัดยอดทิ้งเมื่อเมล่อนมีจำนวนข้อที่ 30 จำนวนใบ โดยนับจำนวนใบทุกใบที่คลี่ออก จำนวนข้อ นับจำนวนข้อที่เพิ่มขึ้นในแต่ละสัปดาห์ และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ใช้เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ทุก 7 วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (7, 14, 21 และ 28 วันหลังย้ายปลูก) โดยแต่ละต้นไว้ผลจำนวน 1 ผล เมื่อเมล่อนมีอายุ 90 วันหลังย้ายปลูก ทำการเก็บผลผลิตมาชั่งน้ำหนักสดด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง หลังจากนั้น วัดขนาดความกว้างและความยาวของผลเมล่อน แล้วทำการผ่าผลเมล่อน วัดความแน่นเนื้อจำนวน 5 จุดต่อผล โดยใช้เครื่อง Takamura รุ่น KM - 1 จากนั้นนำชิ้นส่วนเนื้อมาวัดความหวาน หรือปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids: TSS) จำนวน 3 จุดต่อผล โดยใช้เครื่อง refractometer PAL - 1 ATAGO

การวิเคราะห์ข้อมูล โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองที่กำหนดและเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 21

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากผลการทดลอง พบว่า ความสูงต้นเมล่อนเฉลี่ยที่ระยะเวลา 2, 3 และ 4 สัปดาห์ (7, 14, 21 และ 28 วันหลังย้ายปลูก) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการพ่นปุ๋ยแคลเซียม-โบรอนความเข้มข้น 750 ppm ให้ความสูงของเมล่อนในสัปดาห์ที่ 2, 3 และ 4 สูงที่สุด (28.71, 76.32 และ 141.44 เซนติเมตร ตามลำดับ) แต่ไม่แตกต่างจากการพ่นปุ๋ยแคลเซียม-โบรอนความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 ppm (Table 1) ส่วนจำนวนใบเฉลี่ย พบว่า จำนวนใบของเมล่อนที่ระยะเวลา 2 และ 3 สัปดาห์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 750 ppm ให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุด (10.20 และ 19.77 ใบ ตามลำดับ) แต่ไม่แตกต่างจากการพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอน

ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm (Table 2) ขณะที่จำนวนข้อเฉลี่ย พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 (28 วันหลังย้ายปลูก) มีจำนวนข้อเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการพ่นปุ๋ยแคลเซียม-โบรอนความเข้มข้น 1,000 ppm ให้จำนวนข้อเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 25.57 ข้อ (Table 3) ส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักผล ความแน่นเนื้อ ความกว้างผลและความยาวผลเฉลี่ยของเมล่อน พบว่า ในทุกระยะการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 4, 5; Figure 1) แต่ด้านความหวานของเมล่อนนั้น พบว่า การพ่นปุ๋ยแคลเซียมโบรอนส่งผลให้ความหวานของเมล่อนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กล่าวคือ การพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 250 ppm ให้ความหวานสูงที่สุดคือ 15.25 องศาบริกซ์ แต่ไม่แตกต่างจากการพ่นแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 750 และ 1,000 ppm ขณะที่การไม่พ่นแคลเซียม - โบรอนส่งผลให้ความหวานของเมล่อนต่ำที่สุด 13.00 องศาบริกซ์ (Table 5)

Table 1. Effect of calcium - boron fertilizer application on plant height of melons at 1, 2, 3 and 4 weeks (7, 14, 21 and 28 Days after transplanted; DAT)

Treatments	Plant height (cm)			
	Week1	Week 2	Week 3	Week 4
No calcium - boron	9.89	23.69^{b}	63.09^{b}	127.67^{b}
Calcium - boron, 250 ppm	10.27	24.93^{ab}	69.55^{ab}	136.20^{ab}
Calcium - boron, 500 ppm	10.64	23.09^{b}	65.46^{ab}	131.62^{ab}
Calcium - boron, 750 ppm	11.52	28.71^{a}	76.32^{a}	141.44^{a}
Calcium - boron, 1,000 ppm	10.69	25.32^{ab}	70.69^{ab}	141.11^{a}
CV (%)	23.95	24.27	22.27	11.40
F - test	ns	**	**	**

^{ns} not significant **significant at P ≤ 0.01

Means in a column followed by the same lowercase letter are not significantly different according to DMRT

Table 2. Effect of calcium - boron fertilizer application on number of leaves of melons at 1, 2, 3 and 4 weeks (7, 14, 21 and 28 Days after transplanted; DAT)

Treatments	Number of leaves			
	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
No calcium - boron	5.45	8.97^{b}	16.80^{b}	26.90
Calcium - boron, 250 ppm	5.70	8.73^{b}	18.60^{ab}	28.13
Calcium - boron, 500 ppm	5.80	9.43^{ab}	17.33^{ab}	26.27
Calcium - boron, 750 ppm	5.97	10.20^{a}	19.77^{a}	27.40
Calcium - boron, 1,000 ppm	5.60	9.57^{ab}	17.80^{ab}	28.13
CV (%)	13.62	18.57	21.04	14.07
F - test	ns	**	**	ns

^{ns} not significant **significant at P ≤ 0.01

Means in a column followed by the same lowercase letter are not significantly different according to DMRT

Table 3. Effect of calcium - boron fertilizer application on number of nodes of melons at 1, 2, 3 and 4 weeks (7, 14, 21 and 28 Days after transplanted; DAT)

Treatments	Number of nodes			
	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
No calcium - boron	2.63	7.53	15.33	24.10[ab]
Calcium - boron, 250 ppm	2.73	7.80	16.17	25.03[ab]
Calcium - boron, 500 ppm	2.73	7.90	15.77	23.80[b]
Calcium - boron, 750 ppm	2.93	8.50	16.97	24.97[ab]
Calcium - boron, 1,000 ppm	2.83	7.97	16.67	25.57[a]
CV (%)	24.15	20.12	15.80	8.31
F - test	ns	ns	ns	**

[ns] not significant **significant at $P \leq 0.01$

Means in a column followed by the same lowercase letter are not significantly different according to DMRT

Table 4. Effect of calcium - boron fertilizer application on stem diameter of melons at 1, 2, 3 and 4 weeks (7, 14, 21 and 28 Days after transplanted; DAT)

Treatments	Stem diameter (cm)			
	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
No calcium - boron	0.39	0.59	0.74	0.99
Calcium - boron, 250 ppm	0.39	0.61	0.78	0.99
Calcium - boron, 500 ppm	0.39	0.60	0.73	1.00
Calcium - boron, 750 ppm	0.40	0.59	0.76	0.97
Calcium - boron, 1,000 ppm	0.39	0.62	0.75	0.99
CV %	13.67	11.23	9.18	8.86
F - test	ns	ns	ns	ns

[ns] not significant **significant at $P \leq 0.01$

Means in a column followed by the same lowercase letter are not significantly different according to DMRT

Table 5. Effect of calcium - boron fertilizer application on Fresh weight, firmness, width circumference, length circumference and sweetness of melon at 90 DAT

Treatments	Yield quality				
	Fresh weight (kg)	Firmness (kg/cm^{3})	Width circumfe-rence (cm)	Length circumfe-rence (cm)	Sweetness (^{o}Brix)
No calcium - boron	1.22	1.79	41.08	44.00	13.00^{c}
Calcium - boron, 250 ppm	1.34	1.69	41.71	45.24	15.25^{a}
Calcium - boron, 500 ppm	1.22	1.79	41.02	44.25	13.87^{bc}
Calcium - boron, 750 ppm	1.27	1.72	40.47	44.55	14.73^{ab}
Calcium - boron, 1,000 ppm	1.28	1.73	41.93	44.40	14.36^{ab}
CV (%)	16.67	13.08	6.04	11.20	13.80
F - test	ns	ns	ns	ns	**

^{ns} not significant **significant at $P \leq 0.01$

Means in a column followed by the same lowercase letter are not significantly different according to DMRT

Figure 1. Effect of calcium - boron levels on melon fruit at 90 DAT A. No calcium - boron B. Calcium - boron 250 ppm C. Calcium - boron 500 ppm D. Calcium - boron 750 ppm E. Calcium - boron 1,000 ppm

จากผลการศึกษาผลของแคลเซียม - โบรอนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของเมล่อนสายพันธุ์อินทนนท์พบว่า ทุกตำรับทดลองที่มีการพ่นปุ๋ยแคลเซียม-โบรอนส่งผลการเจริญเติบโตด้านความสูงต้น จำนวนใบและจำนวนข้อของเมล่อนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุม (ไม่พ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอน) เนื่องจากการพ่นแคลเซียม - โบรอนนั้น แคลเซียมทำหน้าที่ช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุอาหารอื่น ๆ โดยเฉพาะไนโตรเจน อีกทั้งธาตุไนโตรเจนจัดเป็นธาตุอาหารหลักในการเจริญเติบโตของพืชจึงทำให้มีการเจริญเติบโตมากกว่าชุดควบคุม (Osotsapar, 2003) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Thongjoo *et al.*, 2016) ที่ศึกษาผลของการใช้แคลเซียมร่วมกับโบรอนที่มีต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบและปริมาณผลผลิตในพลับพันธุ์ซิซูและพันธุ์ฟูยู พบว่า ปริมาณไนโตรเจนในใบจะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมโบรอน แต่อย่างไรก็ตามการพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนไม่ส่งผลต่อน้ำหนักผลผลิต ความแน่นเนื้อ ความกว้างและความยาวผล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sillapaphet (2005) ที่ศึกษาการพ่นสารละลายแคลเซียมโบรอนในพลับโดยใช้แคลเซียมโบรอนรูปแบบทางการค้าประกอบด้วยแคลเซียม 5 % และโบรอน 0.5 % ปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พบว่า ความกว้างและความยาวผลในทุกตำรับทดลองที่พ่นปุ๋ย

แคลเซียม - โบรอนไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุม แต่อย่างไรก็ตามมีข้อสังเกตว่าการพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนในทุกตำรับทดลองมีผลต่อความหวานของเมล่อน ทั้งนี้เป็นเพราะโบรอนมีหน้าที่สำคัญคือช่วยให้รากสามารถดูดซึมแคลเซียม และมีบทบาทในการสังเคราะห์สารเชิงซ้อนโบรอน และเพกติน และสร้างความสมบูรณ์ให้ผนังเซลล์ (Osotsapar, 2003) การเคลื่อนย้ายน้ำตาล (Shelp, 1993) โบรอนมีบทบาทอย่างมากต่อการสร้างและการคงรูปของผนังเซลล์ (Marschner, 1986) รวมทั้งบทบาทต่อการเจริญเติบโตของผนังเซลล์ของท่อเรณู ซึ่งมีผลต่อ glucan (Shorrocks, 1989) ที่สะสมอยู่ในผนังเซลล์ทำให้โบรอนมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งทำให้เกิดการประสานกันของเนื้อเยื่อในเซลล์พืชได้ยิ่งขึ้น (Keerati-Kasikorn, 2003) การขาดโบรอนมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง โดยพืชที่ขาดโบรอนจะมีผลกระทบต่อการปลดปล่อยออกซิเจนในปฏิกิริยา Hill ลดลง และอัตราการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ใน dark reaction ลดลง ทำให้การสังเคราะห์น้ำตาลลดลงตามไปด้วย (Kastori *et al*., 1995) นอกจากนี้ Ferri *et al*. (2008) รายงานว่า การพ่นแคลเซียม หรือโบรอนให้ผลบวกต่อการป้องกันการแตกที่ผิวของผลพลับใกล้เคียงกัน อีกทั้งยังพบว่าการใช้โบรอน และโบรอนร่วมกับแคลเซียม สามารถเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของผลไม้เขตอบอุ่น เช่น ลูกแพร์ (Xuan *et al.,* 2003) แอปเปิ้ล (Wojcik *et al.,* 2008) พลับ (Abd El-Fatah *et al.,* 2008) สตรอว์เบอร์รี (Singh *et al.,* 2006) เป็นต้น อย่างไรก็ตามการให้แคลเซียมและโบรอนแก่พลับสามารถช่วยทำให้เปลือกผลมีความหนามากขึ้น ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการแตกที่ผิวของผลพลับ (Brown and Hu, 1996; Goncalves *et al.,* 2004) และยังมีการศึกษาผลของแคลเซียมและโบรอนเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวในพลับพันธุ์กองเซ็ง (Tang *et al.,* 2013) ดังนั้น จะเห็นได้ว่าการพ่นปุ๋ยแคลเซียมและโบรอนสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มความหวานของเมล่อนได้ดีกว่าการไม่พ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอน

สรุป

จากการศึกษาผลของการให้ปุ๋ยแคลเซียม-โบรอนต่อคุณภาพของเมล่อน พบว่า การพ่นปุ๋ยแคลเซียม- โบรอนความเข้มข้น 250 ppm ส่งผลให้การเจริญเติบโตในภาพรวมด้านความสูงเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย จำนวนข้อเฉลี่ย ไม่แตกต่างจากการพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 500, 750 และ 1,000 ppm ตามลำดับ ส่วนด้านผลผลิตการพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 250 ppm ให้ความหวานเฉลี่ยสูงที่สุด (15.25 องศาบริกซ์) ขณะที่การไม่พ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนมีความหวานเฉลี่ยของเมล่อนต่ำที่สุด (13.00 องศาบริกซ์) จากการศึกษานี้เห็นได้ว่าในการผลิตเมล่อนให้มีคุณภาพดีควรมีการพ่นปุ๋ยแคลเซียม - โบรอนความเข้มข้น 250 ppm

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัย ประเภททุนวิจัย ประเภทงบประมาณ กองทุนส่งเสริมงานวิจัยฯ ประจำปีงบประมาณ 2563 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

เอกสารอ้างอิง

Abd El-Fatah, D.M., S.A. Mohamed and O.M. Ismail. 2008. Effect of biostimulants, ethrel, boron and potassium nutrient on fruit quality of “Costata” persimmon. Australian Journal of Basic Applied Sciences 2(4): 1432-1437.

Brown, P. H. and H. Hu. 1996. Phloem mobility of boron is species dependent: Evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. Annals of Botany 77(5): 497-505.

Dickinson, C.B. 1978. Influence of borate and pentaerythriol concentrations on germination and tube growth of *Lilium longiflorum* pollen. Journal of the American

Society for Horticultural Science 103: 413-416.

Ferri, V.C., C.V. Rombaldi, J. A. Silva, C. Pegoraro, L. Nora, P. L. Antunes, C. L. Girardi and C.S. Tibola. 2008. Boron and calcium sprayed on 'Fuyu' persimmon tree prevent skin cracks, groove and browning of fruit during cold storage. Ciencia Rural 38(8): 2146-2150.

Feungchan, S. 1995. Horticultural Mineral Nutrients. Khon Kaen University Press, Khon Kaen. 604 p. (in Thai)

Goncalves, E.D., R. Trevisan, J. A. Silva and C.V. Rombaldi. 2004. Genetic variability study and browning in 'Fuyu' (*Diospyrus kaki*) persimmon after cold storage. Revista Brasileira de Fruticultura 26(3): 555-557.

Jaipin, P., S. Vorapitirangsee, S.Jarintron, S. Na-Nan, N. Supakamnerd, A. Pongchaisit, and S. Majiew. 2016. Study rate of Calcium and Boron for optimum quality and productivity of *Citrus maxima* cv. Tong Dee grown in Chiang Rai Province. Final Report. Department of Agricultural, Bangkok. 31 p. (in Thai)

Kastori, R., M. Plesnicar, D. Pankovic and Z. Sakac. 1995. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and soluble carbohydrate in sunflower leaves as affected by boron deficiency. Journal of Plant Nutrition 18(9): 1751-1763.

Keerati-Kasikorn, P. 2003. Boron-Plant Micronutrient. O.S. Printing House, Khon Kaen. 197 p. (in Thai)

Khamudom, K. 1988. Cantaloupe. Agricultural Base Publishing, Bangkok. 70 p. (in Thai)

Laur, L.M. and L. Tian. 2011. Provitamin A and vitamin C contents in selected California-grown cantaloupe and honeydew melons and imported melons. Journal of Food Composition and Analysis 24(2): 194-201.

Marschner, H. 1986. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, San Diego, CA. 650 p.

Naito, Y., S. Akagiri, K. Uchiyama, S. Kokura, N. Yoshida, G. Hasegawa, N. Nakamura, H. Ichikawa, S. Toyokuni, T. Ijichi and T. Yoshikawa. 2005. Reduction of diabetes-induced renal oxidative stress by a cantaloupe melon extract/gliadin biopolymers, oxykine, in mice. BioFactors 23(2): 85-95.

Noppakoonwong, R.N., B. Rerkasem, R.W. Bell, B. Dell and J.F. Loneragan. 1997. Diagnosis and prognosis of boron deficiency in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) in the field by using plant analysis. pp. 89-93. *In*: R.W. Bell and B. Rerkasem (eds.). Boron in Soil and Plant. Kluwer Academic Publishers, London.

Osotsapar, Y. 2003. Plant Nutrition. Kasetsart Universty Press. Bangkok. 548 p. (in Thai)

Paris, H.S., Z. Amar and E. Lev. 2012. Medieval emergence of sweet melons, *Cucumis melo* (Cucurbitaceae). Annals of Botany 110(1): 23-33.

Reuter, D.J. and J.B. Robinson. 1997. Plant Analysis: An Interpretation Manual. CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria. 570 p.

Shorrocks, V.M. 1989. Boron Deficiency: Its Prevention and Cure. Borax Consolidated Ltd., London. 43 p.

Sillapaphet, K. 2005. Increasing of fruit set and fruit qualities of persimmon (*Diospyros kaki* L.) cv. Fuyu by hand pollination and calcium-boron application. M.S. Thesis. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

Singh, R., R.R. Sharma and S.K. Tyagi. 2006. Pre - harvest foliar application of calcium and boron influences physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry (*Fragaria* x *ananassa* Duch.). Scientia Horticulturae 112(2): 215-220.

Suphanburi Provincial Agriculture and Cooperatives Office. 2017. Information for agricultural and cooperative development planning for products of Suphanburi province. (Online). Available: https://www.opsmoac.go.th/suphanburi-dwl-files-391691791817 (April 23, 2021). (in Thai)

Srivastava, S.P., C.R. Yadav, T.J. Rego, C. Johansen and N.P. Saxena. 1997. Diagnosis and alleviation of boron deficiency causing flower and pod a bortion in chickpea (*Cicer arientium* L.) in Nepal. pp. 95-96. *In:* R.W. Bell and B. Rerkasem (eds.). Boron in Soil and Plant. Kluwer Academic Publishers, London.

Suksawat, M. 2001. Soil Fertility. Odeon Store Press, Bangkok. 344 p. (in Thai)

Suthipradit, S. 1993. Soil Fertility. Prince of Songkla University Press, Songkla. 349 p. (in Thai)

Shelp, B.J. 1993. Physiology and biochemistry of boron in plants. pp. 53-85. *In:* U.C. Gupta (ed.). Boron and Its Role in Crop Protection. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Tang, Z., N. Sun, L. Feng, L. Meng and R. Qin. 2013. Effects of calcium and boron elements on top rot of fruit physiological diseases in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). Acta Horticulturae 996: 333-338.

Thongjoo, C., W. Mektrong, B. Ya-oop, O. Tuntawiroon, W. Kijsomporn and W. Yeesawat. 2016. Effect of calcium-boron application on leaf nutrient concentrations and yield in 'Xichu' and 'Fuyu' Persimmons (*Diospyros kaki* L.). Songklanakarin Journal of Plant Science 3(Suppl. 1): 1-10. (in Thai)

Tira-umphon, A. and U. Kumthong. 2001. Comparison of suitable melon cultivars for the greenhouse production. pp. 548-555. *In*: Proceedings of the 39th Kasetsart Universty Annual Conference, Bangkok. (in Thai)

Villanueva, M.J., M.D. Tenorio., M.A. Esteban and M.C. Mendoza. 2004. Compositional changes during ripening of two cultivars of muskmelon fruits. Food Chemistry 87(2): 179-185.

Wojcik, P., M. Wojcik and K. Klamkowski. 2008. Response of apple trees to boron fertilization under conditions of low soil boron availability. Scientia Horticulturae 116(1): 58-64.

Xuan, H., J. Streif, A.A. Saquet and F. Bangerth. 2003. Boron application affects respiration and energy status of 'Conference' pears during CA-storage. Acta Horticulturae 628: 167-174.

การบูรณาการเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศและการมีส่วนร่วมของชุมชน ที่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ป่าไม้: กรณีศึกษาลุ่มน้ำยาง จังหวัดน่าน

Integration of Geo - informatics Technology and Community Participation Affecting on Increasing Forest Area: A Case Study of Yang Watershed, Nan Province

สุประภัทร เขื่อนใจ [1*] และ ถาวร อ่อนประไพ [2]

Suprapat Khuenjai [1*] and Thaworn Onpraphai [2]

[1]ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[1]Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 52000, Thailand

[2]ภาควิชาเกษตรที่สูงและทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[2]Department of Highland Agriculture and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 52000, Thailand

**Corresponding author: Email: suprapat340@gmail.com*

(Received: 27 April 2021; Accepted: 2 July 2021)

Abstract: Forest areas have tentatively decreased and transformed to other uses. There is less research which focuses on integrating technology and participation to increase forest areas and land use efficiency in small watershed. This paper proposes to integrate geo - informatics system with community participatory process to raise up the land use efficiency of a community in Yang watershed, Nan Province. The procedure was conducted during 4 years (2016 - 2019) using geo - informatics technology to analyze spatial data of land use in 2016, and generate people awareness including selective land use design collaboratively with the 17 pilot households and 2 alternative careers i.e. (1) land development with the principle of agroforestry by mixed - economic trees, and (2) farming development of vicinity areas with the production of organic vegetable and fishery. A set of data was spatially analyzed to monitor land use in the watershed. It was found that in 2019 forest areas had obviously increased by 2,047.1 rais, (from 14,922.7 rais to 16,969.9 rais). The decreased proportion of land use consists of maize areas (A202) and rice paddy (A101) decreased by 43.7 and 6.3 %. The increased proportion of land use consists of forest areas (F), mixed perennial or orchard areas (A301 / A401), abandoned field crop areas (A200), water body areas (W), urban and built - up area (U) increased by 31.3 , 11.9 , 5.1 , 1.6 and 0.1 %, respectively. This research can be a prototype in the generation of selective occupation to increase land use efficiency and applied to other small watersheds later on.

Keywords: Geo - informatics technology, community participation, forest area, land use change

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: พื้นที่ป่าไม้มีแนวโน้มลดลงและมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นการใช้ประโยชน์ที่ดินประเภทอื่น มีการศึกษาวิจัยจำนวนน้อยที่เน้นการบูรณาการเทคโนโลยีและการมีส่วนร่วมเพื่อเพิ่มพื้นที่ป่าไม้และประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินพื้นที่ลุ่มน้ำขนาดเล็ก บทความวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อบูรณาการเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศร่วมกับกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินของชุมชนในลุ่มน้ำยาง จังหวัดน่าน ดำเนินการในช่วงเวลา 4 ปี (พ.ศ. 2559 - 2562) โดยใช้ระบบภูมิสารสนเทศเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่การใช้ประโยชน์ที่ดินในปี พ.ศ. 2559 และสร้างความตระหนักรู้รวมถึงร่วมออกแบบทางเลือกการใช้ประโยชน์ที่ดินร่วมกับ 17 ครัวเรือนนำร่อง กับ 2 อาชีพทางเลือก ได้แก่ (1) การพัฒนาพื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยไม้เศรษฐกิจผสมผสานตามหลักวนเกษตร และ (2) การพัฒนาพื้นที่เกษตรใกล้บ้านด้วยการผลิตพืชผักปลอดสารพิษและการเลี้ยงปลา ชุดข้อมูลเชิงพื้นที่ถูกวิเคราะห์เพื่อติดตามการใช้ประโยชน์ที่ดินในลุ่มน้ำ พบว่า ปี พ.ศ. 2562 พื้นที่ป่าไม้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน จำนวน 2,047.1 ไร่ (จาก 14,922.7 ไร่ เป็น 16,969.9 ไร่) โดยชนิดการใช้ประโยชน์ที่ดินที่มีสัดส่วนลดลง ประกอบด้วย พื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (A202) และพื้นที่นาข้าว (A101) ลดลงร้อยละ 43.7 และ 6.3 ตามลำดับ ชนิดการใช้ประโยชน์ที่ดินที่มีสัดส่วนเพิ่มขึ้น ประกอบด้วย พื้นที่ป่าไม้ (F) พื้นที่ไม้ยืนต้นผสมหรือไม้ผลผสม (A301/A401) พื้นที่ไร่ร้าง (A200) พื้นที่แหล่งน้ำ (W) และพื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง (U) เพิ่มขึ้นร้อยละ 31.3, 11.9, 5.1, 1.6 และ 0.1 ตามลำดับ งานวิจัยนี้สามารถเป็นต้นแบบในการสร้างอาชีพทางเลือกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินและประยุกต์ใช้กับลุ่มน้ำขนาดเล็กอื่น ๆ ได้ต่อไป

คำสำคัญ: เทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ การมีส่วนร่วมของชุมชน พื้นที่ป่าไม้ การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดิน

คำนำ

การใช้เทคโนโลยีภูมิสารสนเทศศึกษาการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ป่าไม้ พบว่า พื้นที่ป่าไม้ในประเทศไทยลดลงตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2543 และดำเนินไปอย่างต่อเนื่อง จากความต้องการผลิตภัณฑ์จากป่าและธุรกิจทางการเกษตรที่เพิ่มขึ้น (Trisurat *et al.*, 2019) ข้อมูลสถิติพื้นที่ป่าไม้จังหวัดน่านโดยกรมป่าไม้ (Royal Forest Department, 2019) รายงานว่า ในปี พ.ศ. 2543 จังหวัดน่าน มีพื้นที่ป่าไม้จำนวน 5,578,456.3 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 77.8 ของพื้นที่จังหวัด ต่อมาปี พ.ศ. 2547 คงเหลือจำนวน 5,310,800.0 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 74.1 ของพื้นที่จังหวัด และในรายงานฉบับสมบูรณ์โครงการจัดทำข้อมูลสภาพพื้นที่ป่าไม้ ปี พ.ศ. 2559 - 2560 พื้นที่ป่าไม้จังหวัดน่านคงเหลือจำนวน 4,653,943.2 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 61.4 ของพื้นที่จังหวัด (Royal Forest Department, 2018) จากรายงานจะเห็นได้ว่าพื้นที่ป่าไม้มีแนวโน้มลดลงอย่างมาก อย่างไรก็ตาม การนำเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศเข้ามาวิเคราะห์พื้นที่ป่าไม้ของจังหวัดน่าน ยังไม่มีการบูรณาการการมีส่วนร่วมของชุมชนในการออกแบบทางเลือกเพื่อการเพิ่มพื้นที่ป่าไม้

กระบวนการมีส่วนร่วม (participation) เป็นกระบวนการสื่อสารข้อมูลสองทางระหว่างบุคคล กลุ่มชุมชน หรือองค์กร ในการดำเนินกิจกรรมหนึ่ง ๆ หรือหลายกิจกรรมทั้งที่เป็นทางการและไม่เป็นทางการ โดยมีเป้าหมายร่วมกันของกลุ่ม และเป็นการเสริมสร้างความสามัคคี ความรู้สึกร่วมรับผิดชอบ (Namburi, 2019) ซึ่งในส่วนของกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนในการพัฒนาคุณภาพชีวิต จะเกิดประโยชน์ต่อผู้รับผลการพัฒนาทั้งโดยตรงและโดยอ้อม รวมถึงการกระจายประโยชน์สู่ชุมชน (Ratchathawan *et al.*, 2018) การออกแบบทางเลือกในการใช้ประโยชน์ที่ดินอย่างมีประสิทธิภาพร่วมกับชุมชนเป็นแนวทางหนึ่งที่เป็นการสร้างกระบวนการมีส่วนร่วม ในการแก้ปัญหาพื้นที่ป่าไม้ในลุ่มน้ำขนาดเล็กได้

พื้นที่ลุ่มน้ำยาง ตำบลป่าแลวหลวง อำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน เป็นลุ่มน้ำขนาดเล็กมีเนื้อที่รวม 29,259.9 ไร่ ชุมชนปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เชิงเดี่ยวเป็นพืชเศรษฐกิจหลักโดยการเปลี่ยนพื้นที่ป่าไม้

บางส่วนอย่างต่อเนื่อง การใช้ประโยชน์ที่ดินทำการเกษตรเชิงเดี่ยวเป็นระยะเวลานานทำให้ดินเสื่อมคุณภาพ สูญเสียพื้นที่ป่าไม้ และอีกทั้งราคาขายผลผลิตตกต่ำ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อบูรณาการเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศร่วมกับกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน ในการติดตามและออกแบบอาชีพทางเลือกใหม่ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มพื้นที่ป่าไม้โดยชุมชนและท้องถิ่นสามารถนำไปปฏิบัติได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การบูรณาการเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศและการมีส่วนร่วมของชุมชน ที่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของพื้นที่ป่าไม้ ซึ่งใน Figure 1 แสดงกระบวนการที่ได้ดำเนินการในพื้นที่ลุ่มน้ำยาง ตำบลป่าแลวหลวง อำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน ประกอบด้วย

พื้นที่ดำเนินการวิจัย

ลุ่มน้ำยาง ตำบลป่าแลวหลวง อำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน (Figure 2) รวมเนื้อที่ประมาณ 29,260 ไร่ (46.8 ตารางกิโลเมตร) ดำเนินการในช่วงเวลา 4 ปี (พ.ศ. 2559 - 2562) มีปัญหาการทำลายทรัพยากรป่าไม้จากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และพืชอื่น ๆ บนพื้นที่สูงเป็นลักษณะภูเขาหัวโล้น

การสร้างกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน

การสร้างกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนด้วยเทคนิคการวิจัยเชิงสำรวจ (survey research) เพื่อเก็บรวบรวมข้อมูลความคิดเห็น และข้อเสนอแนะของประชาชนในกลุ่ม (Center for Conflict Studies and Cultural Diversity, 2019) โดยการมีส่วนร่วม 5 ระดับ คือ การมีส่วนร่วมในการวางแผน การดำเนินกิจกรรม การใช้ประโยชน์ การร่วมรับผลประโยชน์ และการประเมินผล (Ratchathawan *et al*., 2018) ดำเนินการด้วยกิจกรรม

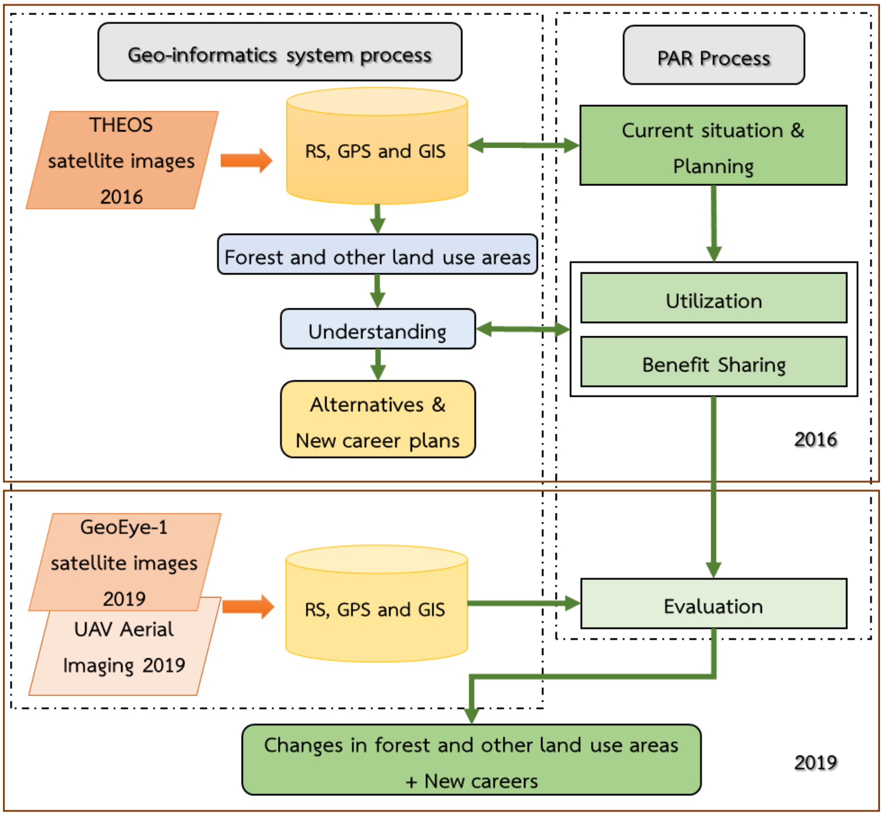

Figure 1. Research framework of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan province

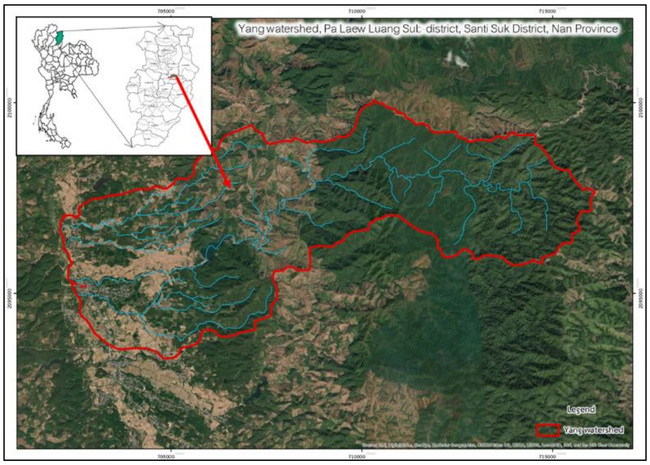

Figure 2. Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan province

การแลกเปลี่ยนและระดมความคิดกับเกษตรกร จำนวน 17 ครัวเรือน และนำเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศช่วยในการศึกษาข้อมูลการถือครองที่ดินจำนวนแปลง 30 แปลง ซึ่งสร้างความตระหนักรับรู้สถานการณ์ที่เกิดขึ้นในพื้นที่ และเสริมสร้างศักยภาพด้วยอาชีพทางเลือกทางการเกษตรใน 2 แนวทางหลัก คือ (1) การพัฒนาพื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดเดิมด้วยไม้เศรษฐกิจผสมผสานตามหลักวนเกษตร จำนวน 17 ครัวเรือน (30 แปลง) และ (2) การพัฒนาพื้นที่เกษตรใกล้บ้านด้วยการผลิตพืชผักปลอดสารพิษและการเลี้ยงปลา จำนวน 8 ครัวเรือน โดยโครงการวิจัยเป็นผู้สนับสนุนปัจจัยที่จำเป็นสำหรับการดำเนินงานในขั้นตอนการนำร่อง

การวิเคราะห์จำแนกข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดิน

ทำการวิเคราะห์จำแนกการใช้ประโยชน์ที่ดินด้วยเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ (geo - informatics technology) ซึ่งประกอบด้วย (1) การสำรวจข้อมูลระยะไกล (remote sensing: RS) เพื่อใช้ในการจำแนก การติดตาม รวมถึงการจัดทำแผนที่การใช้ประโยชน์ที่ดินของพื้นที่ลุ่มน้ำยางในปี พ.ศ. 2559 ด้วยข้อมูลภาพถ่ายดาวเทียมธีออส (THEOS) (Geo-Informatics and Space Technology Development Agency (Public Organization), 2009) และปี พ.ศ. 2562 ด้วยข้อมูลภาพถ่ายดาวเทียมจีโออาย 1 (GeoEye-1) ร่วมกับข้อมูลภาพถ่ายจากอากาศยานไร้คนขับ (unmanned aerial vehicle: UAV) ตามลำดับ โดยใช้เทคนิควิธีการจำแนกแบบควบคุม (supervised classification) ร่วมกับการจำแนกด้วยสายตา (visual interpretation) โดยสามารถแบ่งชนิดการใช้ประโยชน์ที่ดินและสิ่งปกคลุมดินในพื้นที่ศึกษาออกเป็น 7 ประเภท คือ พื้นที่นาข้าว (rice paddy; A101) พื้นที่ไร่ร้าง (abandoned field crop; A200) พื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (maize; A202) พื้นที่แหล่งน้ำ (water body; W) พื้นที่ป่าไม้ (forest; F) พื้นที่ไม้ยืนต้นผสมหรือไม้ผลผสม (mixed perennial or orchard); A301/A401) และพื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง (urban and built-up; U) (Land Development Department, 2009); (2) ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ (geographic information system: GIS) เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินของลุ่มน้ำยางระหว่างปี พ.ศ. 2559 และ พ.ศ. 2562 และจัดทำแผนที่การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินดังกล่าวพร้อมเชื่อมโยงเข้ากับข้อมูลคุณลักษณะ; และ (3) ระบบการกำหนดตำแหน่งบนพื้นโลก (global positioning system: GPS) เพื่อใช้ในการสำรวจทำแผนที่แสดงตำแหน่ง พื้นที่ และขอบเขตแปลงเกษตรกรรมของเกษตรกรผู้เข้าร่วมโครงการฯ

การวิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดิน

ดำเนินการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินของพื้นที่ศึกษาลุ่มน้ำยาง เปรียบเทียบ

ระหว่างปี พ.ศ. 2559 และ พ.ศ. 2562 ด้วยข้อมูลเชิงพื้นที่แสดงการใช้ประโยชน์ที่ดินที่จำแนกได้ด้วยเทคนิคการสำรวจข้อมูลระยะไกล (RS) และใช้เครื่องมือของระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ (GIS) ในขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่การใช้ประโยชน์ที่ดิน

ผลการวิจัย

ผลการสร้างกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน

จากการสร้างกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนลุ่มน้ำยาง พบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่มีความต้องการที่จะเลิกปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บนพื้นที่สูง แต่ขาดองค์ความรู้และการสนับสนุนการพัฒนาอาชีพทางเลือกที่จะสามารถทดแทนรายได้จากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บนพื้นที่สูงได้ ซึ่งการสร้างกระบวนการมีส่วนร่วมทำให้ได้ขั้นตอนและผลการพัฒนาอาชีพทางเลือก เพื่อลดการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และเพิ่มพื้นที่ป่าไม้ใน 2 แนวทาง คือ

1. การพัฒนาพื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดเดิมด้วยไม้เศรษฐกิจผสมผสานตามหลักวนเกษตร (agroforestry) ซึ่งพื้นที่แปลงทั้งหมดของเกษตรกรตั้งอยู่ในเขตพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติ จึงดำเนินงานโดยปรึกษาหน่วยงานป่าไม้ในพื้นที่ และทำการออกแบบสำหรับปลูกไม้ผลยืนต้นร่วมกับไม้ป่าเศรษฐกิจ

2. การพัฒนาพื้นที่เกษตรใกล้บ้านด้วยการผลิตพืชผักปลอดสารพิษและการเลี้ยงปลา โดยสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์และวิชาการในการพัฒนาอาชีพ เพื่อลดรายจ่ายและเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร

ผลการวิเคราะห์จำแนกข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดิน

ผลการจำแนกการใช้ประโยชน์ที่ดินแสดงใน Table 1 พบว่า ในปี พ.ศ. 2559 พื้นที่ลุ่มน้ำยางมีพื้นที่ป่าไม้ (F) จำนวน 14,922.8 ไร่ พื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (A202) จำนวน 4,966.4 ไร่ พื้นที่ไม้ยืนต้นผสมหรือไม้ผลผสม (A301 / A401) จำนวน 4,935.2 ไร่ พื้นที่นาข้าว (A101) จำนวน 3,385.7 ไร่ พื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง (U) จำนวน 609.6 ไร่ พื้นที่แหล่งน้ำ (W) จำนวน 298.5 ไร่ และพื้นที่ไร่ร้าง (A200) จำนวน 141.7 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 51.0, 17.0, 16.9, 11.6, 2.1, 1.0 และ 0.5 ของพื้นที่ลุ่มน้ำยางตามลำดับ (Figure 3) และในปี พ.ศ. 2562 พื้นที่ลุ่มน้ำยางมีพื้นที่ป่าไม้ (F) จำนวน 16,969.9 ไร่ พื้นที่ไม้ยืนต้นผสมหรือไม้ผลผสม (A301 / A401) จำนวน 5,712.4 ไร่ พื้นที่นาข้าว (A101) จำนวน 2,975.8 ไร่ พื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (A202) จำนวน 2,107.6 ไร่ พื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง (U) จำนวน 612.9 ไร่ พื้นที่ไร่ร้าง (A200) จำนวน 476.4 ไร่ และพื้นที่แหล่งน้ำ (W) จำนวน 404.9 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 58.0, 19.5, 10.2, 7.2, 2.1, 1.6 และ 1.4 ของพื้นที่ลุ่มน้ำยาง ตามลำดับ (Figure 4)

Table 1. Land use classification of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan province in 2016 and 2019

Land use types	Area in 2016		Area in 2019	
	rai	%	rai	%
Rice paddy (A101)	3,385.7	11.6	2,975.8	10.2
Abandoned field crop (A200)	141.7	0.5	476.4	1.6
Maize (A202)	4,966.4	17.0	2,107.6	7.2
Mixed perennial or orchard (A301 / A401)	4,935.2	16.9	5,712.4	19.5
Forest (F)	14,922.8	51.0	16,969.9	58.0
Urban and Built - up (U)	609.6	2.1	612.9	2.1
Water body (W)	298.5	1.0	404.9	1.4
Total	29,259.9	100.0	29,259.9	100.0

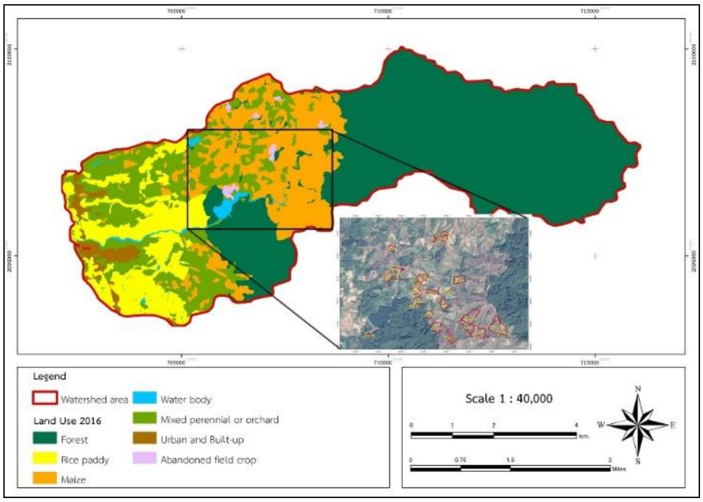

Figure 3. Land use map of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan province in 2016 classified by remote sensing technique

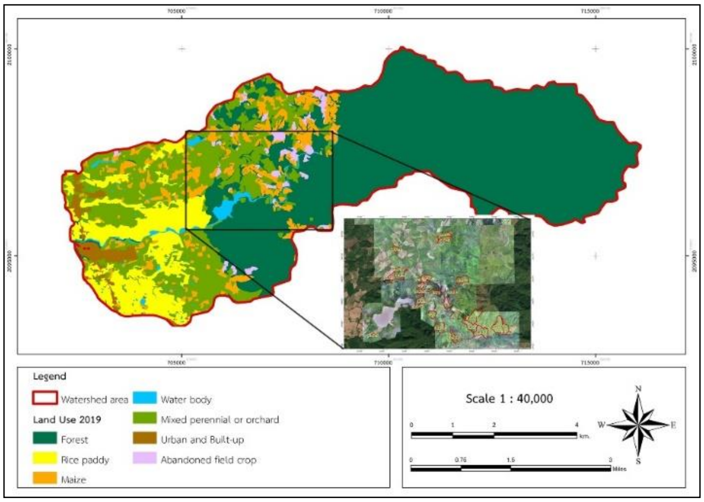

Figure 4. Land use map of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan province in 2019 classified by remote sensing technique

ผลการประเมินค่าความถูกต้องของการจำแนกชนิดการใช้ประโยชน์ที่ดิน (classification accuracy assessment) ของลุ่มน้ำยาง โดยใช้จุดสำรวจภาคสนาม (ground truth) จำนวน 270 จุด ปี พ.ศ. 2559 แสดงใน Table 2 แสดงผลการประเมินค่าความถูกต้องของการจำแนกชนิดการใช้ประโยชน์ที่ดิน พบว่า ค่าความถูกต้องรวม (overall accuracy) เท่ากับร้อยละ 93.7 ค่า Overall Kappa Statistics เท่ากับร้อยละ 92.4 และ ปี พ.ศ. 2562 แสดงใน Table 3 แสดงผลการประเมินค่าความถูกต้องของการจำแนกชนิดการใช้ประโยชน์ที่ดิน พบว่า ค่าความถูกต้องรวม (overall accuracy) เท่ากับร้อยละ 94.8 ค่า Overall Kappa Statistics เท่ากับร้อยละ 93.8

Table 2. Accuracy statistics of the classified land use of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan province in 2016

	Classified data 2016	Ground truth A101	A200	A202	A301 / A401	F	U	W	Total	UA %
Classification	A101	47	0	3	0	0	3	0	53	88.7
	A200	0	13	0	0	0	0	0	13	100.0
	A202	3	1	46	0	0	0	0	50	92.0
	A301/A401	0	1	0	60	4	0	0	65	92.3
	F	0	0	1	0	35	0	0	36	97.2
	U	0	0	0	0	0	27	0	27	100.0
	W	0	0	0	0	1	0	25	26	96.2
	Total	50	15	50	60	40	30	25	270	*Overall accuracy = 93.7 %*
	PA %	94.0	86.7	92.0	100.0	87.5	90.0	100.0		*Overall Kappa Statistics = 92.4 %*

A101 : Rice paddy, A200 : Abandoned field crop, A202 : Maize, A301 / A401 : Mixed perennial or orchard, F : Forest, U : Urban and Built - up, W : Water body

Table 3. Accuracy statistics of the classified land use of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan province in 2019

	Classified data 2019	Ground truth A101	A200	A202	A301 / A401	F	U	W	Total	UA %
Classification	A101	48	0	0	0	0	0	2	50	96.0
	A200	0	13	1	0	1	0	0	15	86.7
	A202	2	1	47	1	0	0	0	51	92.2
	A301/A401	0	1	2	59	1	2	0	65	90.8
	F	0	0	0	0	38	0	0	38	100.0
	U	0	0	0	0	0	28	0	28	100.0
	W	0	0	0	0	0	0	23	23	100.0
	Total	50	15	50	60	40	30	25	270	*Overall accuracy = 94.8 %*
	PA %	96.0	86.7	94.0	98.3	95.0	93.3	92.0		*Overall Kappa Statistics = 93.8 %*

A101 : Rice paddy, A200 : Abandoned field crop, A202 : Maize, A301 / A401 : Mixed perennial or orchard, F : Forest, U : Urban and Built - up, W: Water body

ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดิน

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินของลุ่มน้ำยาง (Table 4) พบว่า ชนิดการใช้ประโยชน์ที่ดินที่มีสัดส่วนเพิ่มขึ้น ประกอบด้วย พื้นที่ป่าไม้ (F) พื้นที่ไม้ยืนต้นผสมหรือไม้ผลผสม (A301 / A401) พื้นที่ไร่ร้าง (A200) พื้นที่แหล่งน้ำ (W) และพื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง (U) เพิ่มขึ้นร้อยละ 31.3, 11.9, 5.1, 1.6 และ 0.1 ตามลำดับ ชนิดการใช้ประโยชน์ที่ดินที่มีสัดส่วนลดลง ประกอบด้วย พื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (A202) และพื้นที่นาข้าว (A101) ลดลงร้อยละ 43.7 และ 6.3 ตามลำดับ โดยพื้นที่ที่มีสัดส่วนการเปลี่ยนแปลงลดลงมากที่สุด คือ พื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (A202) จำนวน 2,858.8 ไร่ เปลี่ยนแปลงเป็นพื้นที่ป่าไม้ (F) จำนวน 1,974.4 ไร่; พื้นที่ไม้ยืนต้นผสมหรือไม้ผลผสม (A301 / A401) จำนวน 1,010.8 ไร่; พื้นที่ไร่ร้าง (A200) จำนวน 400.7 ไร่; พื้นที่นาข้าว (A101) จำนวน 25.5 ไร่; พื้นที่แหล่งน้ำ (W) จำนวน 19.5 ไร่ และพื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง (U) จำนวน 4.3 ไร่ พื้นที่ที่มีสัดส่วนการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ พื้นที่ป่าไม้ (F) จำนวน 2,047.1 ไร่ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (A202) จำนวน 1,974.4 ไร่ พื้นที่ไม้ยืนต้นผสมหรือไม้ผลผสม (A301 / A401) จำนวน 147.6 ไร่ พื้นที่ไร่ร้าง (A200) จำนวน 102.3 ไร่ พื้นที่แหล่งน้ำ (W) จำนวน 21.2 ไร่ พื้นที่นาข้าว (A101) จำนวน 14.0 ไร่ และพื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง (U) จำนวน 6.4 ไร่

อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินของลุ่มน้ำยาง ทำให้ทราบได้ว่า พื้นที่การใช้ประโยชน์ที่ดินที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างปี พ.ศ. 2559 และ พ.ศ. 2562 ประกอบด้วย พื้นที่ป่าไม้ (F) จำนวน 14,704.0 ไร่ พื้นที่ไม้ยืนต้นผสมหรือไม้ผลผสม (A301 / A401) จำนวน 4,166.7 ไร่ พื้นที่นาข้าว (A101) จำนวน 2,789.5 ไร่ พื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (A202) จำนวน 1,531.3 ไร่ พื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง (U) จำนวน 496.0 ไร่ พื้นที่แหล่งน้ำ (W) จำนวน 234.9 ไร่ และพื้นที่ไร่ร้าง (A200) จำนวน 2.9 ไร่

Table 4. Land use change transition matrix of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan province in 2016 and 2019

LU classes in 2016	LU classes in 2019 (rai)							Total 2016 rai (%)
	A101	A200	A202	A301 / A401	F	U	W	
A101	2,789.5	-	142.4	324.0	14.0	61.0	54.9	3,385.7 (11.6)
A200	-	2.9	14.2	21.8	102.3	0.2	0.3	141.7 (0.5)
A202	25.5	400.7	1,531.3	1,010.8	1,974.4	4.3	19.5	4,966.4 (17.0)
A301/A401	100.4	30.1	380.7	4,166.7	147.6	49.3	60.4	4,935.2 (16.9)
F	7.2	39.3	29.9	106.4	14,704.0	1.5	34.5	14,922.8 (51.0)
U	36.1	1.9	6.8	62.0	6.4	496.0	0.4	609.6 (2.1)
W	17.1	1.5	2.4	20.8	21.2	0.6	234.9	298.5 (1.0)
Total 2019 rai	2,975.8	476.4	2,107.6	5,712.4	16,969.9	612.9	404.9	29,259.9 (100.0)
(%)	*10.2*	*1.6*	*7.2*	*19.5*	*58.0*	*2.1*	*1.4*	
Area changes 2016 to 2019	- 409.9	+ 334.7	- 2,858.8	+ 777.2	+ 2,047.1	+ 3.3	+ 106.4	6,537.4
% changes 2016 to 2019	*- 6.3*	*+ 5.1*	*- 43.7*	*+ 11.9*	*+ 31.3*	*+ 0.1*	*+ 1.6*	*100.0*

A101 : Rice paddy, A200 : Abandoned field crop, A202 : Maize, A301 / A401 : Mixed perennial or orchard, F : Forest, U : Urban and Built - up, W : Water body

การบูรณากระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนกับเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ

ในขั้นตอนการสร้างกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนลุ่มน้ำยาง เพื่อหาแนวทางการพัฒนาพื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยการพัฒนาพื้นที่ด้วยไม้เศรษฐกิจผสมผสานตามหลักวนเกษตร ได้กำหนดให้มีสัดส่วนผสมผสานกัน ระหว่างไม้ผลยืนต้นและไม้ป่าเศรษฐกิจ ได้บูรณาการวิธีการร่วมกับเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ ด้วยการวิเคราะห์การประเมินคุณภาพที่ดิน (qualitative land evaluation) ด้วยหลักการของ FAO framework ประเมินทางกายภาพของที่ดินว่าเหมาะสมหรือไม่ ด้วยข้อมูลลักษณะภูมิประเทศ ความลาดชัน ขอบเขตการถือครองที่ดิน เพื่อประเมินลักษณะทางกายภาพของที่ดินว่ามีความเหมาะสมกับพืชที่ต้องการปลูกในพื้นที่อย่างไร โดยกำหนดให้พื้นที่ที่มีความลาดชันเท่ากับหรือมากกว่า 20 % ควรปลูกไม้ยืนต้นชนิดไม้ป่าต่าง ๆ เช่น ยางนา ตะเคียน หว้า และไผ่ เป็นต้น และพื้นที่ที่มีความลาดชันน้อยกว่า 20 % ถูกกำหนดให้ปลูกไม้ยืนต้นชนิดไม้ผลหรือไม้เศรษฐกิจที่สามารถสร้างรายได้และผลตอบแทนกลับสู่เกษตรกรเจ้าของแปลงภายในระยะเวลา 3 - 5 ปี เช่น อะโวคาโด กระท้อน ลองกอง เงาะ และมะม่วง เป็นต้น

กระบวนการมีส่วนร่วมเกษตรได้สร้างความมั่นใจให้กับตนเองและครอบครัว และปล่อยทิ้งพื้นที่ที่เคยปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ให้กลับคืนเป็นพื้นที่ป่าไม้และมีไม้ผลและไม้เศรษฐกิจผสมผสาน Figure 5 และ Figure 6 แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่บางส่วนของลุ่มน้ำยางในช่วงก่อนและหลังดำเนินการวิจัย

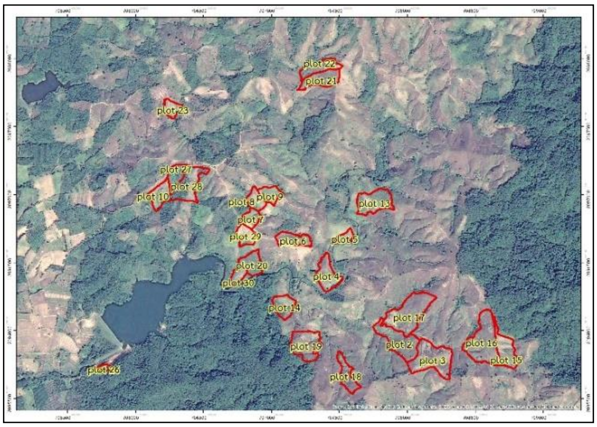

Figure 5. Land use change of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan Province in 2016

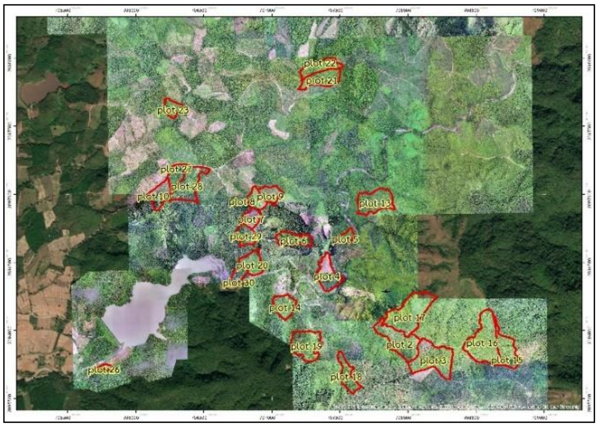

Figure 6. Land use change of Yang watershed, Pa Laew Luang sub - district, Santi Suk district, Nan Province in 2019

วิจารณ์ผล

การบูรณาการเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ พบว่า ในปี พ.ศ. 2559 ลุ่มน้ำยางมีพื้นที่ป่าไม้จำนวน 14,922.7 ไร่ และพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 4,966.4 ไร่ และกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนสามารถสร้างความตระหนักรู้ของเกษตรกรนำร่อง 17 ครัวเรือน กล้าปรับเปลี่ยนจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วย 2 ทางเลือก ได้แก่ (1) การพัฒนาพื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยไม้เศรษฐกิจผสมผสานตามหลักวนเกษตร และ (2) การพัฒนาพื้นที่เกษตรใกล้บ้านด้วยการผลิตพืชผักปลอดสารพิษและการเลี้ยงปลา ในกระบวนการอาชีพทางเลือกเหล่านี้ได้สร้างความมั่นใจให้กับครอบครัวของเกษตรกร และสามารถปล่อยทิ้งพื้นที่ที่เคยปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ให้กลับคืนเป็นพื้นที่ป่าไม้และมีไม้ผลและไม้เศรษฐกิจผสมผสานที่รอการเก็บผลผลิตในอนาคตอันใกล้ อย่างไรก็ตาม ในการวิจัยเชิงสำรวจของกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนอย่างต่อเนื่องยังพบว่า นอกจากเกษตรกรนำร่องในโครงการวิจัยฯ แล้ว ยังมีเกษตรรายอื่น ๆ จำนวนมากที่ได้รับผลกระทบจากราคาขายผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตกต่ำในปี พ.ศ. 2560 จากราคา 7.1 บาทต่อกิโลกรัม เหลือเพียง 5.8 บาทต่อกิโลกรัม (Bank of Thailand, 2019) ซึ่งสามารถตระหนักรู้ถึงวิธีการปรับเปลี่ยนการใช้ประโยชน์ที่ดินเพื่อเลิกปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และทำตามแนวทางอาชีพทางเลือกจากโครงการวิจัยฯ ทำให้พื้นที่ป่าไม้ของลุ่มน้ำยางได้ขยายเพิ่มขึ้นมาอีกโดยอ้อม ซึ่งในปี พ.ศ. 2562 โครงการวิจัยฯ ทำการวิเคราะห์การใช้ประโยชน์ที่ดินอีกครั้ง พบว่า พื้นที่ป่าไม้ขยายเพิ่มขึ้นเป็น 16,969.9 ไร่ และพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงเหลือ 2,107.6 ไร่ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Rakpanan (2019) ที่กล่าวว่า พื้นที่ปลูกพืชไร่และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บนที่สูงในพื้นที่ตำบลป่าแลวหลวง มีแนวโน้มลดลงโดยที่ในปี พ.ศ. 2560 พบว่า คงเหลือจำนวน 24,884.0 ไร่ ในปี พ.ศ. 2562 ลดลง 3,688.0 ไร่ คงเหลือจำนวน 21,196.0 ไร่

ในปัจจุบันเกษตรกรในพื้นที่ลุ่มน้ำยางได้รวมกลุ่มกันเพื่อจดทะเบียนวิสาหกิจชุมชนตามพระราชบัญญัติส่งเสริมวิสาหกิจชุมชนในชื่อ “วิสาหกิจชุมชนบ้านป่าแลวผักดี๊ดี” เพื่อเป็นหลักฐานเอกสารแสดงความเชื่อมั่นว่ากลุ่มปลูกผักมีการดำเนินกิจกรรมในเชิงธุรกิจที่สามารถสร้างรายได้ให้กับตนเองและชุมชน และมีวัตถุประสงค์ต่อยอดจากโครงการวิจัยฯ เพื่อพัฒนาอาชีพทางเลือกให้หลากหลายขึ้น เป็นการสร้างรายได้เสริมให้กับสมาชิกของกลุ่ม ส่งเสริมการเกษตรกรรมแบบประณีต ลดพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพื่อปล่อยให้ฟื้นคืนเป็นพื้นที่ป่าไม้ เป็นต้น ทำให้ศักยภาพด้านการตลาดของกลุ่มวิสาหกิจชุมชน ในปี พ.ศ. 2562 สามารถสร้างรายได้หมุนเวียนมากกว่า 1,500,000 บาท ซึ่งมาจากการสร้างรายได้หลายส่วน คือ จากผลผลิตพืชผักปลอดสารพิษ ผลไม้ สัตว์เลี้ยง และรายได้เสริมอื่น ๆ เป็นต้น

สรุป

การใช้ระบบภูมิสารสนเทศวิเคราะห์ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินของลุ่มน้ำยาง ตำบลป่าแลวหลวง อำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน จากอดีต (ปี พ.ศ.2559) และในปัจจุบัน (ปี พ.ศ.2562) ร่วมกับการบูรณาการกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน ทำให้เกิดข้อมูลและสารสนเทศที่สามารถสร้างความตระหนักรู้ให้แก่สมาชิกในชุมชนต่อสถานการณ์และปัญหาของทรัพยากรและพื้นที่ป่าไม้ของชุมชนที่กำลังเสียหายอย่างมาก ส่งผลให้เกิดความร่วมมือในการออกแบบอาชีพทางเลือกใหม่ในภาคการเกษตรร่วมกันในชุมชนด้วยการพัฒนาพื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยไม้เศรษฐกิจผสมผสานตามหลักวนเกษตร และการพัฒนาพื้นที่เกษตรใกล้บ้านด้วยการผลิตพืชผักปลอดสารพิษและการเลี้ยงปลา ทำให้เกษตรกรมีอาชีพทางเลือกที่ดีกว่า ไม่กลับไปปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บนพื้นที่สูงในลุ่มน้ำยางอีกต่อไป เกิดการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีต่อทรัพยากรป่าไม้ของชุมชน ทำให้ได้พื้นที่ป่าไม้กลับคืนเพิ่มมากขึ้น นำไปสู่ความยั่งยืนของทรัพยากรป่าไม้ในพื้นที่ชุมชน ตลอดจนเกษตรกรมีรายได้ที่ดีขึ้น มีเวลาให้กับครอบครัว สังคม และชุมชนของตนเองเพิ่มมากขึ้น เกิดความมั่นคงและมั่นใจให้กับตนเอง ครอบครัว และชุมชน ทั้งในด้านจิตใจ สุขภาพ สุขภาวะ ทรัพยากรและ

สิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นต้นแบบในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ที่ดินเพื่อเพิ่มพื้นที่ป่าไม้ด้วยการสร้างอาชีพทางเลือก โดยสามารถประยุกต์ใช้กับลุ่มน้ำขนาดเล็กอื่น ๆ ได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนแก่โครงการวิจัยนี้ และขอขอบคุณกลุ่มเกษตรกรในพื้นที่ลุ่มน้ำยางที่ให้ความเชื่อมั่นและให้ความร่วมมือด้วยดีตลอดระยะเวลาการวิจัย ขอขอบคุณคุณณัฐพล พรมคำ แกนนำเกษตรกรชุมชนบ้านป่าแลว ที่ได้นำกลุ่มเกษตรกรร่วมโครงการวิจัยฯ ตลอดจนเป็นผู้นำในการรวบรวมผลผลิตทางการเกษตรของกลุ่มที่ผลิตไปสู่ตลาดและดำเนินการจดทะเบียนวิสาหกิจชุมชนโดยมีวัตถุประสงค์ต่อยอดจากโครงการวิจัยฯ

เอกสารอ้างอิง

Bank of Thailand. 2019. Agricultural production index and agricultural price index of the northern region. (Online). Available: https://www.bot.or.th/App/BTWS_STAT/statistics/ReportPage.aspx?reportID=491&language=th (April 4, 2021). (in Thai)

Center for Conflict Studies and Cultural Diversity. 2019. Survey research concept. (Online). Available: https://cscd.psu.ac.th/en/node/208 (March 25, 2021). (in Thai)

Geo-Informatics and Space Technology Development Agency (Public Organization) 2009. Space Technology and Geo-Informatics. Amarin Printing and Publishing PCL, Bangkok. 356 p. (in Thai)

Land Development Department. 2009. Land use classification. Office of Soil Survey and Land Use Planning. Land Development Department, Bangkok. 6 p. (in Thai)

Namburi, S. 2019. Participation theory in public administration. The Journal of Research and Academics 2(1): 183-197. (in Thai)

Rakpanan. 2019. Forest pocket book. (Online). Available: https://www.rakpanan.org/Pocketbook/Pages/AmphurDetail.aspx?e1=11 (March 25, 2021). (in Thai)

Ratchathawan, R., T. Kaewkrajok, W. Jongkatekit, P. Phromkaew, D. Sumdangsan and D. Thonglert. 2018. The community participation process in well-being development. Journal of Southern Technology (11)1: 231-238. (in Thai)

Royal Forest Department. 2018. Project of the forest data and area situation, 2016 - 2017. Forest Land Management Office, Bangkok. 306 p. (in Thai)

Royal Forest Department. 2019. Forest land assessment by province. Center of Information Technology and Communication Royal Forest Department. (Online). Available: http://forestinfo.forest.go.th/Content.aspx?id=9 (May 15, 2021). (in Thai)

Trisurat, Y., H. Shirakawa and J.M. Johnston. 2019. Land-use and land-cover change from socio-economic drivers and their impacts on biodiversity in Nan province, Thailand. Sustainability 11(3): 649, doi: 10.3390/su11030649.

การตอบสนองของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ต่อ
ปุ๋ยสังกะสีและทองแดงในดินนาต่างชนิด

Responses of Khao Dawk Mali 105 Rice to Zinc and Copper Fertilizers in Different Paddy Soils

ณัฐวดี อยู่เจริญกิจ ศุภิฌา ธนะจิตต์ * และ สมชัย อนุสนธิ์พรเพิ่ม
Nuttawadee Yoojaroenkit, Suphicha Thanachit * and Somchai Anusontpornperm

ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ 10900
Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900
**Corresponding author: Email: agrspc@ku.ac.th*

(Received: 8 July 2021; Accepted: 21 September 2021)

Abstract: Representative paddy soils in Thung Kula Ronghai, namely, Tha Tum, Roi-et and Ubon soils series were selected for greenhouse study on the response of Khao Dawk Mali 105 (KDML 105) rice to different rates of zinc (Zn) (0, 0.5, 1, 2 and 4 mg/kg of Zn) and copper (Cu) (0, 0.3, 0.6, 1.2 and 2.4 mg/kg of Cu). Results revealed that the application of Zn or Cu had no effect on straw dry weight and grain weight. Zinc significantly stimulated panicle initiation and rice height of which the addition of Zn at all rates increased plant height in Ubon soil series and the greatest height was from the pot added with 1 mg/kg of Zn while the rates of 2 and 4 mg/kg induced similar result in Roi-et soil series (162 - 165 cm). In these two soils, the rice initiated the panicle earliest only 79.3 and 83.7 days after transplanting when applied with 4 mg/kg. Copper decreased plant height except in Tha Tum soil series that all rates of applied Cu, with the exception of 1.2 mg/kg of Cu, similarly promoted the values of plant height (162 - 167 cm) and number of filled-grain (76.3 - 80.0 %). Moreover, Cu applied at rate 2.4 mg/kg significantly increased number of filled-grain in Ubon soil series (81.7 %) which increased the panicle number of rice in Roi-et soil series similarly to that applied with the rate of 0.3 mg/kg (12.33 - 11.30 panicle/pot).

Keywords: Micronutrient, plant nutrient management, sodic soils, medium texture soils, jasmine rice

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: คัดเลือกดินนาตัวแทนในพื้นที่ทุ่งกุลาร้องไห้ ประกอบด้วย ชุดดินท่าตูม ชุดดินร้อยเอ็ด และชุดดินอุบล มาปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในโรงเรือนเพื่อศึกษาการตอบสนองต่อสังกะสีหรือทองแดงในอัตราที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0, 0.5, 1, 2 และ 4 มิลลิกรัมสังกะสีต่อกิโลกรัม หรือ 0, 0.3, 0.6, 1.2 และ 2.4 มิลลิกรัมทองแดงต่อกิโลกรัม พบว่า การใส่สังกะสีหรือทองแดงต่างไม่มีผลต่อน้ำหนักตอซังแห้งและน้ำหนักเมล็ด แต่สังกะสีจะเร่งการออกรวงและเพิ่มความสูงของข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใส่สังกะสีในทุกอัตราให้ความสูงของข้าวในชุดดินอุบลเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดเมื่อใส่อัตรา 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขณะที่การใส่ในอัตรา 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้ความสูงข้าวในชุดดินร้อยเอ็ดสูงสุดไม่ต่างกัน (162 - 165 เซนติเมตร) และข้าวที่ปลูกในดินทั้งสองจะออกรวงเร็วที่สุดเพียง 79.3 และ 83.7 วันหลังปักดำเมื่อใส่สังกะสีในอัตรา 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนทองแดงทำให้ความสูงของข้าวลดลงยกเว้นในชุดดินท่าตูมที่การใส่ทองแดงในทุกอัตราให้ความสูง (162 - 167 เซนติเมตร) และจำนวนเมล็ดดี (ร้อยละ 76.3 - 80.0) ของข้าวเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันยกเว้นในอัตรา 1.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ การใส่ทองแดงอัตรา 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้จำนวนเมล็ดดีในชุดดินอุบลสูงสุด (ร้อยละ 81.7) และเพิ่มจำนวนรวงข้าวในชุดดินร้อยเอ็ดได้สูงสุดไม่แตกต่างจากการใส่ในอัตรา 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (11.3 - 12.3 รวงต่อกระถาง)

คำสำคัญ: จุลธาตุอาหาร การจัดการธาตุอาหารพืช ดินโซดิก ดินเนื้อปานกลาง ข้าวหอมมะลิ

คำนำ

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวหอมมะลิที่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ เนื่องจากมีเมล็ดข้าวสารขาวใส ท้องไข่น้อย สวยแกร่ง เมื่อหุงสุกจะได้ข้าวที่มีความเลื่อมมัน เหนียวนุ่มและมีกลิ่นหอม โดยพื้นที่กุลาร้องไห้ซึ่งครอบคลุมจังหวัดร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ สุรินทร์ ยโสธร และมหาสารคามเป็นแหล่งผลิตข้าวที่เป็นที่ยอมรับว่ามีคุณภาพเป็นอันดับหนึ่งของประเทศ (Yoshihashi *et al*., 2002) ซึ่งดินส่วนใหญ่เป็นดินนาดอนที่มีเนื้อดินค่อนข้างหยาบถึงปานกลาง รวมถึงดินที่ได้รับอิทธิพลของเกลือ เช่น ชุดดินอุบล ชุดดินท่าตูม ชุดดินร้อยเอ็ด ชุดดินกุลาร้องไห้ ชุดดินโคราช ชุดดินอ้น ชุดดินเรณู (Norasing *et al*., 2017) จึงมักไม่มีแหล่งที่ให้จุลธาตุอาหารรวมถึงสังกะสีและทองแดงจึงอาจทำให้ไม่เพียงพอสำหรับข้าว โดยเฉพาะสังกะสีที่มีการรายงานว่าเป็นปัญหาหลักของข้าวที่ปลูกในเอเชียรวมถึงในประเทศไทย (Alloway, 2008; Haefele *et al*., 2006) เนื่องจากสังกะสีและทองแดงถูกตรึงกับอนุภาคดินหรือรวมตัวเป็นสารประกอบในดินเมื่อมีการขังน้ำเป็นระยะเวลานานทำให้ความเป็นประโยชน์ต่อพืชลดลง (Alloway, 2008; Kabata-Pendias and Pendias, 2001) สังกะสีและทองแดงมีบทบาทต่อพืชคล้ายคลึงกันโดยทำหน้าที่ในการสร้างคลอโรฟิลล์เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสงและกระตุ้นเอนไซม์ในกระบวนการเมทาบอลิซึม โดยทองแดงเป็นองค์ประกอบในคลอโรพลาสต์และพลาสโทไซยานิน (Mortvedt *et al*., 1972) ส่วนสังกะสียังมีบทบาทในการแบ่งเซลล์และสังเคราะห์โปรตีน และรักษาสมดุลของ CO_2 ให้เพียงพอต่อการสังเคราะห์แสง (Hafeez *et al*., 2013) หากข้าวได้รับทองแดงและสังกะสีไม่เพียงพอจะทำให้สังเคราะห์แสงลดลง ชะงักการเจริญเติบโต และแตกกอลดลงโดยอาการขาดสังกะสีจะพบเส้นกลางใบของใบอ่อนเป็นสีเขียวจางโดยเฉพาะที่โคนใบ มีแผลเป็นจุดหรือขีดสีน้ำตาล ส่วนอาการขาดทองแดงใบจะมีสีขาวแกมน้ำเงิน ใบที่เกิดใหม่จะม้วน ไม่ค่อยคลาย มีลักษณะเรียวเหมือนเข็ม (Cox and Wear, 1977; Dobermann and Fairhurst, 2000; Fageria, 2014) การใส่ปุ๋ยสังกะสีหรือทองแดงสามารถเพิ่มผลผลิตข้าวได้ดังแสดงในการศึกษาของ Zayed *et al*. (2011) ที่พบว่า การใส่สังกะสีอัตรา 3.8 กิโลกรัมต่อไร่เพิ่มผลผลิตของข้าวที่ปลูกในดินเค็มในทั้งสองปีที่ทำการทดลอง (740-770 เปรียบเทียบกับ 670 - 700 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อไม่มีการใส่สังกะสี) ส่วน Siddika *et al*. (2016) รายงานว่าการใส่สังกะสีอัตรา 0.16 กิโลกรัมต่อไร่ทำให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 720 เป็น

920 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งให้ผลผลิตไม่แตกต่างเมื่อใส่ร่วมกับทองแดงในอัตรา 0.32 กิโลกรัมต่อไร่ (980 กิโลกรัมต่อไร่) แต่ผลผลิตจะลดลงอย่างมีนัยทางสถิติเมื่อมีการใส่โบรอนร่วมด้วย Muthukumararaja and Sriramachandrasekharan (2012) พบว่า การใส่สังกะสีอัตรา 2.5 - 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถเพิ่มผลผลิตข้าวโดยจะให้ค่าสูงสุดไม่แตกต่างกันเมื่อใส่ในอัตรา 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเพิ่มขึ้นจากการไม่ใส่สังกะสีถึงร้อยละ 78 - 81 และ 130 - 135 เมื่อปลูกในดินในอันดับเวอร์ติซอลล์และอินเซปทิซอลล์ตามลำดับ อีกทั้งความเข้มข้นของสังกะสีในเมล็ดข้าว (32.4 - 46.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ยังเพิ่มขึ้นตามอัตราของสังกะสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจะช่วยส่งเสริมคุณภาพของเมล็ดข้าวโดยเฉพาะทางด้านโภชนาการ (Cakmak, 2008)

อย่างไรก็ตามงานทดลองของจุลธาตุอาหารสำหรับข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในประเทศไทยมีอยู่อย่างจำกัดและพบว่า ยังคงไม่มีข้อมูลปริมาณจุลธาตุอาหารที่เพียงพอโดยเฉพาะทองแดง ส่วนสังกะสีมีอยู่น้อยมากโดย Kunlanit *et al.* (2019) พบว่า การใส่สังกะสีอัตรา 1.1 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมีในอัตราแนะนำจะให้ผลผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างจากการใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว ขณะที่ Sukyankij *et al.* (2020) พบว่า การใส่ปุ๋ยสังกะสีในอัตราสูงถึง 2.0 เท่าของความจุสูงสุดการดูดซับสังกะสีในแต่ละดิน (10 - 168 mg Zn/kg) จะส่งผลเชิงลบต่อการเจริญเติบโตของข้าว ทั้งนี้ เนื่องจากข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวพื้นเมือง ไวแสง ไม่ตอบสนองต่อปุ๋ยเคมีที่ใส่เพิ่มเติมในเชิงผลผลิต (Haefele *et al.*, 2006) ข้าวจึงอาจตอบสนองต่อทองแดงหรือสังกะสีแตกต่างจากการทดลองก่อนหน้าที่ได้สืบค้นมาในข้าวพันธุ์อื่น ๆ การศึกษาครั้งนี้ศึกษาผลของปุ๋ยสังกะสีและทองแดงต่อปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารพืช ผลผลิตและคุณภาพของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินต่างชนิดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพื่อสร้างองค์ความรู้และให้ข้อมูลพื้นฐานที่มีความชัดเจนที่จะนำไปใช้ทดสอบในสนามต่อไปซึ่งจะเป็นประโยชน์เพื่อใช้ถ่ายทอดสู่เกษตรกรผู้ปลูกข้าวในภูมิภาคนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาการตอบสนองของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ต่อปุ๋ยสังกะสีและทองแดงได้ดำเนินการในชุดดินตัวแทน ซึ่งเป็นดินหลักที่ใช้ปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในพื้นที่ทุ่งกุลาร้องไห้อย่างแพร่หลายจำนวน 3 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดินร้อยเอ็ด (Re) ชุดดินท่าตูม (Tt) ชุดดินอุบล (Ub) ซึ่งดินเหล่านี้อยู่ในกลุ่มดินเนื้อปานกลางที่มีเนื้อดินบนเป็นดินร่วนปนทรายถึงดินร่วนปนทรายแป้ง ดินเป็นกรดจัดมากถึงกรดอ่อน (pH 4.48 - 6.35) และมีระดับความเค็มต่ำกว่า 2 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร จึงไม่เป็นอันตรายต่อพืชปลูก แต่ชุดดินท่าตูมและชุดดินร้อยเอ็ดเป็นดินโซดิกเนื่องจากมีอัตราส่วนการดูดซับโซเดียมสูงมากกว่า 13 ดินทั้งสามมีสมบัติคล้ายคลึงกันโดยมีความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนอยู่ระดับต่ำมาก (1.25 - 3.58 เซนติโมลต่อกิโลกรัม) และมีสังกะสีที่สกัดได้ (0.18 - 0.76 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ต่ำกว่าระดับวิกฤติ (Cox and Wear, 1977) แต่มีทองแดงที่สกัดได้ (0.35-0.79 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) สูงกว่าระดับวิกฤติ (Takker and Randhawa, 1978) (Table 1)

ในแต่ละชุดดินทำการปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในโรงเรือนทดลองในระหว่างเดือนกรกฎาคม - ธันวาคม พ.ศ. 2561 จากปริมาณสังกะสีและทองแดงในสารละลายธาตุอาหารสำหรับข้าว (Yoshida *et al.*, 1976) ซึ่งเทียบเท่ากับ 1 มิลลิกรัมสังกะสีต่อกิโลกรัม และ 0.6 มิลลิกรัมทองแดงต่อกิโลกรัม การศึกษาครั้งนี้ จึงเลือกใช้อัตราข้างต้นมาทดสอบ และปรับให้แตกต่างกันจำนวน 5 อัตราโดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ 1) การใส่สังกะสีในอัตรา 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 2) การใส่ทองแดงในอัตรา 0, 0.3, 0.6, 1.2 และ 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ จำนวน 3 ซ้ำ ใช้ดินหนัก 10 กิโลกรัมต่อกระถาง ใส่น้ำกลั่น ตีดินให้แตกละเอียด ปักดำกล้าข้าวอายุ 14 วัน จำนวน 3 ต้นต่อกระถาง รักษาระดับน้ำให้สูง 5 เซนติเมตร จากผิวดินตลอดระยะเวลาการทดลองโดยใช้น้ำกลั่น และในทุกตำรับการทดลองมีการเติมธาตุอาหารอื่น ๆ นอกเหนือจากธาตุที่ทำการศึกษาในอัตราที่พอเพียง (Table 2) โดยทำ

Table 1. Property of Tha Tum (Tt), Roi-et (Re) and Ubon (Ub) soil series prior to conducting the experiment

Soil Properties	Tt	Re	Ub
Texture class	Silt loam	Sandy loam	Sandy loam
Soil pH (1 : 1 H_2O)	5.54	4.48	6.35
ECe[1] (dS/m)	0.19	0.97	0.27
CEC[2] ($cmol_c$/kg)	1.75	3.58	1.25
SAR[3]	20.8	34.0	12.0
Organic matter[4] (g/kg)	9.61	5.49	6.18
Available P[5] (mg/kg)	4.00	2.88	5.38
Exchangeable K[6] (mg/kg)	49.1	65.9	24.6
Exchangeable Ca[6] (mg/kg)	475	378	265
Exchangeable Mg[6] (mg/kg)	34.6	39.7	37.9
Exchangeable Na[6] (mg/kg)	85.8	112	98.8
Extractable Zn[7,8] (mg/kg)	0.18	0.22	0.76
Extractable Cu[7,8] (mg/kg)	0.79	0.35	0.38

[1]ECe = electrical conductivity (saturated plate method); [2]CEC = cation exchange capacity (1M NH_4OAc at pH 7.0 method); [3]SAR = sodium adsorption ratio; [4]Walkley and Black; [5]Bray II; [6]1M NH_4OAc at pH 7.0 extraction; [7]DTPA extraction; [8]Critical levels of DTPA extracted Zn and Cu in soils are 0.83 (Cox and Wear, 1977) and 0.2 mg kg^{-1} (Takker and Randhawa, 1978), respectively

Table 2. Application of fertilizer forms and rates into the pot experiment of KMDL 105 rice

Element	Fertilizer	Application rate (mg element/kg)									
		Zn experiment (mg Zn / kg)					Cu experiment (mg Cu / kg)				
		0	0.5	1.0	2.0	4.0	0	0.3	0.6	1.2	2.4
N	NH_4Cl	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
P	DAP	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
K	KCl	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49	1.49
Ca	$CaCl_2.2H_2O$	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97
Mg	$MgCl_2.6H_2O$	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21
S	K_2SO_4	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49
Fe	$FeCl_3.6H_2O$	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27
Mn	$MnCl_2.4H_2O$	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Zn	$ZnCl_2$	0.00	0.01	0.02	0.04	0.08	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Cu	$CuCl_2.2H_2O$	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.00	0.01	0.02	0.03	0.06
B	H_3BO_3	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Mo	$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

การใส่หลังปักดำข้าวไปแล้ว 7 วัน ยกเว้นไนโตรเจนที่แบ่งใส่ครั้งละเท่า ๆ กัน จำนวน 3 ครั้ง ได้แก่ 7 วันหลังปักข้าว ที่ระยะแตกกอและที่ระยะกำเนิดช่อดอก

การเก็บข้อมูลพืช ได้แก่ 1) บันทึกวันที่ออกดอกร้อยละ 50 2) ข้อมูลผลผลิตข้าวที่ระยะเก็บเกี่ยวหรือ 30 วันหลังออกดอก ได้แก่ ความสูง จำนวนรวง น้ำหนักแห้งตอซัง ผลผลิตเมล็ดและน้ำหนัก 100 เมล็ดที่ความชื้นร้อยละ 14 และจำนวนเมล็ดดี และ 3) ตัวอย่างพืชที่ระยะเก็บเกี่ยวเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในตัวอย่างข้าวทั้งต้นเพื่อคำนวณการดูดใช้ธาตุอาหารหลักของข้าว และในตัวอย่างพืชแบบแยกส่วนได้แก่ เมล็ดข้าวกล้อง และตอซังข้าว (รวมแกลบ) รวมถึงความเข้มข้นของสังกะสีและทองแดง และทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสังกะสีและเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องเพื่อประเมินคุณภาพเชิงโภชนาการของข้าว การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติประกอบด้วย 1) การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (One-way ANOVA) ถึงผลของปุ๋ยสังกะสี หรือ ทองแดงที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตข้าวในแต่ละชุดดิน พร้อมทั้งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 2) การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสังกะสีและทองแดงในเนื้อเยื่อพืชกับผลผลิตเมล็ดและตอซังสัมพัทธ์ของข้าวโดยใช้ partial correlation analysis

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

การใส่ปุ๋ยสังกะสีในอัตราที่แตกต่างกันส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวแต่ไม่มีผลต่อผลผลิตทางด้านน้ำหนักตอซังแห้ง (29.4 - 40.9 กรัมต่อกระถาง) รวมทั้งน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้นร้อยละ 14 (12.4 - 24.3 กรัมต่อกระถาง) (Table 3) การใส่ปุ๋ยสังกะสีทำให้ข้าวออกดอกเร็วขึ้นโดยการใส่อัตรา 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้ข้าวที่ปลูกในชุดดินร้อยเอ็ดและชุดดินอุบลออกดอกเร็วที่สุดเท่ากับ 79.3 และ 83.7 วันหลังปักดำตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างอย่างชัดเจนจากการใส่อัตรา 0.5 มิลลิกรัมสังกะสีต่อกิโลกรัม ส่วนการใส่สังกะสี 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้ข้าวออกดอกไม่แตกต่างกันและเร็วกว่าตำรับควบคุมอย่างไม่ชัดเจนในชุดดินอุบล (85.7 - 87.7 เปรียบเทียบกับ 90 วันหลังปักดำ) แต่ช้ากว่าตำรับควบคุมอย่างไม่ชัดเจนในชุดดินร้อยเอ็ด (83.0 - 83.3 เปรียบเทียบกับ 82.0 วันหลังปักดำ) เนื่องจากมีรายงานว่าการได้รับสังกะสีไม่เพียงพอมีส่วนในการยืดช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยวพืชออกไป (Hafeez *et al*., 2013; Pandey *et al*., 2006) นอกจากนี้สังกะสีทำให้ความสูงของข้าวในชุดดินร้อยเอ็ดเพิ่มขึ้นเมื่อทำการใส่ในอัตรา 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ให้ความสูงของข้าวสูงสุดไม่แตกต่างกัน (162 - 165 เซนติเมตร) เช่นเดียวกับในชุดดินอุบลที่การใส่ในอัตราสูง 1 ถึง 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้ความสูงของข้าวเพิ่มขึ้น (129 - 134 เซนติเมตร) โดยมีค่าสูงสุดเมื่อใส่อัตรา 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นความสูงจะลดลงตามอัตราของสังกะสีที่เพิ่มขึ้นทางสถิติ (Table 3) ถึงแม้ว่าดินที่ทำการศึกษาทั้งสามชุดดินมีปริมาณสังกะสีที่สกัดได้ต่ำกว่าระดับระดับวิกฤติ (Table 1) โดยเฉพาะชุดดินท่าตูมที่มีสังกะสีที่สกัดได้ต่ำที่สุดเพียง 0.18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่กลับไม่พบการตอบสนองของข้าวอย่างชัดเจนต่อปุ๋ยสังกะสี แสดงให้เห็นว่าอัตราที่ใช้ในการศึกษาอาจยังไม่เพียงพอกับความต้องการของข้าว สอดคล้องกับการศึกษาของ Muthukumararaja and Sriramachandrasekharan (2012) ที่ผลผลิตของข้าวที่ปลูกในดินในอันดับเวอร์-ติซอลส์ (42.3 - 43.0 เปรียบเทียบกับ 23.8 กรัมต่อกระถาง) และอินเซปทิซอลส์ (31.4 - 32.1 เปรียบเทียบกับ 13.7 กรัมต่อกระถาง) จะสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใส่สังกะสีในอัตรา 5.0 - 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ดินที่ทำการศึกษาทั้งสามชุดดินมีปริมาณทองแดงที่สกัดได้สูงกว่าระดับระดับวิกฤติ (Table 1) โดยเฉพาะชุดดินท่าตูม แต่ข้าวที่ปลูกยังแสดงการตอบสนองต่อปุ๋ยทองแดงในระดับหนึ่งอาจเป็นผลมาจากสภาพการขังน้ำที่ทำให้ลดการละลายของทองแดงทำให้ความเป็นประโยชน์ต่อพืชลดลง (Kabata-Pendias and Pendias, 2001) ถึงแม้ว่าการใส่ปุ๋ยทองแดงในอัตราที่แตกต่างกันจะไม่มีผลต่อผลผลิตทางด้านน้ำหนัก

Table 3. Effect of Zn fertilizer rates on yield and yield components of KDML 105 rice grown in Tha Tum (Tt), Roi-et (Re) and Ubon (Ub) soil series

Zn rate (mg/kg)	50% Flowering day (DAT)			Plant height (cm)			Dry straw wt. (g/pot)			Grain yield (g/pot)		
	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub
0	80.3	82.0^{ab}	90.0^{a}	163	155^{b}	125^{c}	40.9	32.8	30.6	24.3	17.9	11.8
0.5	80.7	79.7^{bc}	83.3^{b}	165	155^{b}	126^{c}	35.5	35.3	29.4	17.4	14.2	12.4
1.0	80.7	82.3^{a}	85.7^{ab}	162	156^{b}	134^{a}	39.2	35.0	31.5	19.0	15.9	16.1
2.0	82.3	83.0^{a}	87.7^{ab}	159	162^{a}	132^{ab}	38.9	36.5	30.1	20.7	17.7	14.8
4.0	84.7	79.3^{c}	83.7^{b}	161	162^{a}	129^{bc}	40.0	33.2	32.5	19.8	14.8	16.8
F-test	ns	*	*	ns	*	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	4.1	1.6	2.8	1.9	1.7	1.8	13.2	6.2	6.5	19.5	10.9	20.1

Zn rate (mg/kg)	Filled grain (%)			100-grain wt. (g)			Panicle (Panicle/pot)		
	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub
0	76.7	75.0	75.7	1.48	1.43	1.74	10.7	8.67	10.0
0.5	78.3	76.0	78.3	1.36	1.33	1.73	9.33	11.0	9.33
1.0	80.7	71.0	79.0	1.54	1.19	1.55	8.67	8.67	10.3
2.0	77.7	72.7	75.7	1.39	1.64	1.82	9.33	9.33	8.00
4.0	73.7	77.7	79.3	1.54	1.55	1.83	10.7	10.7	9.33
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	5.3	11.7	7.9	18.6	21.3	21.6	36.0	37.3	17.2

ns = non-significant; *,** significant at $P \leq 0.05$ and 0.01 respectively, different lowercase letters within column in the same soil series are significant difference at $P \leq 0.05$

ตอซังแห้ง (28.7 - 43.8 กรัมต่อกระถาง) น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้นร้อยละ 14 (14.4 - 26.1 กรัมต่อกระถาง) แต่เพิ่มจำนวนเมล็ดดีและส่งเสริมการเจริญเติบโตทางด้านความสูงและจำนวนรวงของข้าว (Table 4) โดยมีเพียงการใส่ทองแดงอัตรา 0.3 และ 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ทำให้จำนวนรวงของข้าวในชุดดินร้อยเอ็ดเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันโดยให้ค่าเท่ากับ 12.33 และ 11.3 รวงต่อกระถาง ตามลำดับ ขณะที่ในอัตราที่เหลือให้ค่าต่ำกว่าตำรับควบคุม (8.00 - 8.67 เปรียบเทียบกับ 10.67 รวงต่อกระถาง) อย่างไรก็ตามการใส่ทองแดงทำให้ความสูงของข้าวในชุดดินอุบล (124 - 126 เซนติเมตร) และร้อยเอ็ด (155 - 159 เซนติเมตร) ต่ำกว่าตำรับควบคุมทางสถิติ (129 และ 163 เซนติเมตร) โดยมีค่าต่ำสุดเมื่อใส่ในอัตรา 1.2 และ 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ยกเว้นในอัตรา 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ให้ความสูงของข้าวในชุดดินอุบลสูงที่สุดเท่ากับ 137 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่การใส่ทองแดงในทุกอัตราทำให้ความสูง (162 - 167 เซนติเมตร) และจำนวนเมล็ดดี (ร้อยละ 76.3 - 80.0) ของข้าวในชุดดินท่าตูมเพิ่มขึ้นสูงสุดไม่แตกต่างกัน ยกเว้นในอัตรา 1.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ให้ผลไม่แตกต่างจากตำรับควบคุมซึ่งมีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 155 - 156 เซนติเมตร และ ร้อยละ 66 - 70 ตามลำดับ มีเพียงการใส่ทองแดงในอัตรา 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ให้จำนวนเมล็ดดีในชุดดินอุบลสูงสุดเท่ากับร้อยละ

81.7 ส่วนในอัตราที่เหลือให้ค่าไม่แตกต่างจากตำรับควบคุม (ร้อยละ 64.0 - 69.3) เนื่องจากการได้รับทองแดงไม่เพียงพอจะมีผลให้เมล็ดข้าวฝ่อ (Dobermann and Fairhurst, 2000; Fageria, 2014)

โดยภาพรวมข้าวขาวดอกมะลิ 105 ตอบสนองต่อสังกะสีชัดเจนกว่าทองแดงให้ผลสอดคล้องกับ Siddika *et al.* (2016) ที่พบว่า สังกะสีเป็นจุลธาตุที่ให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นได้ดีกว่าจุลธาตุอื่น ๆ โดยเฉพาะเมื่อใส่ร่วมกับทองแดง แต่เมื่อใส่แมงกานีสและโบรอนร่วมด้วยกลับทำให้ผลผลิตข้าวลดลง ถึงแม้ว่าสังกะสีและทองแดงจะเกี่ยวข้องกับการสร้างคลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสงคล้ายคลึงกัน แต่สังกะสีจะส่งเสริมการสังเคราะห์โปรตีน มีบทบาทในการแบ่งเซลล์และการขยายข้อปล้อง (Hafeez *et al.*, 2013) ข้าวจึงโตเร็วขึ้นเมื่อได้รับสังกะสีเพียงพอ จุลธาตุทั้งสองส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวแต่เพิ่มผลผลิตข้าวได้ไม่ชัดเจนซึ่งให้สอดคล้องกับ Slation *et al.* (2005) ที่พบว่า การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของผลผลิตข้าวไม่ได้เป็นผลมาจากการใส่จุลธาตุอาหารเนื่องจากสังกะสีและทองแดงในดินจะละลายออกมาเป็นประโยชน์ต่อพืชเพิ่มขึ้นชั่วคราวหลังจากการขังน้ำ แต่การละลายจะลดลงเมื่อระยะเวลาการขังน้ำนานเพิ่มขึ้นเนื่องจากถูกตรึงกับอนุภาคดินหรือรวมตัวกับไอออนในดินเกิดเป็นสารประกอบที่ทำให้พืชไม่สามารถดูดใช้ได้ (Kabata-Pendias and Pendias, 2001)

Table 4. Effect of Cu fertilizer rates on yield and yield components of KDML 105 rice grown in Tha Tum (Tt), Roi-et (Re) and Ubon (Ub) soil series

Cu rate (mg/kg)	50% Flowering day (DAT)			Plant height (cm)			Dry straw wt. (g/pot)			Grain yield (g/pot)		
	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub
0	82.0	81.3	85.3	156^{b}	163^{a}	129^{b}	37.3	34.7	29.9	23.1	16.4	14.4
0.3	80.7	84.3	87.7	162^{a}	165^{a}	137^{a}	43.8	38.4	32.0	26.1	19.0	15.7
0.6	82.0	82.3	89.0	165^{a}	162^{a}	126^{bc}	42.1	36.2	29.5	21.2	18.9	14.7
1.2	80.7	83.3	86.7	155^{b}	159^{ab}	124^{c}	38.8	37.5	30.9	24.2	19.6	15.7
2.4	82.3	84.0	86.0	167^{a}	155^{c}	126^{bc}	40.9	36.7	28.7	23.8	17.1	15.4
F-test	ns	ns	ns	**	*	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% CV	3.3	2.0	3.8	1.6	2.1	2.2	10.2	3.7	13.3	16.5	12.7	11.4

Cu rate (mg/kg)	Filled grain (%)			100-grain wt. (g)			Panicle (Panicle/pot)		
0	70.0^{b}	75.3	64.0^{b}	1.86	0.98	1.64	7.67	10.7^{b}	8.67
0.3	76.3^{a}	76.3	68.3^{b}	1.69	1.25	1.92	9.00	12.3^{a}	9.67
0.6	79.0^{a}	83.0	69.3^{b}	1.76	1.96	2.05	8.67	8.7^{c}	9.67
1.2	66.0^{b}	75.0	66.7^{b}	1.89	1.44	2.29	11.3	8.0^{c}	9.00
2.4	80.0^{a}	74.0	81.7^{a}	1.88	1.44	1.86	10.7	11.3^{ab}	7.00
F-test	**	ns	**	ns	ns	ns	ns	**	ns
% CV	4.4	6.6	6.5	17.8	34.8	11.6	15.0	8.1	24.4

ns = non-significant; *,** significant at $P \leq 0.05$ and 0.01 respectively, different lowercase letters within column in the same soil series are significant difference at $P \leq 0.05$

2. ความเข้มข้นและการดูดใช้ธาตุอาหารหลักของข้าวขาวดอกมะลิ 105

การใส่ปุ๋ยสังกะสีทำให้ข้าวที่ปลูกในดินส่วนใหญ่สะสมธาตุอาหารหลักเพิ่มขึ้นยกเว้นข้าวที่ปลูกในชุดดินท่าตูมและอุบลที่มีการสะสมโพแทสเซียมในตอซังข้าวต่ำกว่าตำรับควบคุมทางสถิติ ส่วนการใส่ทองแดงในทุกอัตราไม่มีผลต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในเมล็ดข้าว แต่ทำให้ข้าวสะสมธาตุอาหารหลักในตอซังข้าวแตกต่างกัน (Figure 1) จากผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นว่าความแปรปรวนของความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในเนื้อเยื่อข้าวอาจไม่ใช่เป็นผลมาจากการใส่สังกะสีและทองแดง เนื่องจากไม่พบความสัมพันธ์กับอัตราปุ๋ยสังกะสีหรือทองแดงที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ความเข้มข้นของธาตุต่าง ๆ ที่ลดลงไม่มีผลต่อการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารจากส่วนรากสู่ส่วนเหนือดิน

การใส่สังกะสีส่งผลต่อการดูดใช้ธาตุอาหารหลักของข้าวชัดเจนมากกว่าการใส่ทองแดงเนื่องจากมีเพียงการดูดใช้โพแทสเซียมของข้าวในชุดดินอุบลที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อได้รับสังกะสีในอัตราที่แตกต่างกัน (Table 5) การใส่สังกะสีส่วนใหญ่ทำให้ข้าวดูดใช้ธาตุอาหารเพิ่มขึ้นยกเว้นการดูดใช้ไนโตรเจนของข้าวในชุดดินร้อยเอ็ด (65.9 - 83.1 มิลลิกรัมต่อกระถาง) และการดูดใช้โพแทสเซียมของข้าวในชุดดินท่าตูม (162 - 258 มิลลิกรัมต่อกระถาง) ที่มีค่าต่ำกว่าตำรับควบคุมทางสถิติ (90.4 และ 385 มิลลิกรัมต่อ

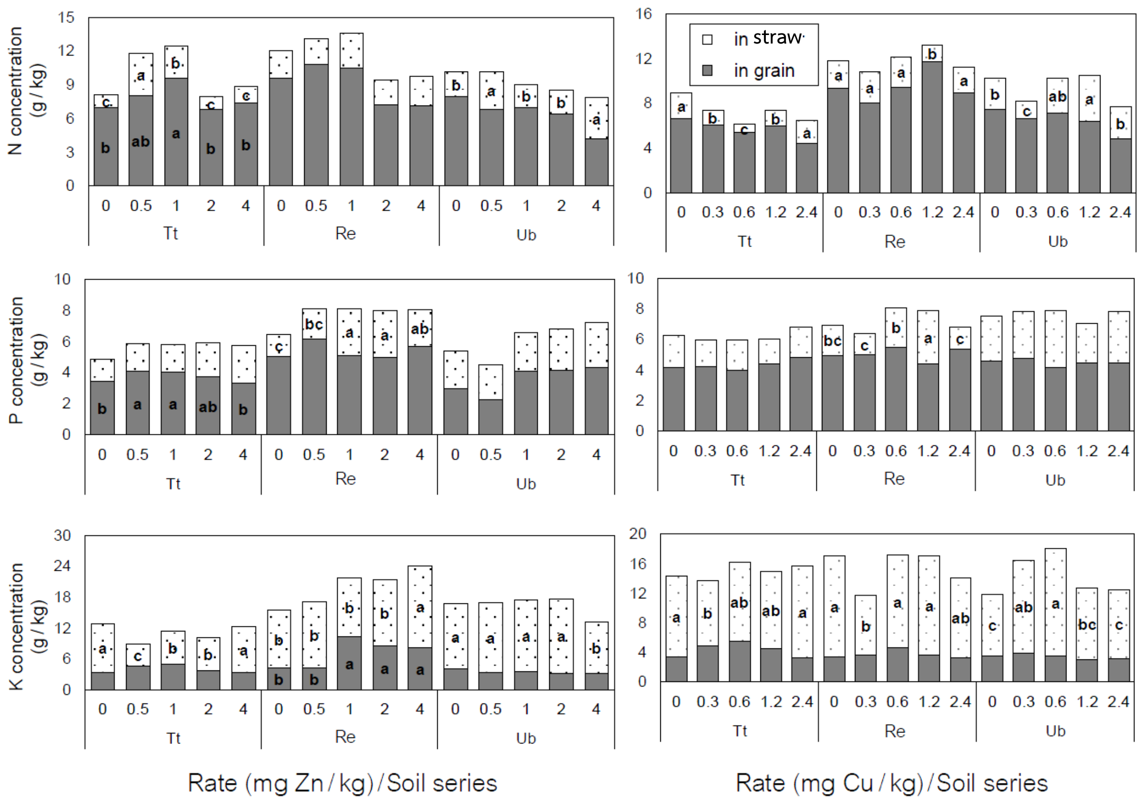

Figure 1. Primary nutrient concentrations in different plant parts of KDML 105 rice grown on Tha Tum (Tt), Roi-et (Re) and and Ubon (Ub) soil series as affected by Zn and Cu fertilizers. Different lowercase letters within the same bars grouped within the same soil are significant difference at $P \leq 0.05$

กระถาง) และมีต่ำที่สุดเมื่อใส่สังกะสีในอัตรา 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ขณะที่ข้าวชุดดินร้อยเอ็ดดูดใช้โพแทสเซียมเพิ่มขึ้นตามอัตราของสังกะสีที่เพิ่มขึ้นทางสถิติโดยให้ค่าอยู่ในพิสัย 403 - 572 เปรียบเทียบกับ 369 มิลลิกรัมต่อกระถาง นอกจากนี้การใส่สังกะสีในอัตรา 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทำให้ข้าวในดินนี้ดูดใช้ฟอสฟอรัสสูงสุดไม่ต่างกันอยู่ในพิสัย 110 - 114 มิลลิกรัมต่อกระถาง ส่วนอัตราที่เหลือให้ผลไม่แตกต่างจากควบคุม (47.1 - 57.2 มิลลิกรัมต่อกระถาง) การใส่สังกะสีในอัตราต่าง ๆ ทำให้ข้าวในชุดดินท่าตูมและชุดดินอุบลดูดใช้ไนโตรเจน (55.5 - 134 และ 116 - 118 มิลลิกรัมต่อกระถาง) และฟอสฟอรัส (60.0 - 86.1 และ 71.4 - 63.7 มิลลิกรัมต่อกระถาง) เพิ่มขึ้นจากตำรับควบคุมยกเว้นใส่สังกะสีในอัตรา 2 และ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ทำให้การดูดใช้ไนโตรเจนของข้าวในชุดดินท่าตูม (40.8 มิลลิกรัมต่อกระถาง) และการดูดใช้ฟอสฟอรัสข้าวในชุดดินอุบล (63.7 มิลลิกรัมต่อกระถาง) ลดลงจนมีค่าต่ำที่สุดตามลำดับ การที่ข้าวดูดใช้ธาตุอาหารหลักเพิ่มขึ้นเนื่องจากสังกะสีมีบทบาทต่อการสร้างคลอโรฟิลล์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงจึงส่งเสริมให้พืชดูดใช้ไนโตรเจนเพิ่มขึ้น (Hafeez *et al*., 2013; Mortvedt *et al*., 1972) ขณะที่สังกะสีและฟอสฟอรัสมีปฏิสัมพันธ์เชิงปฏิปักษ์ต่อกัน พืชมักดูดใช้ฟอสฟอรัสลดลงในดินที่มีสังกะสีสูง (Verma and Minhas, 1987) แต่ในดินกรดที่พีเอชดินต่ำกว่า 5.0 การใส่สังกะสีกลับส่งเสริมให้พืชดูดใช้ฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น (Saleque *et al*., 2001) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ครั้งนี้

การใส่ทองแดงในทุกอัตราทำให้ข้าวในชุดดินท่าตูมดูดใช้ไนโตรเจนต่ำกว่า (33.3 - 60.8 มิลลิกรัมต่อกระถาง) แต่ดูดใช้ฟอสฟอรัส (73.0 - 83.5 มิลลิกรัมต่อกระถาง) สูงไม่แตกต่างจากตำรับควบคุมทางสถิติ ยกเว้นการใส่ในอัตรา 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ให้การดูดใช้ฟอสฟอรัสของข้าวต่ำที่สุดแต่ทำให้ข้าวดูดใช้ไนโตรเจนสูงสุดไม่แตกต่างจากควบคุม ขณะที่มีเพียงการใส่ทองแดงในอัตรา 0.6 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ทำให้ข้าวในชุดดินอุบลดูดใช้ไนโตรเจน (100 - 124 มิลลิกรัมต่อกระถาง) และข้าวในชุดดินร้อยเอ็ดดูดใช้ฟอสฟอรัส (83.3 - 129 มิลลิกรัมต่อกระถาง) สูงกว่าตำรับควบคุมทางสถิติ และการใส่ทองแดงในอัตรา 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นอัตราที่ทำให้ข้าวในชุดดินร้อยเอ็ดดูดใช้ไนโตรเจน (118 มิลลิกรัมต่อกระถาง) และข้าวในชุดดินอุบลดูดใช้ฟอสฟอรัส (117 มิลลิกรัมต่อกระถาง) สูงกว่าตำรับควบคุมตามลำดับซึ่งมีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5)

3. โภชนาการของข้าวของข้าวขาวดอกมะลิ 105

ปริมาณเหล็กและสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องจัดเป็นคุณภาพเชิงโภชนาการของข้าวเนื่องจากธาตุทั้งสองมีบทบาทต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของมนุษย์ที่ได้มาจากการบริโภคธัญพืชโดยตรงโดย FAO/WHO (2000) รายงานความต้องการเหล็กและสังกะสีของคนไทยเท่ากับ 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับเพศชาย และ 15 และ 12 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับเพศหญิง ตามลำดับ การใส่ปุ๋ยสังกะสีหรือทองแดงไม่มีผลทางสถิติต่อความเข้มข้นของสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องในชุดดินท่าตูม อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยสังกะสีจะส่งเสริมโภชนาการของข้าวได้ดีกว่าการใส่ทองแดงโดยจะเพิ่มความเข้มข้นของเหล็กได้ดีกว่าความเข้มข้นของสังกะสี โดยเฉพาะในชุดดินอุบลที่พบว่า ความเข้มข้นของเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องเพิ่มขึ้นตามอัตราของสังกะสีที่ใส่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (68.8 - 69.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ขณะที่มีเพียงการใส่สังกะสีในอัตรา 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในชุดดินท่าตูม (152 และ 94.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และอัตรา 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในชุดดินร้อยเอ็ด (70.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ให้ความเข้มข้นของเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องสูงกว่าตำรับควบคุมทางสถิติ (69 และ 51.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เช่นเดียวกับความเข้มข้นของสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องในชุดดินร้อยเอ็ด (3.34 - 19.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และอุบล (37.0 - 46.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าต่ำกว่าตำรับควบคุม (25.6 และ 63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ยกเว้นการใส่สังกะสีในอัตรา 0.5 และ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ให้ค่าสูงที่สุดตามลำดับเท่ากับ 29.8 และ 84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Figure 2) ซึ่งมี

Table 5. Effect of Zn and Cu fertilizer rates on primary nutrient taken by KDML 105 rice grown on Tha Tum (Tt), Roi-et (Re) and Ubon (Ub) soil series

Element	Rate	N uptake (mg/pot)			P uptake (mg/pot)			K uptake (mg/pot)		
	(mg/kg)	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub	Tt	Re	Ub
Zn	0	46.6^{bc}	90.4^{a}	66.8^{b}	44.1^{c}	47.1^{b}	74.8^{abc}	385^{a}	369^{c}	390
	0.5	134^{a}	83.1^{ab}	116^{a}	60.0^{b}	57.2^{b}	71.4^{bc}	162^{c}	453a^{bc}	397
	1.0	62.2^{b}	65.9^{c}	63.0^{b}	72.9^{b}	110^{a}	63.7^{c}	230^{b}	403^{bc}	445
	2.0	40.8^{c}	84.0^{ab}	63.3^{b}	86.1^{a}	117^{a}	81.0^{ab}	258^{b}	472^{ab}	437
	4.0	55.5^{bc}	71.5^{bc}	118^{a}	70.2^{b}	56.5^{b}	89.5^{a}	429^{a}	527^{a}	327
	F - test	**	**	**	**	**	*	**	*	ns
	% CV	14.6	8.6	16.7	10.0	12.0	10.7	9.2	11.1	15.2
Cu	0	84.4^{a}	85.0^{b}	83.8^{bc}	82.7^{a}	65.9^{bc}	87.9^{b}	374	473	250
	0.3	45.5^{c}	118^{a}	55.5^{d}	75.1^{a}	52.8^{c}	94.9^{b}	387	308	405
	0.6	33.3^{d}	89.8^{b}	100^{b}	83.5^{a}	83.3^{b}	117^{a}	453	455	372
	1.2	60.8^{b}	54.5^{c}	124^{a}	73.0^{a}	129^{a}	70.1^{c}	355	492	294
	2.4	85.0^{a}	83.3^{b}	82.1^{bc}	49.4^{b}	51.4^{c}	84.7^{b}	432	395	282
	F - test	**	**	**	**	**	**	ns	ns	ns
	% CV	8.0	10.6	10.3	12.8	14.1	7.7	10.8	16.5	20.8

ns = non - significant; *,** significant at $P \leq 0.05$ and 0.01 respectively, different lowercase letters within column in the same soil series are significant difference at $P \leq 0.05$

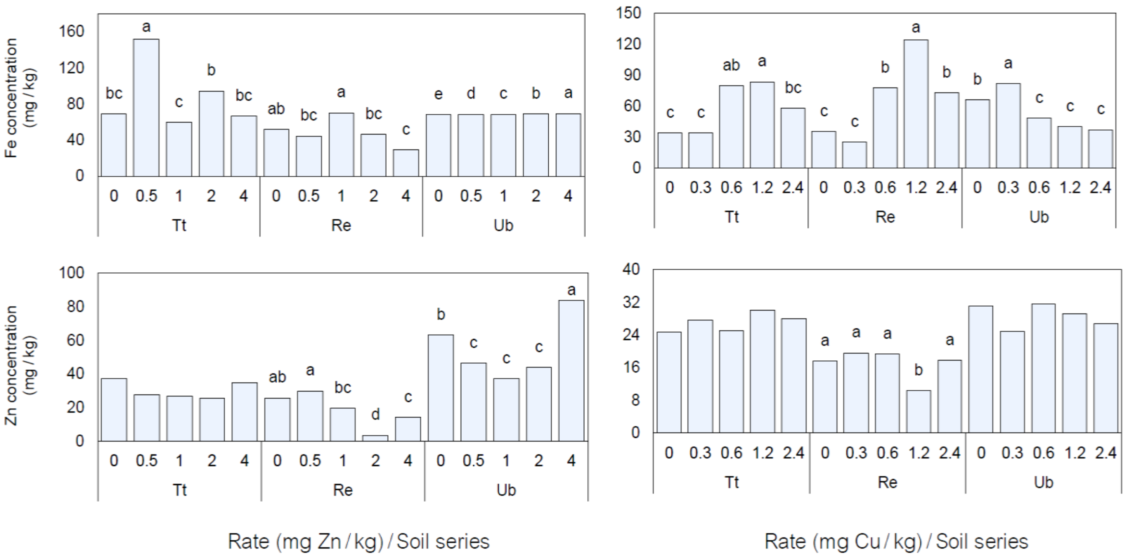

Figure 2. Fe and Zn concentrations in bran rice of KDML 105 rice grown on Tha Tum (Tt), Roi-et (Re) and Ubon (Ub) soil series as affected by Zn and Cu fertilizers. Different lowercase letters on bars grouped within the same soil are significant difference at $P \leq 0.05$

รายงานว่าการได้รับสังกะสีไม่เพียงพอจะมีผลทำให้คุณภาพของเมล็ดข้าวลดลงโดยเฉพาะทางด้านโภชนาการ (Cakmak, 2008; Muthukumararaja and Sriramachandrasekharan, 2012)

การใส่ทองแดงมีแนวโน้มลดโภชนาการของข้าวเนื่องจากให้สังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องในชุดดินร้อยเอ็ดสูงไม่แตกต่างจากควบคุม (17.6 - 19.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ยกเว้นการใส่ทองแดงในอัตรา 1.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ให้ค่าต่ำที่สุด (10.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แต่กลับทำให้ปริมาณเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องในชุดดินร้อยเอ็ด (72.8 - 124 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และชุดดินท่าตูม (57.8 - 83.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เพิ่มขึ้นทางสถิติเมื่อใส่ทองแดงในอัตรา 0.6 ถึง 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจะมีค่าสูงสุดเมื่อใส่ในอัตรา 1.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขณะที่ในชุดดินอุบลมีเพียงการใส่ทองแดงในอัตรา 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ให้เหล็กในเมล็ดข้าวกล้องสูงกว่าตำรับควบคุม (81.4 และ 66.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ส่วนในอัตราที่เหลือให้ค่าต่ำที่สุดไม่แตกต่างกัน (37.1 - 48.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (Figure 2) เนื่องจากทองแดงแข่งขันในการดูดซับกับรากพืชได้ดีกว่าสังกะสี ดังนั้น ในสภาพที่ดินมีความเข้มข้นของทองแดงสูงพืชจึงดูดใช้สังกะสีลดลง (Alloway, 2008) การเคลื่อนย้ายจากส่วนรากสู่ส่วนต่าง ๆ ต่างของพืชจึงน้อยลงตามไปด้วย

4. สหสัมพันธ์ระหว่างสังกะสีและทองแดงในเนื้อเยื่อพืชและองค์ประกอบผลผลิตของข้าว

ความเข้มข้นของสังกะสีในตอซังข้าวมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผลผลิตเมล็ด (r = 0.82**) เช่นเดียวความเข้มข้นของทองแดงในตอซังข้าวมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผลผลิตเมล็ด (r = 0.73**) และน้ำหนักแห้งตอซังสัมพัทธ์ (r = 0.66*) (Table 6) ทั้งนี้ เนื่องจากจุลธาตุทั้งสองมีบทบาทต่อพืชคล้ายคลึงกันในการสร้างคลอโรฟิลล์เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง และเป็นองค์ประกอบในเอนไซม์หลายชนิดที่กระตุ้นการผสมเกสรและปฏิสนธิและกระบวนการงอกของเมล็ด (Fageria, 2014; Hafeez *et al.*, 2013; Mortvedt *et al.*, 1972) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของจุลธาตุอาหารทั้งสองในเนื้อเยื่อพืชจะส่งเสริมการสร้างผลผลิตข้าวได้ในระดับหนึ่ง

Table 6. Correlation coefficients (r) for linear relationships between Zn and Cu concentration in different plant parts and yield components of KDML 105 rice

Nutrient concentration	Plant part	Correlation coefficients (r)					
		Relative		Plant height	Panicle No.	Panicle day	Filled grain
		Grain yield	Straw dry wt.				
Zn	Grain	-0.65	-0.48	-0.75*	-0.08	0.61	-0.32
	Straw	0.79*	0.66	0.58	-0.22	0.72*	-0.04
Cu	Grain	0.06	0.37	0.73*	-0.08	0.61	-0.32
	Straw	0.71*	0.84**	0.69*	-0.36	-0.33	0.32

*,** = correlation are significant at $P \leq 0.05$ and 0.01, respectively

สรุป

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในดินนาตัวแทนยกเว้นในชุดดินท่าตูมจะตอบสนองเชิงบวกต่อปุ๋ยสังกะสีชัดเจนกว่าปุ๋ยทองแดงโดยสังกะสีทำให้ข้าวเจริญเติบโตและออกดอกเร็วขึ้น รวมทั้งส่งเสริมให้ข้าวสะสมและดูดใช้ธาตุอาหารหลักเพิ่มขึ้น ขณะที่ทองแดงจะเพิ่มจำนวนรวงและจำนวนเมล็ดดีของข้าวแต่ไม่มีผลต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในเมล็ดข้าวและยังทำให้ข้าวดูดใช้โพแทสเซียมลดลง การใส่ปุ๋ยสังกะสีส่งเสริมโภชนาการของข้าวอย่างชัดเจนแต่จะเพิ่มความเข้มข้นของเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องได้ดีกว่าความเข้มข้นของสังกะสีเมื่อใส่ในอัตรา 0.5 - 1 มิลลิกรัมสังกะสีต่อกิโลกรัม ส่วนการใส่ทองแดงถึงแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของเหล็กได้เมื่อใส่ในอัตรา 1.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่กลับทำให้ปริมาณสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องลดลงจึงทำให้คุณภาพเชิงโภชนาการของข้าวลดลงในระดับหนึ่ง ถึงแม้ว่าการใส่สังกะสีและการใส่ทองแดงไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตข้าวแต่ผลผลิตเมล็ดและตอซังข้าวพบสหสัมพันธ์เชิงบวกกับความเข้มข้นของสังกะสีและทองแดงในตอซังข้าว แสดงให้เห็นว่าจุลธาตุทั้งสองส่งเสริมการสร้างผลผลิตในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตาม ควรมีการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อหาอัตราการใช้ปุ๋ยสังกะสีและทองแดงที่เหมาะสมในสภาพไร่นา เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความแม่นยำที่สามารถใช้ถ่ายทอดแก่เกษตรกรผู้ปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก) และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สวพ. มก.)

เอกสารอ้างอิง

Alloway, B.J. 2008. Zinc in Soils and Crop Nutrition. 2nd ed. International Zinc Association, Brussels.

Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? Plant and Soil 302 (1): 1-17.

Cox, F.R. and J.I. Wear. 1977. Diagnosis and Correction of Zinc Problems in Corn and Rice Production. Southern Cooperative Series Bulletin 222 Raleigh, North Carolina State University, Raleigh.

Dobermann, A. and T. Fairhurst. 2000. Rice: Nutrient Disorders and Nutrient Management. Oxford Graphic Printers, Singapore.

Fageria, N.K. 2014. Mineral Nutrition of Rice. CRC Press, Boca Ration.

FAO/WHO. 2000. Preliminary report on recommended nutrient intakes. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Human Vitamin and Mineral Requirements. Bangkok, Thailand.

Haefele, S.M., K. Naklang, D. Harnpichitvitaya, S. Jearakongman, E. Skulkhu, P. Romyen, S. Phasopa, S. Tabtim, D. Suriya-arunroj, S. Khunthasuvon, D. Kraisorakul, P. Youngsuk, S.T. Amarante and L.J. Wade. 2006. Factors affecting rice yield and fertilizer response in rainfed lowlands of northeast Thailand. Field Crops Research 98(1): 39-51.

Hafeez, B., Y.M. Khanif and M. Saleem. 2013. Role of zinc in plant nutrition- a review. American Journal of Experimental Agriculture 3(2): 374-391.

Kabata-Pendias, A. and H. Pendias. 2001. Trace Elements in Soils and Plants, 3rd ed. CRC Press, Boca Ration.

Kunlanit, B., C. Wangpoomyai, M. Vongsavas, T. Siritrakulsak, K. Maneepradid and P. Vityakon. 2019. Effects of zinc and silicon on growth and yield of rice cv. Khao Dawk Mali 105. Khon Kaen Agriculture Journal 47(4): 839-850. (in Thai)

Mortvedt, J.J., P.M. Giordano. and W.L. Lindsay. 1972. Micronutrients in Agriculture. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.

Muthukumararaja, T.M. and M.V. Sriramachandrasekharan. 2012. Effect of zinc on yield, zinc nutrition and zinc use efficiency of lowland rice. Journal of Agricultural Technology 8(2): 551-561.

Norasing, U., S. Thanachit, S. Anusonpornperm and I. Kheoruenromne. 2017. Variability and potential of jasmine rice growing soils in northeast Thailand. Khon Kaen Agriculture Journal 45(1): 121-132. (in Thai)

Pandey, N., G.C. Pathak and C.P. Sharma. 2006. Zinc is critically required for pollen function and fertilization in lentil. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 20(2): 89-96.

Saleque, M.A., M.J. Abedin, Z.U. Ahmed, M. Hasan and G.M. Panaullah. 2001. Influences of phosphorus deficiency on the uptake of nitrogen, potassium, calcium, magnesium, sulfur, and zinc in lowland rice varieties. Journal of Plant Nutrition 24(10): 1621-1632.

Siddika, M.A., M.J.A. Mian, T.S. Hoque, M.A. Hanif and P.C. Ray. 2016. Effect of different micronutrients on growth and yield of rice. International Journal of Plant and Soil Science 12(6): 1-8.

Slation, N.A., E.E. Gbur, C.E. Wilson and R.J. Norman. 2005. Rice response to granular zinc sources varying in water-soluble zinc. Soil Science Society of America Journal 69(2): 443-452.

Sukyankij, S., S. Thanachit, S. Anusontpornperm and I. Kheoruenromne. 2020. Assessment of soil Zn availability for Khao Dawk Mali 105 rice: a case study in Thailand. Journal of Crop Science and Biotechnology 23(2): 181–190.

Takkar, P.N. and N.S. Randhawa. 1978. Micronutrients in Indian agriculture. Fertilizer News. 23(8): 3-26.

Verma, T.S. and R.S. Minhas. 1987. Zinc and phosphorus interaction in wheat-maize cropping system. Fertilizer Research 13(1): 77-86.

Yoshida, S., D.A. Forno, J.H. Cock and K.A. Gomez. 1976. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. 3rd ed. IRRI, Los Baños, Laguna.

Yoshihashi, T., N. Kabaki, T.T.H. Nguyen and H. Inatomi. 2002. Formation of flavor compound in aromatic rice and its fluctuations with drought stress. JIRCAS Research Highlights 2002: 32-33.

Zayed, B.A., A.K.M. Salem and H.M.E. Sharkawy. 2011. Effect of different micronutrient treatments on rice (*Oryza sativa* L.) growth and yield under saline soil conditions. World Journal of Agricultural Research 7(2): 179-184.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกและการประเมินพันธุกรรมของดาวเรืองอเมริกันสายพันธุ์พ่อแม่โดยเทคนิคอาร์เอพีดี

Floral Morphology and Genotypic Evaluation of American Marigold Parental Lines using RAPD Technique

กฤษฎา สุขวิวัฒน์ จุฑามาส คุ้มชัย วีณัน บัณฑิตย์ และ ณัฐา โพธาภรณ์ *

Krisada Sukwiwat, Jutamas Kumchai, Weenun Bundithya and Nuttha Potapohn *

ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

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

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

(Received: 31 March 2021; Accepted: 22 September 2021)

Abstract: Marigold (*Tagetes erecta* L.) is an ornamental plant in Asteraceae (Compositae) family. Marigold flowers are popularly used as an ornamental plant, cut flowers for making lei, and spiritual flowers. It can be grown all over the regions. However, information on research and improvement of marigolds in Thailand is limited. Twelve parental lines were studied using the morphological description of Supa (1991). The result showed that these parental lines could be divided according to 2 flower morphological characters 1) flower color: yellow and golden yellow and 2) flower form: fully double flower, single flower, and apetalous). RAPD banding pattern was employed to evaluate the genetic relationships of these parental lines. Twenty primers were used, and only six primers could yield polymorphic bands. Similarity coefficients were calculated, and a dendrogram was constructed by UPGMA using NTSYS (version 2.2). The results showed that the similarity index of 3 primer, OPA-02, OPD-11, and OPD-19 was 0.41-1.00, which could differentiate sterile female parents from male parents. Dendrogram of 6 primer products, OPA-02, OPA-04, OPD-05, OPD-07, OPD-011, and OPD-19, showed similarity coefficient ranging from 0.42 to 0.82, which could distinguish these parental lines into three groups according to flower form; fully double flower, single flower, and apetalous as found in the morphological study.

Keywords: *Tagetes erecta* L., floral morphology, RAPD technique, male sterility, apetalous

Copyright @ Journal of Agriculture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. All rights reserved.

บทคัดย่อ: ดาวเรืองมีชื่อสามัญว่า marigold ชื่อวิทยาศาสตร์ *Tagetes erecta* L. อยู่ในวงศ์ Asteraceae (Compositae) นิยมใช้เป็น ไม้ดอกไม้ประดับ ตัดดอกทำเป็นมาลัยงานทางศาสนา หรืองานมงคลต่าง ๆ สามารถปลูกได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ อย่างไรก็ตามข้อมูลงานวิจัยและการพัฒนาพันธุ์ดาวเรืองในประเทศไทยมีค่อนข้างจำกัด จึงได้นำสายพันธุ์พ่อแม่ดาวเรือง 12 สายพันธุ์ มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอก ตามเกณฑ์ตรวจสอบลักษณะทางพันธุ์พืชของ Supa (1991) โดยศึกษา 2 ลักษณะ คือ ลักษณะสีดอก ได้แก่ สีเหลือง และสีเหลืองทอง และลักษณะดอก ได้แก่ดอกซ้อน ดอกชั้นเดียว และดอกที่ไม่มีกลีบ ศึกษาพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ใช้ไพรเมอร์จำนวน 20 ไพรเมอร์ พบว่า มี 6 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้และให้แถบที่มีความแตกต่างกัน ทำการคำนวณดัชนีความเหมือนด้วยโปรแกรม NTSYS (เวอร์ชั่น 2.2) โดยวิธีจัดกลุ่ม UPGMA พบว่า ข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอของไพรเมอร์จำนวน 3 ไพรเมอร์ ได้แก่ OPA-02, OPD-11 และ OPD-19 เมื่อคำนวณดัชนีความเหมือน อยู่ที่ 0.41 ถึง 1.00 และสามารถแยกกลุ่มสายพันธุ์แม่เกสรเพศผู้เป็นหมันออกจากสายพันธุ์พ่อได้ และเมื่อนำข้อมูลการปรากฏแถบของ 6 ไพรเมอร์ OPA-02, OPA-04, OPD-05, OPD-07, OPD-011 และ OPD-19 มาวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA พบว่า ดาวเรืองสายพันธุ์พ่อแม่ทั้ง 12 สายพันธุ์ มีค่าดัชนีความเหมือนที่ 0.42 ถึง 0.82 และสามารถจำแนกออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ดอกซ้อน ดอกชั้นเดียว และไม่มีกลีบ สอดคล้องกับการแบ่งกลุ่มลักษณะทางสัณฐานวิทยา

คำสำคัญ: ดาวเรือง สัณฐานวิทยาของดอก เทคนิคอาร์เอพีดี ความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ ดอกที่ไม่มีกลีบ

คำนำ

ดาวเรืองมีชื่อสามัญว่า marigold ชื่อวิทยาศาสตร์ *Tagetes erecta* L. อยู่ในวงศ์ Asteraceae (Compositae) เป็นไม้ดอกพื้นเมืองของประเทศสหรัฐอเมริกาและเม็กซิโก ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังแหล่งปลูกทั่วโลก ชนิดของสกุลนี้ มีประมาณ 56 ชนิด และมีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่นิยมปลูก (Zhang *et al*., 2011) ดาวเรืองอเมริกันหรือดาวเรืองอาฟริกัน สามารถปลูกได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ในอดีตต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์มาจากสหรัฐอเมริกา แต่ในปัจจุบัน ประเทศไทยสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์และสามารถส่งออกไปยังหลายประเทศ เช่น อินเดีย เวียดนาม และอินโดนีเซีย เป็นต้น เมล็ดพันธุ์ดาวเรืองที่มีคุณภาพดีสามารถขายได้กิโลกรัมละ 150,000 - 300,000 บาท (East West Seed, 2017) ดาวเรืองที่ได้รับความนิยมในประเทศไทยสามารถใช้ได้ตั้งแต่เป็นไม้ตัดดอกเพื่อใช้ทำมาลัย ในพิธีกรรมทางศาสนา แสดงความยินดีทางการเมือง ตลอดจนต้นเป็นไม้ประดับสถานที่

การผลิตเมล็ดพันธุ์ดาวเรืองใช้พ่อแม่พันธุ์ที่เป็น พันธุ์แท้ (inbred line) ต้องมีการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพ่อและแม่พันธุ์ที่จะนำมาใช้ในการผสมพันธุ์ รวมถึงลักษณะทางพันธุกรรมด้วย การประเมินลักษณะทางสัณฐาน-วิทยา เป็นการประเมินลักษณะ โดยมีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้องด้วย ในขณะที่การจัดจำแนกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเป็นการประเมินเฉพาะพันธุกรรมของพืช ไม่มีอิทธิพลของสภาพ-แวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้มีการนำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้อย่างกว้างขวาง ในการแยกพันธุกรรมในพืชหลายชนิด โดยเทคนิคที่มีการนำมาใช้กันมาก คือ อาร์เอพีดี (RAPD) (Shahzadi *et al*., 2016) มีการนำเทคนิคนี้มาใช้ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม ทั้งดาวเรือง และดอกไม้หลากหลายชนิด เช่น Modi *et al*. (2013) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของดาวเรืองฝรั่งเศส 12 สายพันธุ์ โดยเทคนิคอาร์เอพีดี ใช้ไพรเมอร์ 22 ไพรเมอร์ พบว่าเปอร์เซ็นต์ของแถบ polymorphic มีค่าระหว่าง 50 - 100 % มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 75.8 % มีความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง ส่วนค่าความคล้ายคลึง

อยู่ระหว่าง 0.42 ถึง 0.93 และสามารถแยกดาวเรืองฝรั่งเศสออกได้เป็นสามกลุ่ม โดยกลุ่มแรกมีดอกขนาดใหญ่และมีสีที่แตกต่างกัน ประกอบไปด้วย 9 พันธุ์ กลุ่มที่สองดอกมีสีเหลืองเพียงสีเดียวมี 1 สายพันธุ์ และกลุ่มที่สามดอกมีขนาดใหญ่ ดอกสีส้มเข้มและสีแดง ประกอบด้วย 2 สายพันธุ์ ต่อมามีรายงานของ Naz *et al*. (2015) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเบญจมาศ 21 ชนิด มีลักษณะดอก 3 ลักษณะ คือ ดอกชั้นเดียว ดอกกึ่งซ้อน และ ดอกซ้อน โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่า การใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มสามารถแยกดอกเบญจมาศ 21 สายพันธุ์ ออกเป็นสามกลุ่มใหญ่ตามลักษณะดอกได้

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้นำเอาพ่อแม่พันธุ์ดาวเรืองมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอก และใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการศึกษาจีโนไทป์ ผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำมาใช้เพื่อเป็นประโยชน์ต่องานปรับปรุงพันธุ์ดาวเรืองเพื่อสร้างลูกผสมเดี่ยวที่มีความดีเด่นเหนือกว่าสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ (heterosis) ต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

สายพันธุ์ดาวเรือง

ดาวเรืองตัดดอกสายพันธุ์แม่ที่เกสรเพศผู้เป็นหมัน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ FY1502 และ FY1502AP และสายพันธุ์พ่อ 10 สายพันธุ์ ได้แก่ MY1501, MY1502, MG1503, MG1504, MG1505, MG1506, MG1507, MG1508, MG1509 และ MG1510

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอก

นำเมล็ดพันธุ์ของดาวเรือง 12 สายพันธุ์มาเพาะในวัสดุปลูก เมื่อต้นกล้าดาวเรืองอายุได้ 28 วัน ทำการย้ายปลูกลงแปลง ที่บริษัท อะเมริซีด (อินเตอร์เนชันแนล) จำกัด โดยเริ่มปลูกตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2558 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2558 วางแผนการทดลองแบบแลททิซ (Lattice Designs) แต่ละประชากรมี 2 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 20 ต้น บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาของดอกแต่ละพันธุ์ ตามเกณฑ์ตรวจสอบลักษณะทางพันธุ์พืช ดัดแปลงจาก Supa (1991)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

นำใบอ่อนของดาวเรืองแต่ละสายพันธุ์มาสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้วิธี CTAB (Doyle and Doyle, 1987) และไพรเมอร์ที่ใช้จำนวน 20 ไพรเมอร์ คือ OPA-02, OPA-03, OPA-04, OPA-05, OPA-06, OPA-08, OPA-09, OPA-10, OPA-11, OPA-12, OPA-15, OPA-16, OPD-01, OPD-05, OPD-07, OPD-08, OPD-11, OPD-14, OPD-17 และ OPD-19

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ประกอบด้วยดีเอ็นเอ ปริมาตร 1 µl ไพรเมอร์ ปริมาตร 1 µl PCR master mix (SOLLIS BIODYNE) ปริมาตร 4 µl และ dH_2O ปริมาตร 14 µl ปริมาตรรวม 20 µl ปฏิกิริยามี 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่ 1 บ่มที่อุณหภูมิ 94 $^{\circ}$C นาน 4 นาที จำนวน 1 รอบ ขั้นตอนที่ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 94 $^{\circ}$C นาน 30 วินาที ตามด้วยอุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C นาน 1 นาที และอุณหภูมิ 72 $^{\circ}$C นาน 2 นาที รวม 44 รอบ ขั้นตอนที่ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 72 $^{\circ}$C นาน 10 นาที โดยใช้วิธีของ Taywiya *et al*. (2008)

การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

บันทึกข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของดาวเรืองสายพันธุ์พ่อแม่ทั้ง 12 สายพันธุ์ ที่ได้จากเทคนิคอาร์เอพีดี คำนวนค่าดัชนีความเหมือน (similarity coefficient) และวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (cluster analysis) โดยสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic average) ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc version 2.2

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกดาวเรืองสายพันธุ์พ่อแม่ทั้ง 12 สายพันธุ์ พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะได้ 2 ลักษณะ คือ

1. สีของดอก แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ สีเหลือง มีจำนวน 4 ตัวอย่าง คือ FY1502AP (สีของกลีบดอกย่อยชั้นใน), FY1502, MY1501 และ MY1502 และกลุ่มสีเหลืองทอง มีจำนวน 8 ตัวอย่าง คือ MG1503, MG1504, MG1505, MG1506, MG1507, MG1508, MG1509 และ MG1510

2. ลักษณะดอก แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ ดอกที่ไม่มีกลีบดอก (apetalous flower) ได้แก่ FY1502AP ดอกซ้อน (fully double flower) ได้แก่ FY1502 และดอกชั้นเดียว (single flower) สายพันธุ์พ่อ ได้แก่ MY1501, MY1502, MG1503, MG1504, MG1505, MG1506, MG1507, MG1508, MG1509 และ MG1510

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาดอกส่วนอื่นของสายพันธุ์พ่อแม่ทั้ง 12 สายพันธุ์นั้นคล้ายคลึงกัน โดยรูปทรงกลีบดอกชั้นนอกส่วนใหญ่มีลักษณะรูปไข่ปลายข้างหนึ่งแหลม (ovoid) ยกเว้น MY1502 และ MG1505 มีลักษณะรูปสามเหลี่ยม (conical) ปลายกลีบดอกมีลักษณะโค้งเว้ามีพู่ (collared with neck) โคนกลีบดอกเรียบ (entire) ยกเว้น MG1506 และ MG1509 โคนกลีบมีพู่ 2 อัน (2 collared with neck) และส่วนใหญ่มีดอกย่อยชั้นในขนาดใหญ่ (large tubulate) ยกเว้น FY1502AP และ FY1502 มีดอกย่อยชั้นในขนาดเล็ก (Table 1, Figure 1)

Table 1. Flower morphology of 12 marigold parental lines

Item	Accession No.	Ray floret: Shape	Ray floret: Shape of the apex	Ray floret: Shape of the base	Ray floret: Longitudinal axis	Disc floret: Shape	Flower type	Flower color
1	FY1502AP	absent	absent	absent	absent	tiny tubulate	AP	Y
2	FY1502 Fully	ovoid	concave	entire	undulate	tiny tubulate	FD	Y
3	MY 1501	ovoid	collared with neck	entire	undulate	tiny tubulate	SF	Y
4	MY 1502	conical	collared with neck	entire	undulate	large tubulate	SF	Y
5	MG 1503	ovoid	collared with neck	entire	undulate	large tubulate	SF	GY
6	MG 1504	ovoid	collared with neck	entire	undulate	tiny tubulate	SF	GY
7	MG 1505	conical	collared with neck	entire	undulate	large tubulate	SF	GY
8	MG 1506	ovoid	collared with neck	2 collared with neck	undulate	tiny tubulate	SF	GY
9	MG 1507	ovoid	collared with neck	entire	undulate	large tubulate	SF	GY
10	MG 1508	ovoid	collared with neck	entire	dentate	large tubulate	SF	GY
11	MG 1509	ovoid	collared with neck	2 collared with neck	undulate	large tubulate	SF	GY
12	MG 1510	ovoid	collared with neck	entire	undulate	large tubulate	SF	GY

AP = apetalous flower, FD = fully double flower, SF = single flower, Y = yellow, GY = golden - yellow

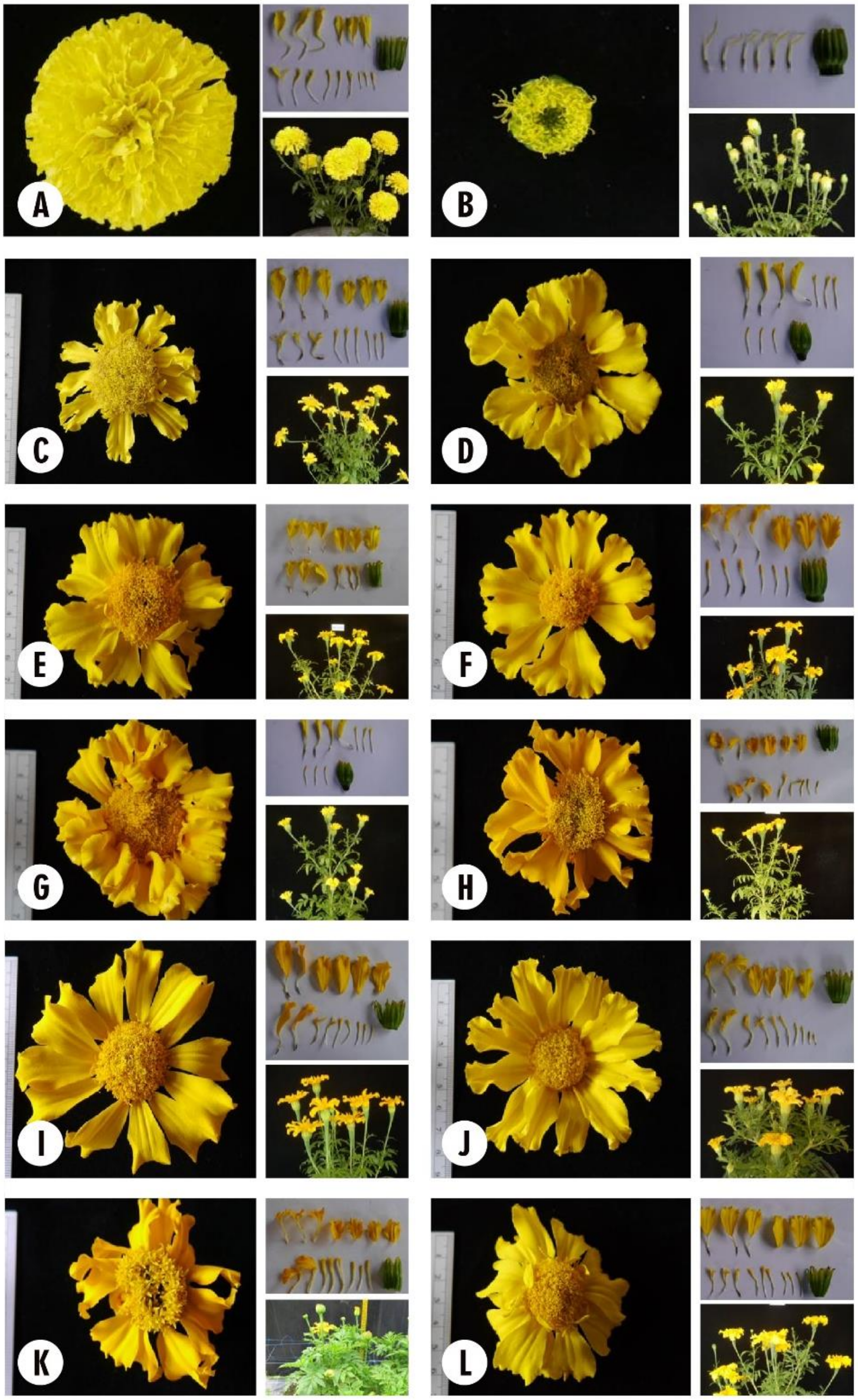

Figure 1. Flower, petals, and plant characters of 12 marigold parental line A) Female line FY1502, B) Female line FY1502AP, C) Male line MY1501, D) Male line MY1502, E) Male line MG1503, F) Male line MG1504, G) Male line MG1505, H) Male line MG1506, I) Male line MG1507, J) Male line MG1508, K) Male line MG1509, L) Male line MG1510

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ในสายพันธุ์พ่อแม่ 12 สายพันธุ์ โดยใช้ 20 ไพรเมอร์ พบว่า มี 6 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ ให้แถบรวม 61 แถบ เป็น polymorphic band 50 แถบ และ monomorphic band 11 แถบ ไพรเมอร์ที่ให้จำนวนแถบมากที่สุด ได้แก่ OPD - 05 จำนวน 12 แถบ และไพรเมอร์ที่ให้จำนวนแถบน้อยที่สุด ได้แก่ OPA - 02 จำนวน 8 แถบ โดยค่าเฉลี่ยของแถบต่อไพรเมอร์เท่ากับ 10.16 แถบต่อไพรเมอร์ ค่าเฉลี่ยของ polymorphic band เท่ากับ 8.33 แถบ เปอร์เซ็นต์ polymorphism อยู่ระหว่าง 63 - 100 % โดยที่ไพรเมอร์ OPA - 02 มีเปอร์เซ็นต์ polymorphism สูงที่สุด คือ 100 % (Table 2)

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์พ่อแม่ดาวเรือง

เมื่อนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอจากการใช้ 3 ไพร์เมอร์ ได้แก่ OPA - 02, OPD - 11 และ OPD - 19 มาคำนวณดัชนีความเหมือน และเลือกการวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA พบว่า ดาวเรือง 12 สายพันธุ์ สามารถจัดเป็น 2 กลุ่มใหญ่ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ สายพันธุ์แม่เกสรเพศผู้เป็นหมัน 2 สายพันธุ์ คือ FY1502AP และ FY1502 มีค่าดัชนีความเหมือนอยู่ที่ 0.86 ทำให้เห็นถึงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันของสายพันธุ์แม่ทั้งสอง เนื่องจากสายพันธุ์แม่ FY1502AP พัฒนามาจากสายพันธุ์แม่ FY1502 โดยวิธีการผสมกลับ 5 ครั้ง ส่วนกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย สายพันธุ์พ่อเกสรเพศผู้ปกติ 10 สายพันธุ์ (Figure 2) โดยกลุ่มที่ 2 สามารถแบ่งออกได้เป็นอีก 2 กลุ่มย่อย เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเหมือนที่ 0.66 ได้แก่ กลุ่มที่ 2.1 ประกอบด้วย สายพันธุ์พ่อ 7 สายพันธุ์ คือ MY1501, MG1504, MG1505, MG1507, MG1508, MG1509 และ MG1510 มีค่าดัชนีความเหมือนอยู่ที่ 0.68 ถึง 0.82 ส่วนกลุ่มย่อยกลุ่มที่ 2.2 ประกอบด้วยสายพันธุ์พ่อ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ MY1502, MG1503 และ MG1506 มีค่าดัชนีความเหมือนอยู่ที่ 0.72 ถึง 0.86 และเมื่อเปรียบเทียบค่าดัชนีความเหมือนระหว่างกลุ่มย่อยทั้งสองกลุ่ม พบว่า กลุ่มย่อยกลุ่มที่ 2.1 มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมากกว่ากลุ่มย่อยกลุ่มที่ 2.2 (Table 3) ซึ่งความหลากหลายของสายพันธุ์มีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ดาวเรือง เนื่องจากลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์

Table 2. Nucleotide sequence of primer and number of total bands, number of polymorphic bands, and number of monomorphic bands of 12 marigold parental lines

Primer	Primer sequence 5' ⟶ 3'	Total bands	Polymorphic bands	Monomorphic bands	Polymorphism (%)
OPA - 02	5'-TGCCGAGCTG-3'	8	8	0	100 %
OPA - 04	5'-AATCGGGCTG-3'	10	7	3	70 %
OPD - 05	5'-TGAGCGGACA-3'	12	11	1	91 %
OPD - 07	5'-TTGGCACGGG-3'	10	8	2	80 %
OPD - 11	5'-AGCGCCATTG-3'	11	7	4	63 %
OPD -19	5'-CTGGGGACTT-3'	10	9	1	90 %
Total		61	50	11	-
Average		10.16	8.33	1.83	82.3 %

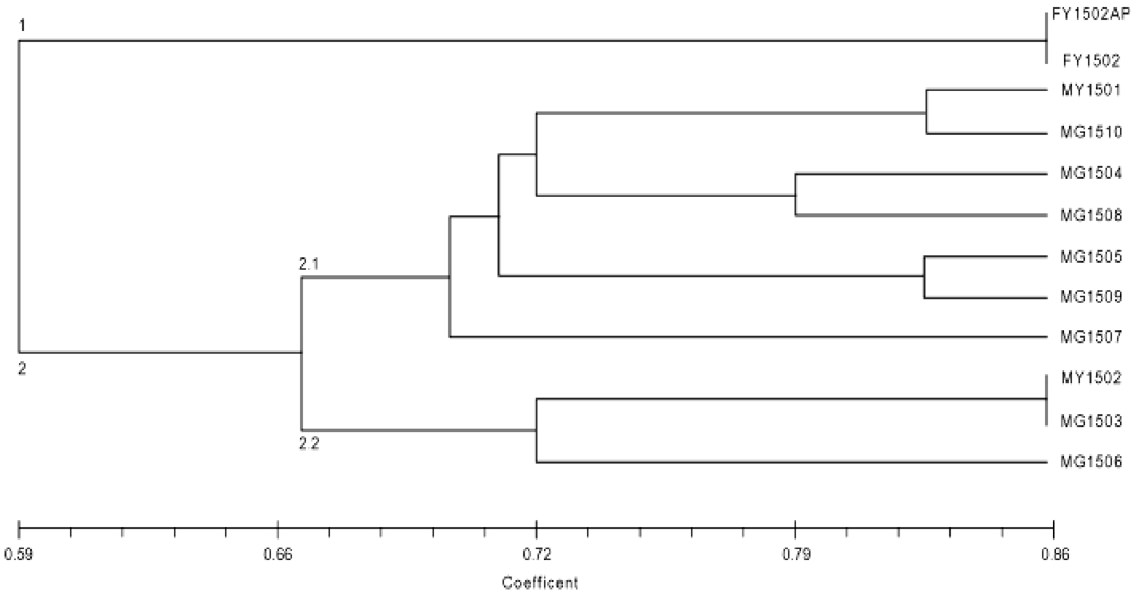

Figure 2. Dendrogram of 2 female and 10 male marigold parental lines from 3 primers OPA - 02, OPD - 11 and OPD - 19 by UPGMA

Table 3. Similarity coefficients of 12 marigold parental lines generated by RAPD - PCR using 3 primers, OPA - 02 OPD - 11, and OPD - 19

Inbred line	FY1502	FY1502AP	MY1501	MY1502	MG1503	MG1504	MG1505	MG1506	MG1507	MG1508	MG1509	MG1510
FY1502	1.00											
FY1502AP	0.86	1.00										
MY1501	0.79	0.72	1.00									
MY1502	0.51	0.52	0.65	1.00								
MG1503	0.45	0.45	0.58	0.86	1.00							
MG1504	0.68	0.69	0.75	0.62	0.69	1.00						
MG1505	0.65	0.65	0.72	0.72	0.65	0.75	1.00					
MG1506	0.41	0.41	0.55	0.69	0.75	0.58	0.62	1.00				
MG1507	0.62	0.55	0.76	0.62	0.55	0.65	0.69	0.65	1.00			
MG1508	0.62	0.55	0.76	0.68	0.68	0.79	0.69	0.79	0.72	1.00		
MG1509	0.62	0.55	0.69	0.75	0.68	0.72	0.82	0.65	0.72	0.72	1.00	
MG1510	0.69	0.55	0.82	0.75	0.68	0.65	0.75	0.65	0.65	0.72	0.65	1.00

ที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมจะมีความดีเด่นของลูกผสมสูงกว่าคู่ผสมที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม (Pornsuriya *et al*. 2015) ดังเช่น Modi *et al*. (2013) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของดาวเรืองฝรั่งเศสโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่า เปอร์เซ็นต์ polymorphism อยู่ระหว่าง 50 % ถึง 100 % และมีค่าดัชนีความเหมือนอยู่ที่ 0.42 ถึง 0.93 แสดงให้เห็นว่ามีความหลากหลายในสายพันธุ์ดาวเรืองฝรั่งเศสและเทคนิคอาร์เอพีดีมีศักยภาพในการจำแนกพันธุกรรมของดาวเรือง สามารถใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างลูกผสมพันธุ์ที่ดีเด่นกว่าพ่อแม่ได้ นอกจากนี้ Phophan and Pooprompan (2020) ศึกษาการใช้ไพรเมอร์อาร์เอพีดี 520 ไพรเมอร์ในการคัดกรองลักษณะดอกดาวเรือง ดอกสมบูรณ์เพศและดอกเกสรเพศผู้เป็นหมัน พบว่า ไพรเมอร์อาร์เอพีดี OPA - 01 สามารถแยกลักษณะดอกสมบูรณ์เพศออกจากดอกเกสรเพศผู้เป็นหมันได้ และยังแสดงแถบดีเอ็นเอจำเพาะขนาด 700 bps ที่เชื่อมโยงกับลักษณะดอกเกสรเพศผู้เป็นหมัน ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวเป็นประโยชน์สำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์ดาวเรือง

เมื่อนำข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอจากใช้ไพรเมอร์จำนวน 6 ไพรเมอร์ (Table 4) มาวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA พบว่า ดาวเรืองสายพันธุ์พ่อแม่ทั้ง 12 สายพันธุ์ สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยที่กลุ่มที่ 1 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเหมือนที่ 0.42 แต่ละกลุ่มมีลักษณะสัณฐาน-วิทยาของดอกแตกต่างกันอย่างชัดเจน คือ กลุ่มที่ 1 ดอกที่ไม่มีกลีบดอก และดอกชั้นเดียว โดยกลุ่มที่ 1 สามารถแบ่งออกได้เป็นอีก 2 กลุ่มย่อย เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเหมือนที่ 0.52 โดยสมาชิกกลุ่มที่ 1.1 ประกอบด้วย FY1502AP ซึ่งไม่มีกลีบดอก (apetalous flower) ส่วนกลุ่มที่ 1.2 ประกอบด้วยกลุ่มพ่อดอกชั้นเดียว (single flower) ทั้ง 10 สายพันธุ์ และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย FY1502 ซึ่งเป็นดอกซ้อน (fully double flower) โดยสอดคล้องกับการแบ่งกลุ่มของการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามลักษณะของกลีบดอก (Figure 3) Nantaphoom *et al*. (2020) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของดาวเรืองโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ 31 ไพร์เมอร์ พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.64 ถึง 1.00 การวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA พบว่า ดาวเรืองสายพันธุ์แท้ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะดอก คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยสายพันธุ์ดาวเรืองที่มีดอกชั้นเดียว ส่วนกลุ่มที่ 2 ประกอบไปด้วยสายพันธุ์ดาวเรืองที่เป็นดอกซ้อน ซึ่งลักษณะดอกสามารถคัดเลือกเป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อผลิตเป็นลูกผสมเดี่ยว (F1 hybrid) และคาดว่าระยะห่างระหว่างพันธุกรรมที่แตกต่างกันจะสร้างลูกผสมเดี่ยวที่มีความดีเด่นเหนือกว่าพ่อและแม่ต่อไป (Nantaphoom *et al*., 2020) โดยทั่วไปแล้วลักษณะดอกซ้อนมักมีมูลค่าทางการตลาดมากกว่าดอกชั้นเดียว และเป็นลักษณะเฉพาะที่เกิดจากการกลายพันธุ์ทางธรรมชาติ โดยกลายพันธุ์มาจากดอกชั้นเดียว ซึ่งการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของลักษณะดอกแบบต่าง ๆ อาจควบคุมด้วยยีน 1 คู่ หรือมากกว่า ดังนั้น การคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ที่เหมาะสมในการผลิตเมล็ดพันธุ์จึงเป็นสิ่งจำเป็น (Gaurav and Agnihotri, 2017) จากการศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของกลีบดอกดาวเรืองของ Chomvisarutkul and Kuanprasert (2005) พบว่า กลีบดอกย่อยวงนอกควบคุมด้วยยีนด้อย 1 คู่ และเป็นลักษณะการข่มสมบูรณ์ ส่วนลักษณะดอกย่อยกลางควบคุมด้วยยีน 1 คู่ และเป็นลักษณะการทำงานแบบบวกสะสม

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA โดยใช้ 3 ไพร์เมอร์ และ 6 ไพร์เมอร์ สามารถแยกความแตกต่างในกลุ่มสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ออกจากกันได้อย่างชัดเจน สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ในการปรับปรุงพันธุ์ โดยนักปรับปรุงพันธุ์สามารถที่จะคัดเลือกพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกันหรือห่างกันด้วยการดูจากภาพ dendrogram แล้วนำข้อมูลฟีโนไทป์มาประกอบการตัดสินใจก่อนการสร้างลูกผสม เพื่อให้เกิดความดีเด่นเหนือสายพันธุ์พ่อแม่ (Tanya, 2019)

Table 4. Similarity coefficients of 12 marigold parental lines generated by RAPD - PCR using 6 primers, OPA - 02, OPA - 04, OPD - 05, OPD - 07, OPD - 11, and OPD - 19

Inbred line	FY1502	FY1502AP	MY1501	MY1502	MG1503	MG1504	MG1505	MG1506	MG1507	MG1508	MG1509	MG1510
FY1502	1.00											
FY1502AP	0.51	1.00										
MY1501	0.64	0.50	1.00									
MY1502	0.45	0.40	0.68	1.00								
MG1503	0.48	0.38	0.60	0.82	1.00							
MG1504	0.56	0.48	0.70	0.67	0.71	1.00						
MG1505	0.55	0.47	0.65	0.70	0.70	0.76	1.00					
MG1506	0.47	0.37	0.55	0.60	0.71	0.56	0.58	1.00				
MG1507	0.56	0.38	0.59	0.56	0.57	0.62	0.61	0.59	1.00			
MG1508	0.58	0.47	0.68	0.65	0.70	0.75	0.70	0.71	0.64	1.00		
MG1509	0.46	0.35	0.56	0.66	0.63	0.73	0.72	0.54	0.61	0.67	1.00	
MG1510	0.62	0.36	0.60	0.61	0.62	0.57	0.63	0.54	0.64	0.62	0.55	1.00

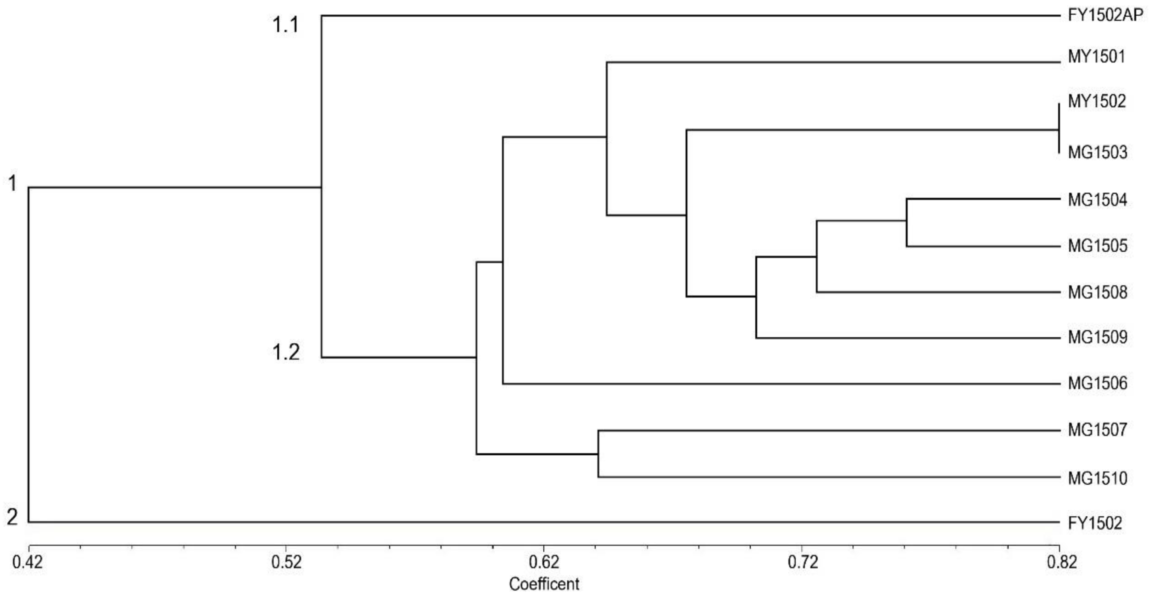

Figure 3. Dendrogram of 2 female and 10 male marigold parental lines from six primer, OPA - 02, OPA - 04, OPD - 05, OPD - 07, OPD - 11 and OPD - 19, by UPGMA

สรุป

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกสามารถจัดกลุ่ม ออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1) สีดอก คือ สีเหลือง และสีเหลืองทอง และ 2) ลักษณะดอก คือ ดอกที่ไม่มีกลีบ ดอกซ้อน และดอกชั้นเดียว จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ในสายพันธุ์พ่อแม่ 12 สายพันธุ์ โดยใช้ 20 ไพรเมอร์ พบว่า มี 6 ไพรเมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ เมื่อใช้ข้อมูลการปรากฏแถบดีเอ็นเอ โดยเลือกจาก 3 ไพรเมอร์ มาคำนวณดัชนีความเหมือน อยู่ที่ 0.41 ถึง 1.00 โดยสามารถแยกกลุ่มสายพันธุ์แม่เกสรเพศผู้เป็นหมันออกจากสายพันธุ์พ่อเกสรเพศผู้ปกติได้ และเมื่อนำทั้ง 6 ไพรเมอร์ มาวิเคราะห์แผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีการจัดกลุ่ม สามารถแยกกลุ่มสายพันธุ์พ่อแม่ได้ตามลักษณะของดอกที่ไม่มีกลีบดอกและเกสรเพศผู้เป็นหมัน ดอกที่มีกลีบดอกชั้นเดียวและมีเกสรเพศผู้ปกติ และดอกที่มีดอกซ้อนหลายชั้นและเกสรเพศผู้เป็นหมันได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม โครงการร่วมให้ทุนปริญญาเอกกาญจนาภิเษก 50 ปี - มช และ บริษัทอะเมริซีด อินเตอร์เนชั่นแนลจำกัด

เอกสารอ้างอิง

Chomvisarutkul, S. and N. Kuanprasert. 2005. Inheritance of marigold flower characteristics. Journal of Agriculture 21(2): 149-155. (in Thai)

Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19(1): 11-15.

East West Seed. 2017. Accelerating imports of marigold seeds in Thailand (Online). Available: http://www.eastwestseed.com/news/accelerating-import-of marigold-seed-in-Thailand/ (July 3, 2017).

Gaurav, A.K. and R. Agnihotri. 2017. Strategies for the development of unique flower forms in ornamental crops: A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 6(6): 2474-2478.

Modi, P., D. Jain, S. Kachhwaha and S.L. Kothari. 2013. Analysis of genetic among *Tagetes patula* L. cultivars based on RAPD markers. Indian Journal of Horticulture 70(4): 549-554.

Nantaphoom, S., S. Peerapaskorn and P. Pooprompan. 2020. Phenotyping and genotyping analysis of inbred lines In American marigold (*Tagetes erecta* L.). Rajabhat Agriculture Journal 19(2): 31-37. (in Thai)

Naz, S., I. Shehzadi, K. Shahzadi and S. Ilyas. 2015. Assessment of genetic variability in different chrysanthemum varieties of Pakistan using RAPD markers. The Journal of Animal and Plant Sciences 25(2): 554-560.

Phophan, P. and P. Pooprompan. 2020. Inheritance and investigation of DNA marker associated with gene controlling male sterile in American marigold (*Tagetes erecta* L.). pp. 80-86. *In*: Proceedings of the 2nd National Conference on Science, Technology and Innovation. Loei Rajabhat University, Loei. (in Thai)

Pornsuriya, P., S. Boonsrinukul and P. Pornsuriya. 2015. Genetic divergence and correlations

with heterosis of inter-varietal hybrids in waxy corn. Research Journal 8(1): 17-22. (in Thai)

Shahzadi, I., R. Ahmad, U. Waheed and M.M. Shah. 2016. Genetic diversity analysis of *Tagetes* species using PCR based molecular markers. Pakistan Journal of Botany 48(4): 1593-1599.

Supa, P.1991. Evaluation Characteristics and Population of Marigolds in Northern Thailand. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 134 p. (in Thai)

Tanya, R. 2019. Population Genetics for Breeding. Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom. 186 p. (in Thai)

Taywiya, P., W. Bundithya and N. Potapohn. 2008. Analysis of the genetic relationship of genus *Phalaenopsis* by RAPD technique. Acta Horticulturae 788: 39-46.

Zhang, P., L. Zeng, Y.X. Su, X.W. Gong and X.S. Wang. 2011. Karyotype studies on *Tagetes erecta* L. and *Tagetes patula* L. African Journal of Biotechnology 10(72): 16138-16144.

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ (ต่อ)

1.7 กรณีอ้างอิงเป็นภาษาอื่น เช่น ภาษาไทย ต้องแปลงเป็นภาษาอังกฤษ และเปลี่ยนปี พ.ศ. เป็น ปี ค.ศ.

1.8 กรณีเป็นหน่วยงาน ได้แก่ หน่วยงานราชการ สมาคม สถาบัน สำนักงาน ฯลฯ ให้ใช้ชื่อหน่วยงานเต็มในการอ้างอิงทั้งบทความ ตัวอย่าง (Department of Agricultural Extension, 1995).....

1.9 กรณีมีผู้แต่งที่มีทั้งบุคคลและเป็นหน่วยงาน ให้ใส่ชื่อผู้แต่งตามด้วยหน่วยงานและใช้ (;) คั่นระหว่างชื่อผู้แต่งและหน่วยงาน

2. การเขียนเอกสารอ้างอิง มีรูปแบบการเขียนมีดังนี้

วารสาร (Journals) อ้างอิงวารสารที่มีความทันสมัยและเป็นปัจจุบันมากที่สุด

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

TH: Muthita, W. and N. Kuanprasert. 2004. Cytogenetics and flower color inheritance of fuchsias. Journal of Agriculture 20(1): 10-18. (in Thai)

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

ในกรณีที่เป็นวารสารออนไลน์ ไม่สามารถระบุเลขหน้าเริ่มต้นและเลขหน้าสิ้นสุดได้ ให้ระบุ doi แทน

EN: Bukhari, T., W. Takken and C.J.M. Koenraadt. 2011. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. Parasites & Vectors 4: 23, doi: 10.1186/1756-3305-4-23.

หนังสือ และตำรา (Books & Textbooks)

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

TH: Ek-amnuay, P. 2016. Diseases and Pests of Economic Importance. 5th ed. Amarin Printing and Publishing PCL, Bangkok. 704 p. (in Thai)

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

เรื่องย่อยในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องเขียน และมีบรรณาธิการ

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

TH: Krairiksh, S. and W. Namruangsri. 1997. Integrated pest control of mango. pp. 137-144. *In*: K. Jumroenma (ed.). Integrated Pest Control. The Agricultural Cooperative Federation of Thailand, Ltd., Bangkok. (in Thai)

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

รายงานการประชุม สัมมนา (Reports and Proceedings)

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องย่อย. หน้า เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าที่สิ้นสุด. *ใน:* รายงานการประชุม สัมมนา. สถานที่จัดประชุม.

TH: Tantarawongsa, P. and D. Ketrot. 2017. Diuron residue in soils under pineapple cultivation. pp. 17-24. *In*: Proceedings of 55th Kasetsart University Annual Conference: Plants, Animals, Veterinary Medicine, Fisheries, Agricultural Extension and Home Economics, Bangkok. (in Thai)

EN: Feigenbaum, S., A. Bar-Tal and D.L. Sparks. 1990. Dynamics of soil potassium in multicationic systems. pp. 145-161. *In*: Proceedings of the 22nd Colloquium of the International Potash Institute, Bern.

วิทยานิพนธ์ (Thesis)

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

TH: Maneepong, A. 2004. Effects of ozone treatments on postharvest quality and pesticide residue of Mandarin cv. Sai Nam Pung. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 100 p. (in Thai)

EN: Liquido, N.J. 1982. Population ecology of *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Heteroptera: Miridae). Ph.D. Dissertation. University of Hawaii, Honolulu. 175 p.

เอกสารวิชาการอื่น ๆ

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

TH: Shutsrirung, A., C. Santasup and K. Kunasakdakul. 2010. Screening of bio-organic inputs for high quality tea production. Final Report. The Thailand Research Fund, Bangkok. 109 p. (in Thai)

EN: Siriphontangmun, S., U. Nounart, S. Roumchaiapikun and S. Srijuntra. 2016. Insect Pests of Vegetable, Mushroom and Cut Flower. Technical Document. Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok. 74 p. (in Thai)

สื่ออิเล็กทรอนิกส์

ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: ที่อยู่ของไฟล์หรือเว็บไซต์ (URL) (เดือน วันที่, ปีที่ สืบค้นข้อมูล).

(ในกรณีที่ไม่มีข้อมูลปีที่ตีพิมพ์ ให้ระบุเป็นปีที่เข้าไปสืบค้นข้อมูล)

TH: Department of Agricultural Extension. 2005. Hydroponics. (Online). Available: http://www.doae.go.th/ proster/nondin/htm (April 21, 2005). (in Thai)

EN: Marja, L.L. 2000. How Mycostop® acts in the control of fungal plant diseases. (Online). Available: http://www.shkagro.com/otros/efecto_fungicida.pdf (April 1, 2016).

การส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์

โปรดตรวจสอบบทความต้นฉบับให้เป็นไปตามคำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ พร้อมแนบแบบฟอร์มนำส่งบทความเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารเกษตร (https://li01.tci-thaijo.org/ index.php/joacmu/information/authors) โดยนำส่งบทความผ่านทาง online เท่านั้น ที่ https:// li01.tci-thaijo.org/index.php/joacmu/index

การพิจารณาบทความ

1) ต้นฉบับที่ไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับของวารสารเกษตร จะไม่ได้รับการพิจารณา

2) ทุกบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร ต้องผ่านการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิ ไม่น้อยกว่า 3 ท่าน

3) กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจและแก้ไขบทความทุกเรื่องที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสารเกษตร (The Editorial Board claims a right to review and correct all articles submitted for publishing in Journal of Agriculture)

4) หากบทความใดขาดการติดต่อเกิน 6 เดือน กองบรรณาธิการจะดำเนินการลบบทความดังกล่าวออกจากระบบ ThaiJo 2.0 เพื่อให้การจัดทำวารสารเกษตรเป็นไปด้วยความเรียบร้อยและมีคุณภาพ

สำนักงานและการติดต่อสอบถาม (Office and Inquiries)

กองบรรณาธิการวารสารเกษตร
งานบริหารงานวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
จ. เชียงใหม่ 50200 โทร. 0 5394 4089-92 ต่อ 12 โทรสาร 0 5394 4089-92 ต่อ 12
Editorial Board, Journal of Agriculture
Division of Research and International Affairs, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand Tel: 0 5394 4089-92 ext. 12
Fax: 0 5394 4089-92 ext. 12 Email: agjournal22@gmail.com

(ดูตัวอย่างต้นฉบับที่เป็นทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษที่ https://drive.google.com/file/d/1AK1gabPWQgw2ErSRUaTiKMrjFdtKdsFC/view)

JOURNAL OF AGRICULTURE

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Volume 37, Issue 3 September - December 2021

Biofloc Technology and Bio - extract Applications for Indoor Culture of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Sarun Rucksapram, Wijittra Tungse and Natthaphon Rachuphimon..........243

Use of Biogas from Animal Feces as a Renewable Energy for Engine of a Corn Hammer Mill

Suchon Tangtaweewipat, Kanyarat Puakchareon, Ongart Songsee and Boonlom Cheva-Isarakul..........255

Use of Banana Peels Fermented with Fermentation Starter Balls and Cassava Chip on Digestibility and Blood Biochemical Contents in Meat Goats

Norakamol Laorodphan , Wirot Likittrakulwong, Tossaporn Incharoen, Saowaluck Yammuen-art and Siriwadee Phromnoi..........265

Development of Dairy Cow Mastitis Test Kit Based on Immunochromatographic Strip Using Monoclonal Antibody Against *Staphylococcus aureus*

Chatsiri Siriwathanakul, Thararat Chitov, Kidsadagon Pringproa and Trisadee Khamlor..........277

Development of Cytochrome Oxidase I Gene Specific Primers for Diagnosis of Melon Fly, *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) for Export Promotion

Yuvarin Boontop, Nutthima Kositcharoenkul and Nopparat Buahom..........289

Broad - spectrum Antimicrobial Compounds from *Streptomyces coerulescens* NN91

Nanthavut Niyomvong..........305

Effect of Cricket Culture Training on Trainees' Knowledge, at Chiang Klang District, Nan Province

Kongphop Kulsarin, Juthathip Chalermphol, Ruth Sirisunyaluck and Piyawan Suttiprapan..........317

Factors Related to Growers' Need for Sustainable Strawberry Cultivation in Chiang Mai Province

Numchok Bunmee, Patana Sukprasert, Suwisa Pattanakiat and Siros Tongchure..........327

Screening of Actinobacteria from Coconut Plantation Soils with Plant Growth Promotion Properties

Ratchanee Mingma and Kannika Duangmal..........337

Effect of Calcium - Boron Fertilizer Application on Quality of Melon Fruit

Teerayut Klumchaun, Niyom Buaban, Pantipa Limsanguan and Chanpen Chaimongkol..........349

Integration of Geo - informatics Technology and Community Participation Affecting on Increasing Forest Area: A Case Study of Yang Watershed, Nan Province

Suprapat Khuenjai and Thaworn Onpraphai..........359

Responses of Khao Dawk Mali 105 Rice to Zinc and Copper Fertilizers in Different Paddy Soils

Nuttawadee Yoojaroenkit, Suphicha Thanachit and Somchai Anusontpornperm..........371

Floral Morphology and Genotypic Evaluation of American Marigold Parental Lines using RAPD Technique

Krisada Sukwiwat, Jutamas Kumchai, Weenun Bundithya and Nuttha Potapohn..........385

ISSN 0857-0841

วารสารเกษตร ปีที่ 37 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2564 หน้า 243-395 Journal of Agriculture Volume 37, Issue 3 September-December 2021 pp. 243-395