



Journal of Agricultural Research and Communications

วารสารวิชาการของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปีที่ 42 ฉบับที่ 1 มกราคม – เมษายน พ.ศ. 2569

มุมมองและเงื่อนไขการเป็นผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่

ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

กชพร โพธิ์นิ่มแดง ศุภกิจ สิ้นสุข พนิตนาฏ วงศ์ยิม

กัญลยา มิชะมา และ ยศ บริสุทธิ์.....1

การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นอ่อนจากอับเรณูของฟ้าทะลายโจรในสภาพปลอดเชื้อ

เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์ ฉันทนา วิชรรัตน์ และ จันทภา อ่วมอ่ำ.....15

อิทธิพลของระยะเวลาการให้แสงและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส

ต่อการเจริญเติบโตของหงส์เหินภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

อรณิข คำยง และ กัลยวรรธน์ เมืองเปรม.....31

ประสิทธิภาพของรูปทรงและความสูงของกบดักกาวเหนียวต่อการจับแมลงวัน (Diptera: Muscidae)

ในฟาร์มโคนม จังหวัดสระบุรี ประเทศไทย

จำนงจิต ผาสุข ตรุณวรรณ ชื่นแสงอรุณ ฉัตรภรณ์ รุ่งเฉลิมลักษณ์ แพรไพริน ใจเอื้อน

ณัฐสุตา กลิ่นแก้ว วิษณุวัฒน์ ฉิมน้อย ภูมิพัฒน์ ทองอยู่ และ เกษริน ขำยิ่งเกิด.....45

การทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย

และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว

นุจรินทร์ จังชันธ โกเมส เด ฟาเรียส ดวงกมล บุญช่วย วันพร เข้มมุกด์

จิราภรณ์ กวงไหม กนกพร มะโนเรือง อัญชลี ตาคำ และ พยอมน โคเบลลี.....57

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เรื่องที่ตีพิมพ์

1. เป็นบทความวิจัย บทความปริทัศน์ หรือบทความวิชาการ ทางด้านเกษตรศาสตร์และสาขาที่เกี่ยวข้อง
2. ต้องไม่เคยได้รับตีพิมพ์มาก่อน (ต้นฉบับ หรือส่วนหนึ่งของต้นฉบับ) และต้นฉบับต้องไม่ได้อยู่ระหว่างกระบวนการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารหรือสิ่งตีพิมพ์อื่นใด

การเตรียมต้นฉบับ

1. ภาษา เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ
2. การพิมพ์
 - 1) พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษขนาด A4 พิมพ์แนวตั้ง (portrait orientation) ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์ เวิร์ด (Microsoft Word for Windows) ตัวอักษรใช้ TH-SarabunPSK โดยทั่วไปใช้ระยะบรรทัดปกติคือ 1 เท่า หรือ Single ความยาวต้นฉบับไม่เกิน 10 -12 หน้า
 - 2) ชื่อเรื่องให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร TH-SarabunPSK ขนาด 18 points พิมพ์ตัวหนา (bold) และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ สำหรับชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ กำหนดให้อักษรตัวแรกของคำให้พิมพ์ด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ (capital letter)
 - 3) ชื่อผู้เขียนให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร TH-SarabunPSK ขนาด 15 points พิมพ์ตัวหนา และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ
 - 4) ที่อยู่และที่อยู่อีเมลของผู้เขียนให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร TH-SarabunPSK ขนาด 12 points พิมพ์ตัวเอียงธรรมดา (normal italic) และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ
 - 5) บทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร TH-SarabunPSK ขนาด 14 points พิมพ์ตัวธรรมดา (normal) ยกเว้นเฉพาะคำ บทคัดย่อ และ Abstract ให้พิมพ์ตัวหนา และจัดชิดซ้าย
 - 6) เนื้อหาให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร TH-SarabunPSK ขนาด 14 points พิมพ์ตัวธรรมดา (normal)
 - 7) หัวข้อหลัก ได้แก่ คำนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผลการทดลองและวิจารณ์ สรุป เอกสารอ้างอิง ให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร TH-SarabunPSK ขนาด 16 points พิมพ์ตัวหนา และจัดกึ่งกลางหน้ากระดาษ
 - 8) หัวข้อย่อย ให้พิมพ์ตัวหนาและจัดชิดซ้าย
 - 9) คำอธิบายตารางและภาพให้พิมพ์ด้วยตัวอักษร TH-SarabunPSK ขนาด 14 points พิมพ์ตัวหนา โดยคำอธิบายตารางให้พิมพ์เหนือตารางและจัดชิดซ้าย ส่วนคำอธิบายภาพให้พิมพ์ใต้ภาพและจัดกึ่งกลางหน้า และคำอธิบายตารางและภาพถ้ามีมากกว่าหนึ่งบรรทัดให้เริ่มต้นพิมพ์บรรทัดถัดมาตรงกับข้อความของบรรทัดแรก
 - 10) หากมีชื่อวิทยาศาสตร์ปรากฏในบทความ ให้เขียนตามหลักเกณฑ์การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์ ในครั้งแรกที่ปรากฏชื่อให้สะกดเต็ม เช่น *Meloidogyne incognita* และหลังจากนั้นถ้ามีการระบุชื่อนี้บ่อยครั้งที่สุด โดยเขียนเป็น *M. incognita*
 - 11) คำว่า *et al.* และ *P*-value ให้พิมพ์เอ่น

ข้อแนะนำการใช้ภาษา

- 1) ใช้คำศัพท์ตามพจนานุกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน และประกาศของราชบัณฑิตยสถาน
- 2) การเขียนชื่อเฉพาะหรือคำแปลจากภาษาต่างประเทศ ควรพิมพ์ภาษาเดิมของชื่อนั้น ๆ ไว้ในวงเล็บในครั้งแรกที่ปรากฏในบทความ โดยพิมพ์เป็นอักษรตัวพิมพ์เล็กทั้งหมด ยกเว้นชื่อเฉพาะให้พิมพ์เฉพาะอักษรตัวแรกเป็นตัวพิมพ์ใหญ่
- 3) ไม่ควรใช้ภาษาต่างประเทศถ้ามีภาษาไทยอยู่แล้ว
- 4) รักษาความสม่ำเสมอในการใช้คำ คำศัพท์ และด้วยวลี โดยตลอดทั้งบทความ

การเรียงลำดับหัวข้อ ให้เรียงตามลำดับดังนี้

1. ชื่อเรื่อง (Title) ควรสั้น ชัดเจน และต้องสื่อเป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัย ระบุชื่อเรื่องทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ต้นฉบับที่เป็นภาษาไทยให้พิมพ์ชื่อเรื่องเป็นภาษาไทยก่อน แล้วตามด้วยชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ ต้นฉบับที่เป็นภาษาอังกฤษให้พิมพ์ชื่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษก่อน แล้วตามด้วยชื่อเรื่องภาษาไทย
2. ชื่อผู้เขียน ใช้ชื่อผู้เขียนเต็มและระบุชื่อผู้เขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ใส่เครื่องหมายดอกจัน (*) กำกับไว้ท้ายนามสกุลของผู้เขียนที่ติดต่อ (corresponding author)

3. ที่อยู่ หรือสังกัด ระบุที่อยู่หรือสังกัดทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ หากที่อยู่หรือสังกัดมีหลายแห่ง ให้พิมพ์ภาษาไทยของที่อยู่หรือสังกัดแห่งแรกก่อนแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษ จากนั้นพิมพ์ภาษาไทยของที่อยู่หรือสังกัดแห่งที่สองแล้วตามด้วยภาษาอังกฤษ ผู้เขียนมีหลายคนและมีที่อยู่หรือสังกัดแตกต่างกัน ให้ใช้เลขตัวยก (superscript) ที่ต่างกัน กำกับไว้ท้ายนามสกุลของผู้เขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ผู้เขียนคนเดียว หรือหลายคนแต่มีที่อยู่หรือสังกัดเดียวกัน ไม่ต้องใส่เลขตัวยก (superscript) กำกับไว้ท้ายนามสกุลของผู้เขียน ผู้เขียนเป็นนักศึกษา ให้ระบุที่อยู่หรือสังกัดตามหลักสูตรของนักศึกษา บรรทัดถัดจากที่อยู่ ให้พิมพ์ที่อยู่อีเมล (email address) ของผู้เขียนที่ติดต่อ (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 อาจรวมการทบทวนเอกสาร (review of literature) และวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยไว้ด้วย

5.2 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods) ให้บอกรายละเอียดของวัสดุเครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ ในการทดลอง ตลอดจนวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ และแบบจำลองการศึกษาวิจัยที่ชัดเจนและสมบูรณ์

5.3 ผลการทดลองและวิจารณ์ หรือ ผลการศึกษาและวิจารณ์ (Results and Discussion) ให้บรรยายผลการศึกษาวิจัย พร้อมเสนอข้อมูลในรูปแบบตารางหรือภาพประกอบได้ โดยตารางหรือภาพ รวมทั้งคำอธิบายให้จัดทำเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด ถ้ามีตารางหรือภาพในบทความให้อ้างตารางหรือภาพนั้นในเนื้อหาด้วยโดยใช้เป็นภาษาอังกฤษ เช่น Table หรือ Figure สำหรับการวิจารณ์ ควรเชื่อมโยงกับผลการศึกษาว่าสอดคล้องกับสมมติฐาน หรือแตกต่างไปจากผลงานวิจัยที่มีรายงานไว้ก่อนหรือไม่อย่างไรและด้วยเหตุใด โดยมีพื้นฐานการอ้างอิงที่เชื่อถือได้

5.4 สรุป (Conclusion) เป็นการสรุปผลที่ได้รับจากการศึกษาวิจัย อาจมีข้อเสนอแนะ หรือระบุอุปสรรคและแผนงานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไป

5.5 กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) อาจมีหรือไม่ก็ได้ เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ให้ทุนวิจัย หรือผู้ช่วยเหลือในงานวิจัย แต่ไม่ได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย

5.6 เอกสารอ้างอิง (References) ให้เรียงเอกสารตามตัวอักษรอังกฤษ

หลักการอ้างอิงและการเขียนเอกสารอ้างอิง

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

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

- 1.1 ผู้เขียน มี 1 คน ตัวอย่าง Kubo (2003) รายงานว่า.....หรือ.....(Kubo, 2003)
- 1.2 ผู้เขียนมี 2 คน ให้ใช้คำว่า และ 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 ให้เรียงลำดับตามตัวอักษรภาษาอังกฤษและใช้ (ค) คั่นกลาง ตัวอย่าง (Bukhari et al. (2011); Kubo (2003); Muthita and Kuanprasert(2004))
- 1.5 กรณีผู้แต่งเดียวกัน และปีพิมพ์เดียวกัน ให้พิมพ์ตัวอักษร a b c ต่อท้ายปี
ตัวอย่าง Tangtaweewipat et al. (2011a).....Tangtaweewipat et al. (2011b).....

(ดูคำแนะนำการเขียนเอกสารอ้างอิง การส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ และการพิจารณาบทความ ได้ที่ ปกหลังด้านใน)

JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH AND COMMUNICATIONS

ผู้จัดพิมพ์	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Publisher	Faculty of Agriculture, Chiang Mai University
กำหนดการพิมพ์	วารสารราย 4 เดือน (3 ฉบับ/ปี) คือ ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม	Publication	Tri-annually Issue 1 January-April Issue 2 May-August Issue 3 September-December
วัตถุประสงค์	เพื่อเผยแพร่วิทยาการด้านการเกษตร และสาขาที่เกี่ยวข้อง	Objective	To disseminate academic knowledge in agriculture and related fields
ที่ปรึกษา	คณบดีคณะเกษตรศาสตร์ รองคณบดีฝ่ายวิจัย และวิเทศสัมพันธ์	Consultants	Dean, Faculty of Agriculture; Associate Dean for Research and International Relations
บรรณาธิการ	รศ.ดร. ณัฐา โพธาภรณ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editor	Nuttha Potapohn, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University
รองบรรณาธิการ	ผศ.ดร. ชูชาติ สันทรทรัพย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Vice Editor	Choochad Santasup, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University
กองบรรณาธิการ ฝ่ายวิชาการ	ผศ.ดร. บุศรา ลิ้มนิรันดร์กุล มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. จีรวรรณ กิจชัยเจริญ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ศ.ดร. ชนาگانต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. ต่อนภา พุสดี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. ฉันทลักษณ์ ดิยายอน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. พิมพ์ใจ สีหะนาม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. อรุณา เรืองวงษ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รศ.ดร. เสาวลักษณ์ แยมหมื่นอาจ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. มินตรา ศีลอุดม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.ดร. มนต์รี แสนวงศ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Editorial Board (Academic)	Budsara Limnirankul, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Jirawan Kitchaicharoen, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Chanakan Thebault Prom-u-thai, Ph.D., Prof. Chiang Mai University Tonapa Pusadee, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Chantalak Tiyyanon, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Pimjai Seehanam, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Piyawan Suttiaprapan, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University On-Uma Ruangwong, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Saowaluck Yammuen-art, Ph.D., Assoc. Prof. Chiang Mai University Mintra Seel-audom, Ph.D., Assist. Prof. Chiang Mai University Montri Sanwangsri, Ph.D. Chiang Mai University

รศ.ดร. พิชญา พูลลาภ
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 รศ.ดร. อีรนุช เจริญกิจ
 ข้าราชการเกษียณอายุ
 ผศ.ดร. ปฐิภาณ สุทธิกุลบุตร
 มหาวิทยาลัยแม่โจ้
 ผศ.ดร. ศุภวรรณ วิเศษน้อย
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 รศ.ดร. อนุสรณ์ เชิดทอง
 มหาวิทยาลัยขอนแก่น
 ผศ.ดร. สุขฤกษ์ นิมิตรกุล
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 รศ.ดร. ลดาวัลย์ เลิศเลอวงศ์
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 ผศ.ดร. สาวิกา กอนแสง
 มหาวิทยาลัยแม่โจ้
 Prof. Dr. Shang-Ho Yang
 National Chung Hsing University
 Prof. Dr. Mehmet Ulaş Çınar
 Erciyes Üniversitesi
 Prof. Dr. Bernard Dell
 Murdoch University
 Assoc. Prof. Dr. Teresita D. Amore
 University of Hawai'i
 Prof. Dr. Tomofumi Mochizuki
 Osaka Metropolitan University
 Prof. Dr. Won-Kyo Jung
 Pukyong National University
 Assoc. Prof. Dr. Thilde Bech Bruun
 University of Copenhagen
 ฝ่ายการจัดการ
 นางลาลิตยา นุ่มมีศรี
 นายมานพ เปี้ยพรรณ
 นางสาวศิริลักษณ์ ใจเหล็ก

Pichaya Poonlarp, Ph.D., Assoc. Prof.
 Chiang Mai University
 Theeranuch Jaroenkit, Ph.D., Assoc. Prof.
 Retired government official
 Pathipan Sutigoolabud, Ph.D., Assist. Prof.
 Maejo University
 Supawan Visetnoi, Ph.D., Assist. Prof.
 Chulalongkorn University
 Anusorn Cherdthong, Ph.D., Assoc. Prof.
 Khon Kaen University
 Sukkrit Nimitku, Ph.D., Assist. Prof.
 Kasetsart University
 Ladawan Lerslerwong, Ph.D., Assoc. Prof.
 Prince of Songkla University
 Sawika Konsaeng, Ph.D., Assist. Prof.
 Maejo University
 Shang-Ho Yang, Ph.D., Prof.
 National Chung Hsing University, Taiwan
 Mehmet Ulaş Çınar, Ph.D., Prof.
 Erciyes Üniversitesi, Turkey
 Bernard Dell, Ph.D., Prof.
 Murdoch University, Australia
 Teresita D. Amore, Ph.D., Assoc. Prof.
 University of Hawai'i, United States
 Tomofumi Mochizuki, Ph.D., Prof.
 Osaka Metropolitan University, Japan
 Won-Kyo Jung, Ph.D., Prof.
 Pukyong National University, South Korea
 Thilde Bech Bruun, Ph.D., Assoc. Prof.
 University of Copenhagen, Denmark
 (Management) Lalitaya Nummisri
 Manop Pearpun
 Sirilak Chailek

บทบรรณาธิการ

สวัสดีท่านผู้อ่านทุกท่าน วารสาร Journal of Agricultural Research and Communications ฉบับนี้เป็นวารสารปีที่ 42 ฉบับที่ 1 ประจำเดือนมกราคม – เมษายน พ.ศ. 2569 ซึ่งเป็นฉบับแรกของปีที่ 42 ในฉบับนี้ประกอบด้วยบทความทางวิชาการที่มีต้นฉบับเป็นภาษาไทย จำนวน 3 เรื่อง ภาษาอังกฤษ 2 เรื่อง โดยประกอบด้วยสาขาวิชาเศรษฐศาสตร์เกษตร 1 เรื่อง สาขาพืชสวน 2 เรื่อง สาขาวิชาภูมิวิทยา 1 เรื่อง และสาขาโรคพืช 1 เรื่อง

ทางวารสาร Journal of Agricultural Research and Communications เปิดรับบทความวิชาการทางเกษตร วิทยาศาสตร์เกษตร และสาขาที่เกี่ยวข้อง ผู้ที่สนใจส่งบทความเพื่อตีพิมพ์ในวารสาร สามารถหาข้อมูลเพิ่มเติมได้จากเว็บไซต์วารสาร <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/joacmu> หรือสามารถติดต่อมายังกองบรรณาธิการได้ที่ E-mail : agjournal22@gmail.com ขอให้ทุกท่านมีความสุข สุขภาพแข็งแรง ส่งผลงานวิจัยมาตีพิมพ์กันนะคะ และพบกันฉบับต่อไปค่ะ

รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐา โพธารมณ์
บรรณาธิการวารสาร

Perceptions and Conditions of Young Agricultural Entrepreneurship in Northeastern Thailand

มุมมองและเงื่อนไขการเป็นผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

Kotchaphon Phonimdaeng^{1*}, Subhakij Sinsukh², Phanitnart Wongyim²,
Kanlaya Mikhama³ and Yos Borisutdhi^{1*}

กชพร โพธิ์นิ่มแดง^{1*} ศุภกิจ ลินสุข² พณิตนาฏ วงศ์ยิม² กัญลยา มิขะมา³ และ ยศ บรีสุตธี^{1*}

¹ Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.

¹ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

² Office of Agricultural Extension and Development 4, Khon Kaen 40260, Thailand

² สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรเขต 4 จ.ขอนแก่น 40260

³ Faculty of Agriculture and Technology, Nakhon Phanom University, Nakhon Phanom, 48000, Thailand

³ คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนครพนม จ.นครพนม 48000

*Corresponding author: Email: modphetrada@gmail.com; yosboris@kku.ac.th

(Received: 27 February 2025; Revised: 27 January 2026 ; Accepted: 28 January 2026)

บทคัดย่อ: การพัฒนาผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่เป็นนโยบายสำคัญของประเทศไทยมากกว่าทศวรรษ เพื่อเสริมสร้างศักยภาพกำลังคนในภาคเกษตร การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษามุมมองและเงื่อนไขการดำรงชีพและการประกอบอาชีพของผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยดำเนินการวิจัยเชิงคุณภาพใน 2 ระยะ ระยะที่ 1 ศึกษามุมมองต่ออาชีพผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ จากการสัมภาษณ์เชิงลึกผู้ให้ข้อมูลสำคัญ 3 กลุ่ม ได้แก่ ผู้ที่ไม่เคยเป็นผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ (30 ราย) ผู้ที่เป็นผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ (40 ราย) และอดีตผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ (20 ราย) ระยะที่ 2 ศึกษาสภาพที่เป็นอยู่ของผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ จากการสัมภาษณ์เชิงลึกผู้เข้าร่วมโครงการ Young Smart Farmer จำนวน 60 ราย ข้อมูลถูกวิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์เชิงเนื้อหาและเชิงประเด็น พร้อมการเปรียบเทียบข้ามกลุ่มสถานะและข้ามช่วงรุ่น (X, Y, Z) ผลการศึกษา พบว่า ผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ถูกมองว่าเป็นส่วนหนึ่งของหน่วยธุรกิจครัวเรือน โดยมี 3 มิติหลัก ได้แก่ (1) การมีเงินและทรัพย์สิน (2) ความอบอุ่นของครอบครัวและเครือข่ายอาชีพ และ (3) ความเป็นอยู่ที่ดีและความสะดวกสบาย เงื่อนไขสำคัญของแต่ละมิติประกอบด้วย รายได้และทรัพย์สิน การสนับสนุนและความมั่นใจจากครอบครัว/เครือข่าย และสุขภาพกับโครงสร้างพื้นฐาน โดยทุกช่วงรุ่น ให้ความสำคัญในลำดับเดียวกัน คือ ด้านเศรษฐกิจ รองลงมาคือด้านความสัมพันธ์ และด้านความเป็นอยู่ที่ดีตามลำดับ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรพัฒนาผู้ประกอบการเกษตรรุ่นใหม่ผ่านการผลิต

ที่นำรายได้และตลาดเป็นตัวตั้ง ควบคู่กับการพัฒนาช่องทางตลาดและทักษะการบริหารจัดการธุรกิจเกษตรให้สอดคล้องกับบริบทของคนรุ่นใหม่

คำสำคัญ: ธุรกิจการเกษตร ผู้ประกอบการ คนรุ่นใหม่ มุมมอง อาชีพ

Abstract: Developing young entrepreneurs in agriculture has been a key policy priority in Thailand for more than a decade to strengthen the new-generation workforce in the agricultural sector. This qualitative study examined the perceptions and conditions of young entrepreneurship in agriculture (YEAs) in Northeast Thailand. The research was conducted in two phases. Phase 1 explored occupational perceptions through in-depth interviews with 30 non-YEAs, 40 current YEAs, and 20 former YEAs. Phase 2 examined the living and entrepreneurial conditions of 60 YEAs participating in the Young Smart Farmer program. Data were analyzed using content and thematic analysis, with comparisons across YEA status groups and Generations X, Y, Z. The findings indicate that agricultural entrepreneurship is perceived as a household-based business practice characterized by three core dimensions: (1) money and assets, (2) family warmth and occupational networks, and (3) well-being and convenience. Key conditions underlying these dimensions include income and asset holding, family and network support with confidence, and health and infrastructure. Across generations, priorities followed a similar order, with economic conditions ranked the highest, followed by relational and well-being conditions. The results suggest that relevant agencies should strengthen YEAs through income- and market-led production, enhanced market access, and agribusiness management skills tailored to new-generation cohorts.

Keywords: Agricultural business, entrepreneurship, new generations, perspectives, occupation

Introduction

Agricultural entrepreneurs (AEs) apply technical expertise and entrepreneurial orientation to engage in farm-level production, processing, service, and marketing, integrating innovation and market awareness (Pindado and Sánchez, 2017). Unlike traditional farmers, AEs focus on value creation through innovation and market integration while managing day-to-day farm operations (Frese, 2000). They enhance capacity to manage risks and adapt to volatile markets (Liang *et al.*, 2017), contributing to rural development (Mensah, 2019).

Globally, the FAO emphasizes transforming traditional farmers into AEs through Climate-Smart Agriculture (CSA) to enhance productivity, food security, and climate resilience (FAO, 2018). Thailand has actively promoted agricultural entrepreneurship, with young entrepreneurs in agriculture (YEAs) as a central policy priority for over a decade to strengthen the new-generation agricultural workforce (Department of Agricultural Extension (DOAE), 2018).

A flagship policy is the Young Smart Farmer (YSF) program, launched in 2014, targeting individuals aged 17-45 (overlapping generations X, Y, and Z) for training in technology and adaptive

thinking (DOAE, 2019). Complementary initiatives by the Ministry of Industry, OSMEP, and Thai Chamber of Commerce (e.g., YEC) further support YEAs with technology, management training, and market-oriented skills (OSMEP, 2019, 2020).

Despite sustained policy support, official reporting on the successful conversion of YSF participants into stable and sustained YEAs remains limited, particularly in terms of outcome-based indicators that capture long-term occupational stability. National data show about 20,000 YSF participants (2015-2023), with 6,000 in Northeast Thailand (Thairath Online, 2022). However, statistics primarily document participation, not long-term continuity. Field observations indicate many discontinue agricultural entrepreneurship for more stable occupations. This pattern of discontinuation highlights a critical policy and research concern, as it raises questions about the alignment between YEAs' occupational expectations and the conditions necessary for sustaining agricultural entrepreneurship as a viable career.

Although studies in Thailand have examined youth engagement in agriculture and identified determinants of YSF success, existing evidence remains limited in several important respects. First, there is a lack of systematic analysis comparing YEAs' occupational perspectives and living conditions across Generations X, Y, and Z. Second, limited attention has been paid to differences across YEAs' status groups, such as current, former, and never-engaged YEAs, as a basis for understanding occupational stability and discontinuation. Third, few studies integrate perceptions and living conditions within a single analytical framework that directly

informs development pathways for agricultural entrepreneurship (Sukumnoed, 2018; Pongchompu and Phuttachat, 2025).

Northeastern Thailand provides a particularly appropriate empirical context for addressing these gaps. The region has diverse agricultural systems and wide socio-economic variation (National Statistical Office, 2017). All 20 provinces have actively implemented YSF, producing 6,000 participants, offering a policy-relevant population for examining continuity (Suphakij, 2023). To address the identified research gaps, this study examines how YEAs and potential YEAs conceptualize agricultural entrepreneurship and which living and entrepreneurial conditions they perceive as essential for sustaining engagement in the sector. The analysis compares perspectives across YEAs status groups (never-been, current, and former YEAs) and specifies practical indicators (income, assets, networks, confidence, infrastructure, health). Details on how these indicators differ across generations are elaborated in the results and discussion sections.

Accordingly, this study investigates YEAs' occupational perspectives toward agricultural entrepreneurship and examines their living and entrepreneurial conditions, with explicit attention to generational differences. The findings contribute to academic discussions on youth entrepreneurship in agriculture and provide policy-relevant insights for agencies responsible for agricultural development, land management, enterprise promotion, and youth capacity-building. Specific development pathways and stakeholder-oriented recommendations are presented in the concluding section based on the empirical findings.

Materials and Methods

Stage of study

This study employed a qualitative research design to examine perspectives and conditions associated with sustaining agricultural entrepreneurship. It addressed two objectives: (1) occupational perspectives on agricultural entrepreneurship; (2) living and entrepreneurial conditions for sustainability. The study was conducted in 20 provinces in Northeastern Thailand, a region that represents the largest agricultural base in the country, accounting for approximately 47% of all agricultural landholders nationwide (Office of Agricultural Economics, 2023). This region has also been a focal area for agricultural entrepreneurship promotion for more than a decade, particularly through YSF. Approximately 6,000 YSF participants were registered in the Northeast, making it one of the most policy-intensive and empirically relevant areas for examining pathways into and out of young agricultural entrepreneurship.

Purposive sampling was employed as the primary sampling strategy to recruit information-rich cases, particularly current YEAs verifiable through official records. Snowball sampling was used as a complementary technique to identify former and non-YEAs. The combined use of purposive and snowball sampling was intended to ensure analytical coverage across different entrepreneurial status groups rather than statistical representativeness. Fieldwork was organized across five provincial clusters to reflect geographic and agricultural diversity: (1) Nong Khai, Loei, Udon Thani, Nong Bua Lamphu, Bueng Kan; (2) Nakhon Phanom, Mukdahan, Sakon Nakhon; (3) Surin, Nakhon

Ratchasima, Buri Ram, Chaiyaphum; (4) Roi Et, Khon Kaen, Maha Sarakham, Kalasin; (5) Ubon Ratchathani, Si Sa Ket, Amnat Charoen, Yasothorn. This clustering approach facilitated systematic field organization while allowing comparison across different agro-economic contexts. Data collection was implemented in two sequential stages, with findings from stage 1 informing the design and focus of Stage 2.

Stage 1: Studying perspectives on agricultural entrepreneurship (AE) among the younger generation.

Stage 1 explored how agricultural entrepreneurship is conceptualized, valued, and prioritized. The study began with a brainstorming session as a preliminary data-collection technique to elicit shared meanings and evaluations. Predefined topics guided the session. This step was undertaken to refine the analytical scope of the study and to ensure that subsequent interview questions reflected field-relevant perspectives rather than researcher-imposed assumptions. Participants included 30 representatives from the Young Smart Farmer (YSF) working group who had more than two years of experience in agricultural entrepreneurship, plus three officials' agricultural extension officers from the Office of Agricultural Extension Region 4, who participated to provide contextual and programmatic insights. These officials were included to support contextual interpretation and validation of emerging themes, not as primary analytic subjects. Data were collected October 29-30, 2020.

Outputs from the brainstorming session were used to identify key informant categories, refine interview guides, and specify subtopics for in-depth field interviews. Subsequent in-depth

interviews were with informants aged 17-58 (Generation X: 1965-1979; Generation Y: 1980-1996; Generation Z: 1997-2005). Informants were categorized: 30 non-YEAs, 40 current YEAs, 20 former YEAs (total 90). Interviews were conducted using purposive sampling combined with snowball sampling. For current and former YEAs, eligibility criteria included registration as AEs with DOAE and ≥ 1 year of experience. For non-YEAs, eligibility required being in the target age range and having sufficient exposure to agriculture. This criterion was applied to ensure that perspectives reflected experiential evaluation rather than abstract opinion. Recruitment used organizational lists and networks, with referral chains deliberately capped to reduce over-reliance on any single network and to minimize network bias. Data collection was January 5-28, 2021. The final sample size was determined based on the principle of data saturation (Guest *et al.*, 2006; Hennink *et al.*, 2017).

Stage 2: Studying the conditions of agricultural entrepreneurship among YEAs

Stage 2 examined the living and entrepreneurial conditions associated with sustaining agricultural entrepreneurship among current YEAs, building on stage 1 findings. This sequential design ensured that the analysis of conditions was grounded in field-derived perceptions rather than predefined structural assumptions. Interview subtopics were derived from Stage 1 themes. Data used purposive sampling to identify information-rich cases of current YEAs with sustained engagement. Purposive sampling was selected to ensure that participants possessed direct, ongoing experience with entrepreneurial practice. Participants were categorized by activity: farm-level, processing,

and service-provider YEAs. A total of 60 current YEAs were interviewed between February 18 and April 10, 2022.

Rubric-based evaluation of perceptions and conditions

To compare across generational cohorts (Generation X, Y, and Z), the study employed a rubric-based evaluation approach to quantify perceptions and conditions. This approach was selected to bridge qualitative depth with analytic comparability. An analytic rubric with a four-level ordinal scale (0-3) was used: 0 = slightly important, 1 = moderately important, 2 = very important, 3 = most important. The four-point scale was intentionally selected to avoid a neutral midpoint and to encourage respondents' evaluative differentiation (Preston and Colman, 2000; Lozano *et al.*, 2008).

The rubric comprised three criteria:

1. Economic conditions (income adequacy/stability, asset holding).
2. Family warmth and occupational networks (household support, adviser/peer networks, confidence).
3. Well - being and convenience (infrastructure, health).

Clear level descriptors and concrete evidence examples were specified for each level for consistent scoring.

Validity and reliability procedures

A brainstorming validation session was conducted after initial scoring, involving 30 representatives from the YSF working group and one relevant official, to review rubric interpretation and confirm face and content validity (Sandelowski, Voils, and Knafl, 2009). Source triangulation was achieved by integrating data from brainstorming sessions, in-depth

interviews, and validation discussions, while investigator triangulation was applied through independent review and comparison of rubric interpretations during the validation session.

Inter-rater reliability (IRR) was assessed through independent scoring and consensus checking; however, formal statistical indices (e.g., Cohen's Kappa or ICC) were not calculated. This remains a methodological limitation, and IRR was ensured through repeated calibration. After validation, the study reported level distributions (0-3) for each item and summarized central tendency using the modal level (Mode). Final validation data were collected on October 7, 2023.

Data analyses

Data were analyzed across Stages 1 and 2 using the 6C qualitative analysis technique (Borisutdhi, 2015), with an embedded rubric-based quantizing step for systematic comparison. This analytic strategy was designed to ensure that qualitative interpretations of "perceptions" and "conditions" could be traced transparently from raw data to comparative results. (C1) Concurrent analysis during collection of refined interview probes. This step ensured that the data captured sufficiently rich evaluative content relevant to occupational perspectives and sustaining conditions. (C2) Open coding for occupational perceptions and living/entrepreneurial conditions used theoretical sensitization from Maslow's Hierarchy of Needs and Bourdieu's practice theory. Maslow's framework informed the ordering of needs-related perceptions (e.g., income security, well-being), while Bourdieu's concepts of capital and practice supported the interpretation of economic resources, social networks, and habitual engagement in entrepreneurship. Codes were consolidated into rubric-relevant indicators for

the three criteria. This step directly operationalized theoretical constructs into measurable qualitative indicators. (C3) Comparative analysis across Generations X, Y, and Z and status groups. Rubric scores are summarized by reporting percentage distributions across the 0-3 levels, with the central tendency as the modal level (Mode). This procedure enabled comparison of evaluative priorities and perceived conditions without assuming interval-level measurement. (C4) Pattern confirmation via cross-case comparison examined consistency, convergence, and divergence across generations/status. This stage provided the empirical foundation for linking findings to generational dynamics and entrepreneurial trajectories. (C5) Empirical findings were synthesized into analytic outputs and visualized via tables/figures. (C6) Insights synthesized into policy-relevant implications, proposing an integrated support platform across economic, network, and well-being dimensions. These implications were explicitly derived from empirical patterns observed in the data.

Results

1. Perceptions of Agricultural Entrepreneurs (AE)

Findings are reported by entrepreneurial status groups and generations.

1.1. Definitions of AE by agricultural entrepreneurs' status

Field interviews revealed that perceptions of "agricultural entrepreneurs (AE)" varied systematically by entrepreneurial status (non-YEAs, current YEAs, and former YEAs), while remaining broadly consistent across Generations X, Y, and Z.

Non-YEAs (across generations) perceived agricultural entrepreneurs as small-scale agribusiness

operators who differ from traditional farmers through value-added activities in processing and marketing, supported by household agricultural backgrounds, capital, and specific skills.

Current YEAs across generations defined AEs as household members who have developed from traditional farming backgrounds into entrepreneurial roles. They highlighted the use of existing household resources, such as land, capital, family labor, and specialized expertise, as the foundation of agricultural-related businesses involving production, processing, services, and marketing. Income generation through modernized practices was consistently emphasized.

Former YEAs (across generations) viewed agricultural entrepreneurship as a transitional stage in a farming career, emphasizing that without value addition or market control, it remains indistinguishable from traditional farming, and highlighting the importance of financial planning and gradual entry through secondary engagement

Across all groups, AE was commonly described as a household-based activity involving one or more members engaged in agricultural production, processing, services, and marketing in new or adapted forms that generate income for household distribution.

1.2 Valuation of Agricultural Entrepreneurship (AE)

Participants' valuation of AE converged on three core aspects: money and assets, family and social connections, and well-being and convenience. Across all generations and status groups, participants ranked having money and assets as the most importance (Mode = 3), followed by having family and social connections (Mode = 2), with well-being and convenience the lowest (Mode = 1). As shown in Figure 1, participants' valuation of agricultural entrepreneurship followed a consistent hierarchy, with money and assets ranked the highest, followed by family and social connections, and well-being and convenience.

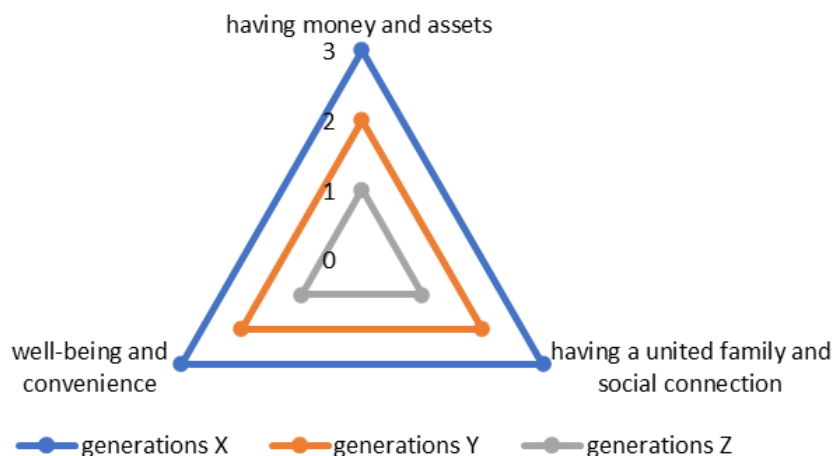


Figure 1: YEAs' valuation of AE across three dimensions (overall, all generations)

2. Conditions of YEAs in Agricultural Entrepreneurship

2.1 Economic conditions: Having money and assets

Economic conditions were described by current YEAs as foundational for sustaining agricultural entrepreneurship. Participants emphasized two indicators:

1) **Income adequacy and stability**, referring to the ability of agricultural income to cover operational costs and household needs

2) **Asset holding**, referring to land, capital, and resources required across start-up, operational, and waiting-for-returns phases.

Insufficient or unstable income was commonly associated with increased reliance on supplementary employment and higher likelihood of exit from agricultural entrepreneurship. Figure 2 summarizes participants' valuation of the economic condition, highlighting the centrality of

income adequacy and stability, together with asset holding.

2.2 Relational conditions: Having a united family and social support

Participants described family acceptance and social support as conditions that strengthened confidence and persistence. Two indicators were identified:

1) **Supportive partner**, referring to shared tasks, advice, and emotional support;

2) **Confidence to continue**, referring to perceive encouragement from family and community.

Lack of such support was associated with higher stress, isolation, and reduced motivation. As illustrated in Figure 3, relational conditions—particularly partner support and confidence to continue—were valued as key supports for occupational persistence.

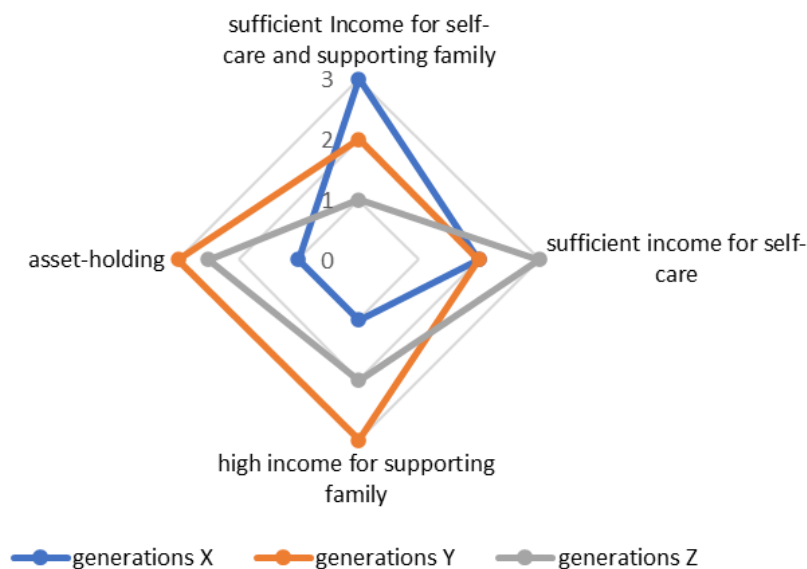


Figure 2: YEAs' valuation under the condition of "having money and assets"

2.3 Well-being and convenience

Well-being and convenience were described as enabling conditions that affect work continuity.

Participants identified:

1) Physical and mental well-being, supporting work capacity and consistency

2) Infrastructure and tools, reducing workload and facilitating daily operations.

Limited infrastructure and poor health were associated with reduced efficiency and higher likelihood of discontinuation. Figure 4 presents participants' valuation of well-being and convenience, emphasizing health

and infrastructure as enabling conditions for continuity.

Common patterns and key generational differences

Across Generations X, Y, and Z, three common patterns were observed: 1) Economic viability as necessary for stability; 2) Family/social support as a coping resource; 3) Well-being as a continuity condition. Key differences in economic and relational priorities; well-being showed strong convergence. Table 1 compares the valuation patterns of AE conditions across Generations X, Y, and Z, highlighting both shared priorities and key differences.

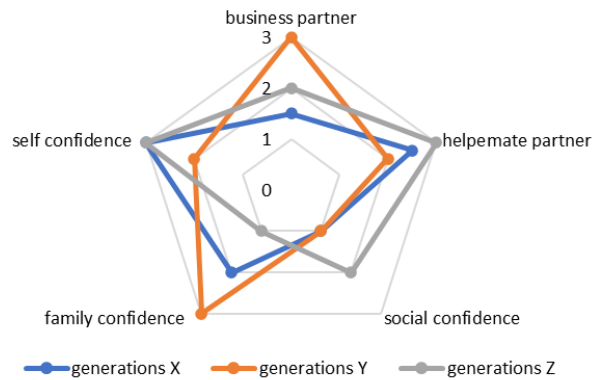


Figure 3: YEAs' valuation under the condition of "having a united family and social connections"

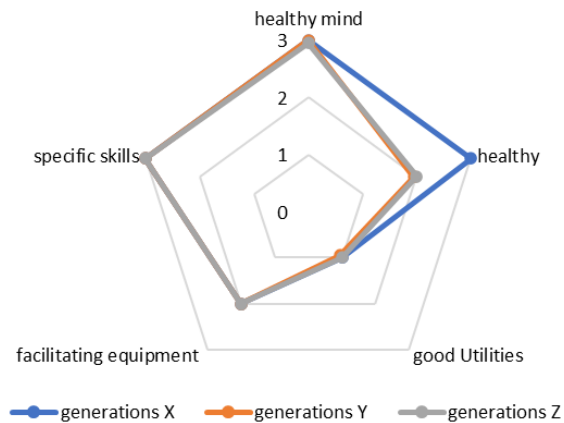


Figure 4: YEAs' valuation under the condition of "well-being and convenience"

Table 1 Comparison of valuation of AE conditions by Generations X, Y, and Z

AE condition	Generation X	Generation Y	Generation Z
Having money and assets	Emphasis on sufficient income for self-care and family; low focus on asset accumulation	Emphasis on high income and asset accumulation for family security	Balanced emphasis on sufficient income and initial asset holding
Having a united family and social connections	Strong emphasis on self-confidence and partner support	Strong emphasis on family endorsement and business partners	Emphasis on self-confidence and partner support (hybrid pattern)
Well-being and convenience	High priority on mental well-being and specific skills	High priority on mental well-being and specific skills	High priority on mental well-being and specific skills

Discussion

This section discusses the empirical findings by interpreting them through relevant theoretical frameworks and existing literature, with explicit reference to the identified research gaps.

Occupational perspectives toward agricultural entrepreneurship

The findings demonstrate that perceptions of agricultural entrepreneurship are structured primarily by entrepreneurial status rather than generation alone. From the perspective of Bourdieu's practice theory, AE is a household-based practice mobilizing economic, social, and embodied capital. Current YEAs' emphasis on resource use and value addition indicates successful capital conversion; former YEAs' view of AE as transitional suggests disruption. This finding responds directly to the research gap regarding the lack of systematic analysis comparing YEAs' perspectives by entrepreneurial status. It shows occupational meanings evolve with engagement, extending

studies that conceptualize AE as an individual choice by demonstrating its embeddedness in household dynamics.

Economic conditions and Maslow's hierarchy of needs

The consistently high valuation of money and assets across generations underscores economic security as the foundation of agricultural entrepreneurship, corresponding to physiological and safety needs in Maslow's hierarchy. Generational differences observed in the results reflect life-stage positioning rather than fundamentally different value orientations. Generation X emphasized household stability, Generation Y income growth/asset accumulation for family, and Generation Z minimum viable income for self-care/entry. These patterns support Maslow's proposition that occupational decisions are shaped by prioritized needs under specific life circumstances. This discussion clarifies why economic instability is a key driver of YEA discontinuation, extending literature by showing how unmet basic needs constrain sustainability (FAO, 2024; Funmilayo *et al.*, 2022).

Family warmth, social capital, and occupational persistence

Family warmth and occupational networks emerged as secondary but structurally significant conditions supporting entrepreneurial continuity. Interpreted via Social Capital Theory (Putnam, 2000), they provide bonding/bridging capital, reducing uncertainty.

The generational configurations of social support identified in this study refine existing understandings of social capital. Generation X and Z emphasized helpmate/partner support (bonding ties); Generation Y emphasized family endorsement/business partners. This differentiation suggests that social capital operates through life-stage-specific relational arrangements rather than uniform mechanisms. This finding directly addresses the research gap concerning insufficient attention to relational conditions in explaining YEAs stability and discontinuation. It demonstrates social capital's role in sustaining long-term engagement under uncertainty. (Putnam, 2000; Bourdieu, 1986).

Well-being, embodied capital, and continuity

The strong cross-generational convergence in valuing mental well-being challenges the assumption that well-being represents a higher-order or optional condition. Instead, the findings indicate that psychological readiness and physical capacity are treated as prerequisites for sustained entrepreneurial practice.

Drawing on Bourdieu's concept of embodied capital, mental resilience and specialized skills function as durable dispositions that enable YEAs to cope with uncertainty and maintain continuity. The particularly high valuation of specialized skills among Generation Z reflects a compensatory strategy for limited

economic capital, highlighting the importance of human capacity in early-stage entrepreneurship. This discussion extends existing research by demonstrating that well-being contributes indirectly to sustainability through its effects on productivity, decision-making, and persistence, supporting findings by Milot-Lapointe *et al.*, (2021) and Sackey and Nock (2022).

Integrating perceptions, conditions, and discontinuation: addressing research gaps

First, it provides a systematic comparison of occupational perspectives and conditions across Generations X, Y, and Z, demonstrating that generational differences are structured by life-stage needs rather than divergent values. Second, it explicitly incorporates entrepreneurial status (non-YEAs, current YEAs, former YEAs) to explain persistence and discontinuation. Third, it integrates perceptions and living conditions within a single analytic framework, showing that discontinuation arises when economic, social, and well-being conditions fail to align. Discontinuation should therefore be understood not as individual failure but as structural misalignment between required and available forms of capital. This interpretation extends existing Thai studies on youth and agri-entrepreneurship (Sukkmnoed, 2018; Pongchompu and Phuttachat, 2025) by providing an empirically grounded explanation for exit trajectories.

Implications for development pathways

The integrated interpretation of findings suggests that sustainable agricultural entrepreneurship requires coordinated support across economic, social, and well-being dimensions. Fragmented interventions focusing solely on skills training or financial access are unlikely to ensure continuity if relational

and psychological conditions remain weak. This discussion provides the conceptual foundation for the policy recommendations presented in the following section, which are structured by generational needs and stakeholder responsibilities. (FAO, 2018; Milot-Lapointe *et al.*, 2021).

Conclusion and Recommendations

Conclusion

This study examined young entrepreneurs in agriculture (YEAs) by integrating occupational perspectives, living and entrepreneurial conditions, and discontinuation risks across generations X, Y, and Z in Northeastern Thailand. The findings demonstrate that agricultural entrepreneurship is the best understood as a household-based practice shaped by the interaction of economic resources, social relations, and well-being capacities.

Across generations, economic viability—particularly income adequacy and asset holding—emerged as the foundational condition for sustaining agricultural entrepreneurship, consistent with Maslow’s hierarchy of needs. However, the study further shows that economic resources alone are insufficient. Family warmth, occupational networks, and mental well-being play critical supporting roles in enabling persistence, buffering uncertainty, and sustaining motivation.

Generational differences were found to reflect life-stage positioning rather than fundamentally different value orientations. Generation X prioritized income stability and health continuity, Generation Y emphasized income growth and asset accumulation to meet household responsibilities, and Generation Z

focused on entry-level income sufficiency and skill development. Discontinuation occurs when these prioritized needs are unmet and when available forms of capital cannot be effectively mobilized or converted, supporting Bourdieu’s practice theory. By explicitly incorporating entrepreneurial status (non-YEAs, current YEAs, former YEAs), this study advances the literature by explaining why some individuals persist in agricultural entrepreneurship while others exit, even under similar structural conditions. Discontinuation should therefore be interpreted as a structural outcome rather than an individual failure.

Recommendations

Based on the study’s findings, the following recommendations are proposed to strengthen continuity and reduce discontinuation risks among YEAs. Recommendations are structured by generation and specify responsible stakeholders to enhance feasibility and accountability.

For Generation X: Policy support should prioritize income stabilization for household security through market-led production and reliable marketing channels, alongside health-friendly work design and labor-saving technologies to sustain work continuity. Responsible stakeholders include DOAE and provincial extension offices, with support from TCC/YEC networks and BAAC.

For Generation Y: Interventions should focus on enabling income growth and asset accumulation through enterprise expansion tools (e.g., costing, investment planning, and partnerships) and improving access to land and operating capital via feasible long-term arrangements. Key stakeholders include DOAE, TCC/YEC networks, land management agencies, and financial institutions.

For Generation Z: Support should emphasize entry-stage incubation through mentoring, skill certification, and small-scale test-market projects, complemented by staged start-up financing and rapid advisory or welfare support to mitigate early-stage discontinuation. Responsible stakeholders include DOAE, provincial offices, universities/TVET institutions, TCC/YEC networks, BAAC, and relevant local agencies

Suggestions for Future Research

1. Investigate strategies and institutional mechanisms that promote continuous learning and skill development among farmers transitioning into YEAs.

2. Explore longitudinal pathways and decision-making processes influencing farmers' transitions into, persistence in, and exit from agricultural entrepreneurship.

3. Design and evaluate integrated support programs that simultaneously address economic, social, and well-being dimensions to enhance the sustainability of YEAs.

Acknowledgments

This study was supported by the research funding for high-potential students in the expert program, Khon Kaen University. Gratitude is extended to the Agricultural Extension Officers of Region 4. Sincere thanks to the YEAs for their insightful contributions.

References

Borisutdhi, Y. 2015. Community studies: Research foundations and scientific process. Khon Kaen University, Khon Kaen. 562 p. (in Thai)

Bourdieu, P. 1986. The forms of capital. pp. 241-258. In: J.G. Richardson (ed.). Handbook of Theory and Research for the Sociology of Education. Greenwood Press, London.

Department of Agricultural Extension. 2018. Young Smart Farmer. (Online). Available: <https://esc.doae.go.th/wp-content/uploads/2018/10/young-smart-farmer.pdf> (March 10, 2024). (in Thai)

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018. Sustainable Food Systems: Concept and Framework. (Online). Available: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/408708f0-82dc-418e-b92b-e2d7ec0cd2e6/content> (March 12, 2024).

Frese, M. 2000. Success and Failure of Microbusiness Owners in Africa: A Psychological Approach. Greenwood Publishing Group, Inc., Westport, CT. 31 p.

Funmilayo, A.K., M. Clement, E.N. Solomon, E.K. Ofori and N.J. Onyedikachi. 2022. The impact of entrepreneurial orientation on innovation performance in Nigerian firms: The mediating effect of knowledge management. Open Journal of Business and Management 10(6): 3409-3435.

Liang, C., C.C. Chang, C.T. Liang and Y.C. Liu. 2017. Imagining future success: Imaginative capacity on the perceived performance of potential agrisocio entrepreneurs. Thinking Skills and Creativity 23: 161-174.

Lozano, L.M., E. García-Cueto and J. Muñoz. 2008. Effect of the number of response categories on the reliability and validity

- of rating scales. *Methodology* 4 (2) : 73-79.
- Mensah, O.S., C. Jianlin and J.Y. Jun. 2019. A quantile regression analysis of contributing factors influencing agribusiness growth and entrepreneurship development: Evidence from rural China. *Asian Business Research Journal* 4(1): 10-16.
- Milot-Lapointe, F., S.J.P. Boua and E. St-Jean. 2021. Motivation and the careers of agricultural entrepreneurs in Ivory Coast. *Journal of Enterprising Communities: People and Places in the Global Economy* 15(5): 723 -738.
- Office of Agricultural Economics. 2023. Farmer households and registered farmers. (Online). Available: <https://catalog.oae.go.th/dataset/farmer-family> (March 13, 2024). (in Thai)
- Office of Small and Medium Enterprise Promotion. 2019. Definition of SME. (Online). Available: <https://en.sme.go.th/th/cms-detail.php?id=1334&modulekey=332> (March 13, 2024). (in Thai)
- Pindado, E. and M. Sánchez. 2017. Researching the entrepreneurial behaviors of new and existing ventures in European agriculture. *Small Business Economics* 49(2): 421-444.
- Preston, C.C. and A.M. Colman. 2000. Optimal number of response categories in rating scales: Reliability, validity, discriminating power, and respondent preferences. *Acta Psychologica* 104(1): 1-15.
- Putnam, R.D. 2000. *Bowling Alone: The Collapse and Revival of American Community*. Simon & Schuster, New York. 544 p.
- Sandelowski, M., C.I. Voils and G. Knafl. 2009. On quantitizing. *Journal of Mixed Methods Research* 3(3): 208-222.
- Thairath Online. 2022. Ministry of Agriculture launched the Young Smart Farmer network to drive the Thai agricultural sector. (Online). Available: <https://www.thairath.co.th/news/local/bangkok/2469664> (March 14, 2024). (in Thai)
-

การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นอ่อน
จากอับเรณูของฟ้าทะลายโจรในสภาพปลอดเชื้อ

Callus Induction and Plantlet Regeneration from
Anther of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall.ex Nees. *In Vitro*

เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์¹ ฉันทนา วิชรรัตน์² และ จินทภา อ่วมอ้า^{2*}
Therdsak Thonnaluk¹, Chantana Witrut² and Jinhapa Aum-um^{2*}

¹ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ (วิทยาการสมุนไพร) คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

¹ Division of Agriculture (Medicinal Plant Science), Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290. Thailand

² สาขาวิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

² Division of Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290. Thailand

*Corresponding author: Email: jinhapa.kungking25@gmail.com

(Received: 1 September 2024; Revised: 29 January 2026 ; Accepted: 30 January 2026)

Abstract: *In vitro* anther culture of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall.ex Nees. from Chiang Mai for callus induction was studied. The flowers were harvested 9 to 7 days before blooming and were used for anther culture. The anther explants were cultured on Nitsch & Nitsch medium (1967), as modified by Lichter (1982) (NLN), supplemented with 0, 0.1, 0.5, and 1.0 mg/L 6-Benzylaminopurine (BAP) in combination with 0, 0.1, and 0.5 mg/L Naphthalene acetic acid (NAA) for 8 weeks. The results showed that the most effective treatment for callus induction was cultured on NLN medium supplemented with 0.5 mg/L NAA in combination with 1.0 mg/L BAP. In order to increase the callus and induce embryo, callus was cultured at the low temperature of 4°C for 1 and 3 days, it was further transplanted under high temperature of 28, 30 and 32°C for 1, 2, 3 and 4 days on NLN medium supplemented with 0.5 mg/L NAA in combination with 1.0 mg/L BAP. The results showed that the highest weight callus and induced somatic embryo were cultured at a low temperature of 4°C for 1 day and then transplanted at a high temperature of 28°C for 1 day could increase the quantity of callus and induce to form an embryo.

Keywords: King bitter, anther culture, callus, temperature

บทคัดย่อ: การศึกษาการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของฟ้าทะลายโจรจากแหล่งปลูกในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า พัฒนาการของดอกที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของฟ้าทะลายโจร คือ ระยะดอกที่อายุในช่วงวันที่ 9 ถึง 7 วัน ก่อนดอกบาน เมื่อนำดอกในระยะดังกล่าวไปทดลองเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Nitsch and Nitsch medium (1967) ดัดแปลง Lichter (1982) (NLN) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร NLN เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ และเมื่อนำอับละอองเรณูมาเพิ่มปริมาณแคลลัส แล้วนำไปชักนำให้เกิดต้น ด้วยการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิแตกต่างกัน โดยการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 และ 3 วัน ต่อเนื่องด้วยการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28, 30 และ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 วัน พบว่า การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ร่วมกับการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูง 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ในอาหารสูตร NLN ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสของฟ้าทะลายโจรได้ และสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนได้

คำสำคัญ: ฟ้าทะลายโจร การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู แคลลัส อุณหภูมิ

คำนำ

ฟ้าทะลายโจร (King bitter) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees อยู่ในวงศ์ Acanthaceae ถิ่นกำเนิดอยู่ในจีน อินเดีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ฟ้าทะลายโจรของประเทศไทยมีความคล้ายคลึงกันกับฟ้าทะลายโจรในรัฐพินาทุของประเทศอินเดีย ตามรายงานในประเทศอินเดียได้รายงานถึงจำนวนสายพันธุ์ของฟ้าทะลายโจรไว้หลากหลายพันธุ์ อาทิ Niranjana *et al.* (2010) 28 สายพันธุ์ Boopathi (2000) 40 สายพันธุ์ และ Parixit *et al.* (2012) 42 สายพันธุ์ และมีการศึกษาสายพันธุ์ในประเทศไทยโดยการสุ่มตัวอย่าง 26 ตัวอย่าง จาก 16 จังหวัด ได้แก่ นครพนม กาญจนบุรี จันทบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ชุมพร นครศรีธรรมราช เพชรบุรี บุรีรัมย์ สงขลา ระยอง พิษณุโลก ศรีสะเกษ นครราชสีมา ฉะเชิงเทรา และอุดรดิตถ์ จัดได้ 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 คือ สายพันธุ์ นครพนม นครศรีธรรมราช เพชรบุรี และระยอง กลุ่มที่ 2 คือ ชุมพร เชียงราย ศรีสะเกษ พิษณุโลก จันทบุรี และกาญจนบุรี กลุ่มที่ 3 คือ เชียงใหม่ บุรีรัมย์ สงขลา และนครราชสีมา 1 และ กลุ่มที่ 4 คือ นครราชสีมา 2

(Maison *et al.*, 2005) จากการศึกษาการเพาะปลูกของฟ้าทะลายโจรในประเทศไทย พบว่า การปลูกฟ้าทะลายโจรยังมีน้อย ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค และสายพันธุ์ฟ้าทะลายโจรที่เพาะปลูกในประเทศไทยในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์พื้นเมืองที่เกษตรกรปล่อยให้ผสมพันธุ์กันเองตามธรรมชาติ (Department of Agricultural Extension, 2019) หากต้องการสายพันธุ์ที่เป็นพันธุ์ลูกผสม (F1 hybrid) เพื่อใช้ในทางการค้า ต้องเริ่มจากการสร้างพ่อแม่พันธุ์ที่เป็นพันธุ์แท้เพื่อนำไปใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม โดยปกติใช้เวลา 5-10 ปี หรือ 7 รอบการผสม เพื่อให้ยีนทุกคู่อยู่ในสภาพโฮโมไซกัส (homozygous) ซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิม ต้องใช้ระยะเวลานาน ส่งผลให้เสียค่าใช้จ่ายมากในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์และผลิตเมล็ดพันธุ์ การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูเพื่อให้ได้แคลลัสแล้วชักนำให้ได้นต้นอ่อนจึงช่วยร่นระยะเวลาและลดขั้นตอนของการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากแคลลัสสามารถเพิ่มปริมาณและชักนำได้ง่าย การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูใช้เวลาเพียง 3-5 ปี หรือ 1-2 รอบการผสม ในการสร้างสายพันธุ์แท้หรือพันธุ์บริสุทธิ์ การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูเพื่อให้ได้ต้นอ่อนต้องมีกรรมวิธีและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (Chen, 2013)

การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู คือ การนำเซลล์เพศผู้ของพืชมาเพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อม อาหาร อุณหภูมิที่เหมาะสม โดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู มีประโยชน์มากในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช เนื่องจากสามารถสร้างสายพันธุ์แท้ได้ในเวลาสั้น โดยการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม การสร้างสายพันธุ์แท้ทำได้โดยการผสมตัวเองหลายรุ่นเพื่อให้ยีนทุกคู่อยู่ในสภาพโฮโมไซกัส (homozygous) ต้องใช้เวลานาน การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูทำได้โดยการนำเอาอับละอองเกสรที่ยังอ่อน (young pollen) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ เพื่อยับยั้งพัฒนาการของ microspore ไม่ให้ทำหน้าที่เป็น male gametophyte ที่สามารถผสมกับไข่ได้ แต่บังคับให้พัฒนาเป็นแคลลัสหรือเอ็มบริโอแทน ซึ่งดอกหรืออับละอองเรณูที่จะนำมาเลี้ยงควรอยู่ในช่วงการแบ่งเซลล์ระยะ tetrad ซึ่งเป็นระยะที่สามารถชักนำและเพาะเลี้ยงให้เกิดเป็นต้นอ่อนได้ โดยต้นพืชที่ได้มีโครโมโซมชุดเดียว (haploid plant) กระบวนการเกิดต้นโดยวิธีการเลี้ยงอับละอองเรณูนี้ เรียกว่า androgenesis

อาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมแก่การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูจึงจะสามารถนำไปสู่การเกิดแฮพพลอยด์ คือ การเกิดเป็นแคลลัสก่อน จากนั้นจึงชักนำให้เกิดต้นพืชได้ โดยอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูนั้น มีการศึกษาโดย Chu (1978) ซึ่งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส นอกจากนี้ยังมีการชักนำให้เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของข้าว (*Oryza sativa* L.) พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารเพาะเลี้ยงเป็นปัจจัยหลักในการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูพืชหลายใจ มี 2 ประเภท คือ อาหารกึ่งแข็ง (solid media) และอาหารเหลว (liquid media) อาหารเพาะเลี้ยงมีองค์ประกอบหลัก 4 กลุ่ม ได้แก่ สารอนินทรีย์ (inorganic nutrients) สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) สารอินทรีย์ (organic nutrients) และสารสกัดจากธรรมชาติ (Plant Extracts) (Krudnak, 2011) นอกจากนี้พบว่าแหล่งคาร์บอนที่ได้จากน้ำตาลช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การเพิ่มขนาดของกลุ่มเซลล์ชักนำให้กลุ่มเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะต่าง ๆ กระตุ้นให้เกิดกลไกการพัฒนาไปเป็นต้นของไมโครสปอร์ที่เหมาะสมสำหรับ

การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู และพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส Chaleff and Stolarz (1981)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู เพราะอุณหภูมิที่เหมาะสมช่วยกระตุ้นให้เกิดการชักนำแคลลัสได้มากขึ้น พืชบางชนิดการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูในระยะแรกที่อุณหภูมิสูงจะกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ของละอองเรณูให้เร็วขึ้น (Bajaj, 1990; Krudnak 2011) ซึ่งมีการศึกษาผลของอุณหภูมิที่เพาะเลี้ยงพืช พบว่า การขาดธาตุอาหารในขณะที่พืชได้รับอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตจะช่วยชักนำให้เกิดยอดในการเพาะเลี้ยงเซลล์สืบพันธุ์ (Afele *et al.* 1992) ประกอบกับ Lichter (1982) ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของผักกาดก้านขาว (*Brassica napus*) พบว่า อุณหภูมิที่ได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดคืออุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำการผ่านความเย็น (cold pretreatment) เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู โดยการปรับสภาพด้วยความเย็น เพื่อให้ละอองเรณูพัฒนาเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายต้นอ่อน (embryoid) ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเพื่อให้พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ (Samphantharak, 2003) อุณหภูมิต่ำมีผลทำให้มีการแบ่งเซลล์ได้ 2 นิวเคลียส ที่เหมือนกัน (identical nuclei) ซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานที่เปลี่ยนแปลงไปของเส้นใย spindle ทำให้อัตราการหายใจและการสลายสสารภายในอับละอองเรณูช้าลง ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของละอองเรณู ชะลอการแก่ของเซลล์ กระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ และทำให้เซลล์มีการพัฒนาไปพร้อม ๆ กัน (Meesakul *et al.*, 2005; Zapata *et al.* 1985)

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูสามารถสร้างสายพันธุ์แท้ได้ในระยะเวลาสั้นกว่าวิธีดั้งเดิม ทำให้การปรับปรุงพันธุ์รวดเร็วขึ้น (Ruangsanka *et al.*, 2020) มีการศึกษาในยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) โดยทำการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู พบว่า สามารถชักนำเป็นต้นอ่อนได้ (Nitsch and Nitsch, 1969) และมีความวิจัยที่ทำการศึกษาศึกษาการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูจากข้าวโพด (*Zea mays* L.) พบว่า หลังจากผ่านการเลี้ยงได้

14 วัน อับละอองเรณูมีการตอบสนองที่ร้อยละ 18.3 และร้อยละ 19.2 สามารถเป็นแคลลัสและชักนำเป็นต้นได้ เมื่อทำการตรวจสอบพบว่า เป็นพืช haploid (Genovesi and Collins, 1982) จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงอับเรณูของทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) โดยการนำอับเรณูของดอกทานตะวันที่มีปริมาณน้ำมันสูงมาทำการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู พบว่า ปัจจัยของความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของทานตะวันเพื่อให้ได้สายพันธุ์แท้จะต้องประกอบด้วย อาหารที่เพาะเลี้ยง แสง อุณหภูมิ และคุณภาพในการปลูก การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูยังสามารถเพิ่มปริมาณของพืชได้อย่างรวดเร็ว และได้ประสิทธิภาพ (Krudnak, 2011)

อุปกรณ์และวิธีการ

นำดอกฟ้าทะลายโจรในแหล่งปลูกเชียงใหม่ที่มีอายุของการพัฒนาของดอกช่วง 9 ถึง 1 วันก่อนดอกบาน มาตัดแยกดอกอย่างระมัดระวังไม่ให้อับละอองเรณูได้รับความเสียหาย นำอับละอองเรณูมาตัดแยกบนกระจกสไลด์ แล้วหยดสีย้อม acetocarmine (Loba, INDIA) ความเข้มข้น 0.002 M จำนวน 1-2 หยด แล้วกดอับละอองเรณูให้กระจายตัวด้วยปลายมีดผ่าตัด จากนั้นปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ โดยใช้วิธี squash technique ซึ่งเป็นการนำกระดากชำระพักครึ่งแล้วสอดสไลด์ให้ด้านที่มีกระจกปิดสไลด์อยู่ด้านใน กดเบา ๆ ด้วยนิ้วหัวแม่มือให้อับละอองเรณูแตกออกราบกับสไลด์ ตรวจสอบฟองอากาศ แล้วนำไปตรวจดูการแบ่งเซลล์ของอับละอองเรณูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ microscope (ยี่ห้อ Olympus รุ่น CX23 ประเทศ ญี่ปุ่น) เพื่อศึกษาการแบ่งเซลล์ของดอกที่อยู่ในระยะ tetrad เพื่อให้ได้ช่วงอายุของดอกที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู

1. การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนของฟ้าทะลายโจร

นำดอกที่มีช่วงอายุที่เหมาะสมมาฟอกฆ่าเชื้อผิวภายนอกด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 5 นาที เมื่อครบระยะเวลาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง ในตู้ปลอดเชื้อ นำไปแยกอับละอองเรณู แล้วจึง

นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร NLN (Nitsch and Nitsch medium (1967) ดัดแปลง Lichter (1982)) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 คือ สารควบคุมการเจริญเติบโต 6-benzylaminopurine (BAP) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และปัจจัยที่ 2 คือสารควบคุมการเจริญเติบโต naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งสิ้นจำนวน 12 สูตรอาหาร โดยใช้น้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.7-5.8 จากนั้นนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในที่มืด 1 สัปดาห์ แล้วจึงนำไปเลี้ยงไว้ในที่มีแสง โดยมีความเข้มแสง 3,000 ลักซ์เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกข้อมูลจำนวนอับละอองเรณูที่พัฒนาเป็นแคลลัส (ร้อยละ) น้ำหนักแคลลัส (มิลลิกรัม) และลักษณะของแคลลัส โดยวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 4×3 (factorial in CRD (Completely Randomized Design) ทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ชิ้นต่อจาน และนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 26 (IBM Corp. (2020). IBM SPSS Statistics version 26 Computer software) เมื่อได้สูตรอาหารที่เหมาะสมแล้วจึงจะนำไปเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูต่อในการทดลองที่ 2

2. การศึกษาอุณหภูมิต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนของฟ้าทะลายโจรโดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู

นำอับละอองเรณูของฟ้าทะลายโจรฟอกฆ่าเชื้อผิวภายนอก (ตามขั้นตอนในการทดลองที่ 1) เข้ามาใหม่อีกครั้งแล้วจึงนำไปวางบนสูตรอาหารที่ได้จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนของฟ้าทะลายโจร สูตรอาหารที่มีปริมาณการชักนำให้เกิดแคลลัส และน้ำหนักของแคลลัสมากที่สุด (การทดลองที่ 1) นำมาเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิแตกต่างกัน เพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อนของฟ้าทะลายโจร โดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู โดยวางแผนการทดลองแบบ $2 \times 3 \times 4$ factorial in CRD ประกอบด้วย 3 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 คือ ระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศา

เซลล์เซียส คือเวลา 1 และ 3 วัน ปัจจัยที่ 2 คือ อุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยง คือ 28, 30 และ 32 องศาเซลเซียส และปัจจัยที่ 3 คือระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกัน คือ 1, 2, 3 และ 4 วัน รวมทั้งสิ้นจำนวน 24 กรรมวิธี โดยนำอับละอองเรณูไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 และ 3 วัน หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิ 28, 30 และ 32 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยง 1, 2, 3 และ 4 วัน ในที่มีด จากนั้นจึงนำไปเลี้ยงไว้ในที่มีแสง โดยมีความเข้มแสง 3,000 ลักซ์เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกข้อมูลการเกิดแคลลัส (ร้อยละ) น้ำหนักของแคลลัส (มิลลิกรัม) ลักษณะของแคลลัส และการชักนำให้เกิดต้นอ่อน แล้วโดยวางแผนการทดลองแบบแบบแฟกทอเรียล $2 \times 3 \times 4$ (factorial in CRD (Completely Randomized Design) ทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ซีนต่องาน นำมาวิเคราะห์แปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม (IBM Corp. (2020). IBM SPSS Statistics version 26 Computer software)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

เมื่อนำดอกฟ้าทะลายโจรที่มีอายุของการพัฒนาของดอกช่วง 9 ถึง 1 วันก่อนดอกบาน ไปตรวจดูพัฒนาการแบ่งเซลล์ของอับละอองเรณูในระยะ tetrad ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Figure 1B) พบว่า มีการพัฒนาเซลล์ของดอกฟ้าทะลายโจรในระยะ tetrad มากที่สุดอยู่ในช่วงระยะ 9 ถึง 7 วัน ก่อนดอกบาน (Figure 1A) ซึ่งเป็นระยะดอกที่เหมาะสมของพัฒนาการไมโครสปอร์ที่สามารถนำไปเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู เนื่องจากระยะนี้สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส และสามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ เพราะเป็นระยะที่มีผนังเซลล์บางสามารถชักนำได้ง่าย (Ruangsanka *et al.*, 2020) สำหรับดอกที่อยู่ในช่วง 5 วันก่อนดอกบาน ไปจนถึง 1 วันก่อนดอกบาน มีการพัฒนาไปเป็นละอองเรณูหรือระยะที่สมบูรณ์พร้อมรับการผสมเกสร (Figure 1C) ซึ่งไม่เหมาะสม

ต่อการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู เพราะต้นอ่อนที่ได้อาจเป็นต้นที่ถูกผสมไปแล้ว

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของฟ้าทะลายโจรในปัจจัยหลักทั้ง 2 ชนิด (Table 1) คือ BAP และ NAA พบว่า ความเข้มข้นของ BAP มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย BAP ที่ระดับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดแคลลัสสูงสุดที่ 5.395 ซึ่งมากกว่าการใช้ BAP ที่ 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานที่ระบุว่าไซโตไคนิน โดยเฉพาะ BAP มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และเซลล์เกิดการสูญเสียหน้าที่เฉพาะ (dedifferentiation) ของเนื้อเยื่อพืช ซึ่งเป็นกระบวนการพื้นฐานของการชักนำแคลลัส (George *et al.*, 2008; Thorpe, 2007) นอกจากนี้ การไม่เกิดแคลลัสในชุดควบคุมยังสนับสนุนว่าการมีอยู่ของไซโตไคนินเป็นเงื่อนไขจำเป็นต่อการเริ่มต้นการตอบสนองของเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ (Ikeuchi *et al.*, 2013) และในความเข้มข้นของ NAA ส่งผลต่ออัตราการเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย NAA ที่ระดับ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.491 ซึ่งมากกว่าการใช้ NAA ที่ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าออกซินมีบทบาทในการสนับสนุนการเกิดแคลลัส โดยเฉพาะในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม เนื่องจากออกซินมีส่วนเกี่ยวข้องกับการยึดตัวของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเนื้อเยื่อพืช (Skoog and Miller, 1957; George *et al.*, 2008)

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อน้ำหนักของแคลลัสในฟ้าทะลายโจรในปัจจัยหลักทั้ง 2 ชนิด (Table 2) คือ BAP และ NAA พบว่า ความเข้มข้นของ BAP ส่งผลต่อน้ำหนักแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในชุดที่ไม่เติม BAP ไม่พบการเกิดแคลลัส (NC) ขณะที่การเพิ่มระดับ BAP ส่งผลให้น้ำหนักแคลลัสเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดย BAP ที่ระดับความเข้มข้นที่ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักแคลลัสสูงสุด 0.644 มิลลิกรัม ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า BAP มีบทบาทสำคัญไม่เพียงต่อการชักนำให้เกิด

Table 1. Effect of BAP and NAA on percentage of callus formation of *Andrographis paniculata* cultured on NLN medium for 8 weeks.

Main effects: Factor A: BAP

BAP (mg/L)	Callus formation (%)
0.0	NC
0.1	0.248 c
0.5	2.143 b
1.0	5.395 a
F-test	*

Factor B: NAA

NAA (mg/L)	Callus formation (%)
0.0	1.548 b
0.1	1.801 b
0.5	2.491 a
F-test	*

Interaction effect (BAP × NAA)

BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	Callus formation (%)
0.0	0.0	NC
0.0	0.1	NC
0.0	0.5	NC
0.1	0.0	0.104 e
0.1	0.1	0.245 e
0.1	0.5	0.395 de
0.5	0.0	1.575 cd
0.5	0.1	2.355 c
0.5	0.5	2.498 c
1.0	0.0	4.513 b
1.0	0.1	4.603 b
1.0	0.5	7.070 a
F-test (A×B)		*
CV (%)		25.16

Table 2. Effect of BAP and NAA on callus weight of *Andrographis paniculata* cultured on NLN medium for 8 weeks.

Main effects; Factor A: BAP

BAP (mg/L)	Callus weight (mg)
0.0	NC
0.1	0.121 c
0.5	0.352 b
1.0	0.644 a
F-test	*

Factor B: NAA

NAA (mg/L)	Callus weight (mg)
0.0	0.214 b
0.1	0.275 b
0.5	0.347 a
F-test	*

Interaction effect (BAP × NAA)

BAP (mg/L)	NAA(mg/L)	Callus weight (mg)
0.0	0.0	NC
0.0	0.1	NC
0.0	0.5	NC
0.1	0.0	0.087 g
0.1	0.1	0.123 f
0.1	0.5	0.154 e
0.5	0.0	0.213 d
0.5	0.1	0.416 c
0.5	0.5	0.426 c
1.0	0.0	0.558 b
1.0	0.1	0.562 b
1.0	0.5	0.810 a
F-test (A×B)		*
CV (%)		1.50

Mean values within the same column followed by different superscript letters (a, b, c, etc.) are significantly (*) different according to the F-test at the 95% confidence level ($P < 0.05$). Values with the same letter are not significantly different. NC = no callus formation

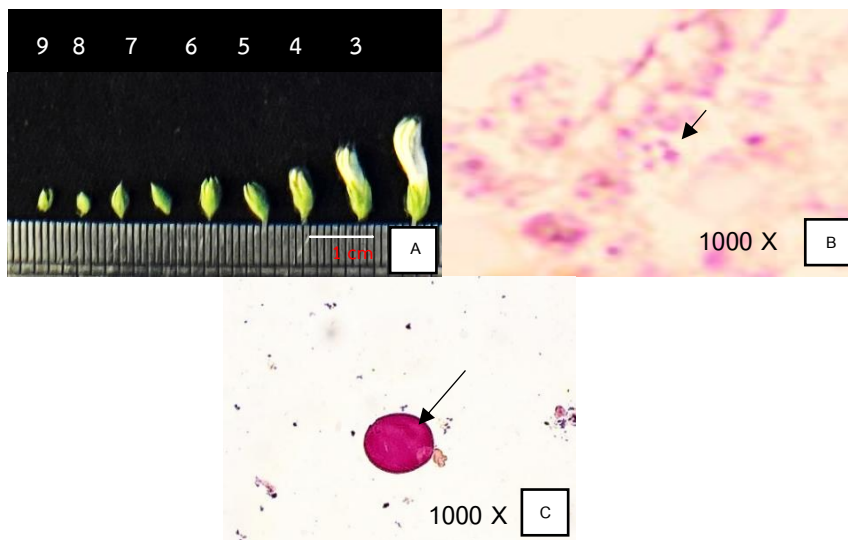


Figure 1. Pollen stage from anther of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall.ex Nees A) young flower bud from left to right, 9 to 1 day old before flower bloom B) tetrad stage and C) pollen

แคลลัสเท่านั้น แต่ยังส่งผลต่อการเจริญ และการสะสมชีวมวลของแคลลัสอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ George et al. (2008) ที่ระบุว่าไซโตไคนินมีบทบาทในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และเพิ่มอัตราการเจริญของเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ นอกจากนี้ Thorpe (2007) ยังรายงานว่าระดับไซโตไคนินที่เหมาะสมสามารถส่งเสริมการเพิ่มน้ำหนักสดของแคลลัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ และในปัจจัยของ NAA ที่ส่งผลต่อน้ำหนักแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย NAA ที่ระดับ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักแคลลัสสูงสุด 0.347 มิลลิกรัม ผลการทดลองนี้สะท้อนบทบาทของออกซินในการส่งเสริมการขยายตัวของเซลล์และการเพิ่มน้ำหนักของเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะเมื่อใช้อยู่ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม

จากการศึกษาปฏิสัมพันธ์ของความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของฟ้าทะลายโจรต่อการเกิดแคลลัสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสองชนิดมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกัน ระหว่าง BAP กับ NAA โดยการใช้ความเข้มข้นสาร BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณค่าเฉลี่ยของการเกิดแคลลัสสูงที่สุดที่ร้อยละ 7.70 ที่น้ำหนัก 0.810

มิลลิกรัม (Table 2) สูตรที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เมื่อพิจารณาจะเห็นได้ว่าหากใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด มีการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพียงชนิดเดียว (Table 1) จากการศึกษาปริมาณการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่า หากเติม BAP ร่วมกับ NAA เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณของการชักนำแคลลัสเพิ่มขึ้นด้วย แต่ต้องอยู่ในสมดุล หากมากเกินไปทำให้พืชได้รับความเสียหายและตายได้ ด้านรูปแบบของแคลลัส การเกาะกันของแคลลัสที่พบในการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู ทั้งการเกาะกันแบบหลวม (Figure 2A) หรือการเกาะกันแบบแน่น (Figure 2D) หรือแคลลัสที่เกิดขึ้นมาจากสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของทั้งไซโตไคนินและออกซินที่สูญเสียไป และปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ เช่น ระยะการพัฒนาดอก อุนหภูมิ และปริมาณของซูโครส การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง BAP และ NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน และออกซิน ตามลำดับ ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินมีคุณสมบัติเกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางสรีรวิทยาของพืช ได้แก่ การลดอิทธิพลการข่มของตายอดทำให้ตาข้างเกิด

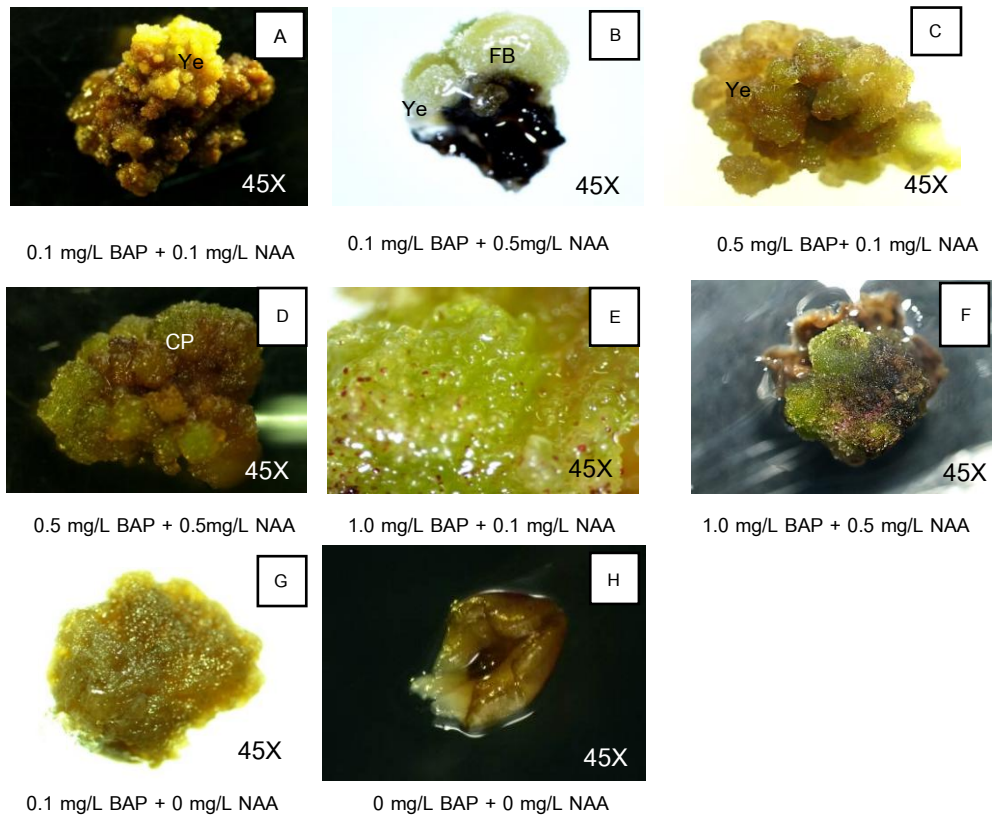


Figure 2. Characteristics of callus derived from anther culture of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall.ex Nees. on NLN medium supplemented with BAP and NAA after A) 2 weeks, B) 5 weeks (green callus), C) 20 days (friable callus and yellowish callus), D) 30 days (friable callus), E) 35 days (friable callus), F) 35 days (compact callus), G) 35 days (friable callus) and H) death
* CP (compact callus), FB (friable callus), Ye (yellowish callus), Gr (green callus), PP (purple callus)

การเจริญและการพัฒนาของอวัยวะ สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินมีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยึดตัวของเซลล์ และยังมีผลกระตุ้นการเกิดราก (Azizi *et al.*, 2015) การประเมินว่าควรใช้สารในกลุ่มไซโทไคนิน และออกซินในปริมาณเท่าไรเพื่อการพัฒนายอดใหม่ของพืชนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืช สายพันธุ์ รวมถึงพันธุกรรมของพืชชนิดนั้น ๆ ด้วย (Afza *et al.*, 2000)

จากการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสใน 8 สัปดาห์ ใน 3 ปัจจัยหลัก พบว่า ผลของระยะเวลาการเพาะเลี้ยง (Incubation time) จาก Table 3 มีผลต่อร้อยละการเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

โดยการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 วันให้ร้อยละการเกิดแคลลัส 2.38 ซึ่งสูงกว่า เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยง 3 วัน ที่ให้ร้อยละการเกิดแคลลัสที่ 1.87 ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงในระยะเวลานานช่วยลดความเครียดของเนื้อเยื่อและยังคงศักยภาพของเซลล์ในการเกิดกระบวนการ dedifferentiation ได้ดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ George *et al.* (2008) ที่ระบุว่าการควบคุมระยะเวลาการเพาะเลี้ยงอย่างเหมาะสมมีผลต่อความสามารถของเนื้อเยื่อพืชในการตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในสภาพปลอดเชื้อ และผลของอุณหภูมิ (Temperature) พบว่ามีผลต่อร้อยละการเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

Table 3 Effect of incubation time, temperature, and curing period on percentage of callus formation of *Andrographis paniculata* cultured on NLN medium supplemented with 1 mg/L BAP and 0.5 mg/L NAA for 8 weeks.

Main effects Factor A: Incubation time

Time (day)	Callus formation (%)
1	2.38 a
3	1.87 b
F-test	*

Factor B: Temperature

Temperature (°C)	Callus formation (%)
28	5.07 a
30	0.98 b
32	0.34 c
F-test	*

Factor C: Curing period

Curing (day)	Callus formation (%)
1	3.51 a
2	2.88 b
3	1.41 c
4	0.72 d
F-test	*

Interaction effect (Time × Temperature × Curing)

Time (day)	Temp (°C)	Curing (day)	Callus formation (%)	Callus color	Callus type
1	28	1	7.72 a	Gr, Vi, Ye	CP
		2	7.10 ab	Gr	CP
		3	5.21 c	Gr	CP
		4	2.90 d	Gr	CP
1	30	1	2.51 de	Gr	CP
		2	0.99 gh	Gr	CP
		3	0.31 hij	Ye	FB

Table 3 Effect of incubation time, temperature, and curing period on percentage of callus formation of *Andrographis paniculata* cultured on NLN medium supplemented with 1 mg/L BAP and 0.5 mg/L NAA for 8 weeks. (continued)

Interaction effect (Time × Temperature × Curing)

Time (day)	Temp (°C)	Curing (day)	Callus formation (%)	Callus color	Callus type
1	32	4	0.26 ij	Ye	FB
		1	0.69 ghij	Ye	FB
		2	0.94 ghi	Ye	FB
		3	0.05 j	Ye, Wh	FB
3	28	4	NC	–	–
		1	7.56 a	Gr, Wh	FB, CP
		2	6.81 b	Gr, Wh	FB, CP
		3	2.09 e	Gr, Wh	FB, CP
3	30	4	1.20 fg	Gr, Wh	FB, CP
		1	1.83 ef	Ye	FB
		2	1.13 g	Ye	FB
		3	0.81 ghi	Br	FB
3	32	4	NC	–	–
		1	0.75 ghi	Br	FB
3	32	2	0.33 hij	Br	FB
		3	NC	–	–
		4	NC	–	–
F-test (AxBxC)			*		
CV (%)			18.92		

Mean values within the same column followed by different superscript letters (a, b, c, etc.) are significantly (*) different according to the F-test at the 95% confidence level ($P < 0.05$). Values with the same letter are not significantly different.

NC = no callus formation = friable callus, CP = compact callus. Gr = green, Ye = yellow, Br = brown, Vi = violet, Wh = white.

ให้ร้อยละการเกิดแคลลัสสูงสุดที่ 5.07 รองลงมาคือ 30 องศาเซลเซียส ที่ 0.98 และ 32 องศาเซลเซียสที่ 0.34 ตามลำดับ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงเกินไปส่งผลเชิงลบต่อการแบ่งเซลล์ และควมมีชีวิตของเนื้อเยื่อ ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับความเครียดจากความร้อน (Heat stress) ที่รบกวนกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ (Thorpe, 2007) ทั้งนี้ George *et al.* (2008) รายงานว่าอุณหภูมิประมาณ 25 ถึง 28 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสของพืชส่วนใหญ่ในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และผลของระยะเวลาการเพาะเลี้ยงหลังเพาะเลี้ยงด้วยความร้อน (Curing period) ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงมีผลต่อร้อยละการเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการเพาะเลี้ยงด้วยความร้อนเป็นเวลา 1 วันให้ร้อยละการเกิดแคลลัสสูงสุดที่ 3.51 และลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเพิ่มระยะเวลาเป็น 2 3 และ 4 วัน ตามลำดับ ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่าการเพาะเลี้ยงด้วยความร้อนเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดความเครียดสะสม ส่งผลให้ความสามารถในการแบ่งเซลล์ลดลง และนำไปสู่การเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ikeuchi *et al.* (2013) ที่ระบุว่าความเครียดที่มากเกินไปอาจยับยั้งการเกิดแคลลัสและเร่งกระบวนการชราของเซลล์

จากการศึกษาอุณหภูมิการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสและชักนำให้เกิดขึ้น เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อุณหภูมิมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันกับระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงทั้งอุณหภูมิสูงและอุณหภูมิต่ำ โดยอุณหภูมิร่วมกับระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่ใช้แล้วชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด คือ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 1 วัน ร่วมกับอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 1 วัน ให้ผลการชักนำแคลลัสเฉลี่ยสูงสุดที่ร้อยละ 7.72 (Table 3) และที่ให้ผลการชักนำน้อยที่สุด คือ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 3 วัน ร่วมกับ 32 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 2 วัน ให้ผลการชักนำแคลลัสเฉลี่ย 0.33 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิที่ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ คือ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 1 วัน ร่วมกับ 32 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 4 วัน เช่นเดียวกันกับ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 3 วัน ร่วมกับ 32 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 4 วัน

และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 3 วัน ร่วมกับ 32 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 3 วัน (Table 3) จากผลพบว่า ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระยะการเพาะเลี้ยง 1 วัน ร่วมกับ 28 องศาเซลเซียส ประสบความสำเร็จในการชักนำแคลลัสได้มากที่สุด และยังชักนำให้เกิดขึ้นอ่อน (Figure 3C) เพราะการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำก่อนทำให้อัตราการหายใจ และการใช้พลังงานภายในอับเรณูต่ำลง ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของละอองเรณูเพิ่มขึ้น (Zhang and Tan, 1997) ชักนำให้เกิดกลไกการพัฒนาไปเป็นต้นของละอองเรณู อันเกิดจากการยับยั้งการแสดงออกของยีน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ โดยอุณหภูมิต่ำทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการพัฒนาของละอองเรณูจาก gametophytic ไปเป็น sporophytic (Chen, 1978; Raina, 1983) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงของพืชจะอยู่ในช่วง 28 - 32 องศาเซลเซียส เพื่อกระตุ้นให้พืชเกิดความเครียดทำให้พืชตอบสนองต่อความเครียดโดยสิ่งเร้าที่เกิดจากอุณหภูมิ (Touraev and Heberle-Bors, 2003) ปัจจัยที่ทำให้พืชไม่เจริญเติบโต คือ อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงหากอุณหภูมิที่ใช้สูงเกินไป และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงนานเกินไป อาจทำให้พืชไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ปัจจัยเรื่องของอุณหภูมิ อาหารเพาะเลี้ยง และสารควบคุมการเจริญเติบโต ถือเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของพืชหลายใจ สอดคล้องกับ Krudnak (2011) ได้กล่าวว่าการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการผลิตพืชสายพันธุ์แท้

จากการศึกษาด้านรูปแบบของแคลลัส พบว่า สีของแคลลัสที่พบในการเพาะเลี้ยงจากอับละอองเรณู พืชหลายใจ มีสีเขียว สีเหลือง (Figure 3A) และยังพบแคลลัสที่มีสีม่วง (Figure 3B) ที่เกิดจากการผลิตสารทุติยภูมิคือ สารสีกลุ่มแอนโทไซยานิน หรือ ฟลาโวนอยด์ สำหรับแคลลัสสีเขียวเกิดจากการผลิตสารสีกลุ่มคลอโรฟิลล์ (Smykalova *et al.*, 2006) สีน้ำตาล เกิดจากแคลลัสของพืชหลายใจเมื่อมีอายุเกิน 60 วัน พบว่า เกิดการ-browning ซึ่งลักษณะแคลลัสเป็นสีน้ำตาล คือ ไม่สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นได้ สอดคล้องกับ Liang *et al.* (1978) ได้กล่าวไว้ว่า แคลลัสอายุเกินกว่า 60 วัน

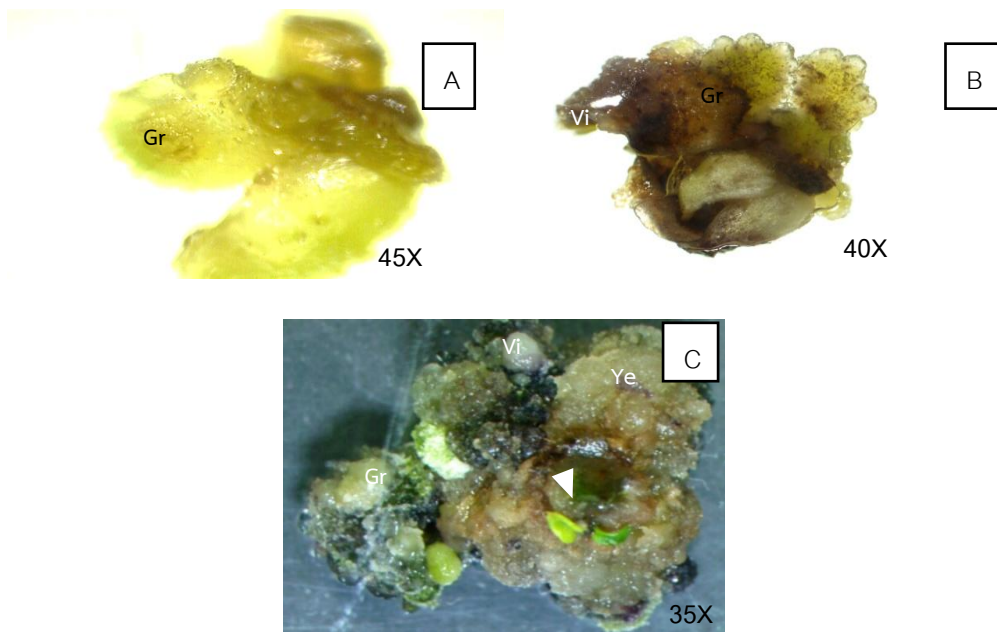


Figure 3. Embryo formation of callus derived from anther culture of *Andrographis paniculata* on NLN (Nitsch and Nitsch medium (1967)), medium supplemented with BAP 1 mg/l and 0.5 mg/L NAA culturing at 4°C for 1 day, was further transplanted to high temperature of 28°C for 1 day A) 2 weeks, B) 4 weeks and C) embryo (White arrow)

* CP (compact callus), FB (friable callus), Ye (yellowish callus), Gr (green callus), PP (purple callus)

ไปแล้ว ไม่สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นได้ และตายในที่สุด ความสามารถในการฟื้นฟูของแคลลัสที่แตกต่างกันมีสาเหตุมาจากอาหารเพาะเลี้ยงและอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง ไม่ว่า สี หรือการพัฒนาไปเป็นยอดหรือราก สีของแคลลัสที่มีสีเขียว จะให้ร้อยละของการพัฒนาไปเป็นยอดกับรากได้ดีกว่าแคลลัสที่เป็นสีเหลือง ซึ่งแคลลัสสีเหลืองมีการพัฒนาที่ต่ำ สีของแคลลัสอาจเป็นทางเลือกให้กับนักพัฒนาเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกเพื่อสร้างความแตกต่างได้

เมื่อพิจารณาในส่วนของการเกาะกันของแคลลัส พบว่า แคลลัสที่เกาะกันแบบแน่นมีการพัฒนาไปเป็นต้นได้มากกว่าแคลลัสที่เกาะกันหลวม สอดคล้องกับ Phamorn and Na Chiangmai (2009) และ Sangduen and Khampilanon (2005) ที่ทำการทดลองเรื่องผลของอาหารและชิ้นส่วนพืชในการชักนำให้เกิดแคลลัสของสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.) พบว่า ลักษณะของแคลลัส

ที่เหมาะสมในการชักนำให้พัฒนาเจริญไปเป็นต้นได้ คือ ลักษณะแคลลัสที่มีการเกาะกันแบบแน่น (compact callus) แต่ขัดแย้งกับ Sayvongjai *et al.* (2016) ที่ทำการทดลองเรื่องการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดจากเอนโดสเปิร์มของเมล็ดค้ออ่อนสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.) พบว่า แคลลัสที่มีการเกาะกันแบบหลวม (friable callus) สามารถเจริญไปเป็นยอดอ่อนได้ แต่เมื่อพิจารณาผลการทดลองของการเพาะเลี้ยงอับเรณูของฟ้าทะลายโจร แสดงให้เห็นว่า แคลลัสที่มีสีเขียวมีรูปแบบการเกาะกันแบบแน่น สามารถพัฒนาเป็นต้นได้มากกว่าแคลลัสที่เกาะกันแบบหลวม

สรุป

ดอกของฟ้าทะลายโจรที่มีการพัฒนาของระยะการแบ่งเซลล์ที่อยู่ในระยะ tetrad อัตราสูงในช่วงระยะ

ดอกอายุ 9 ถึง 7 วัน ก่อนดอกบาน ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของฟ้ายะลวยโจรอาหารสูตร NLN ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุดร้อยละ 7.07 ส่วนสูตรอาหารที่ไม่เติม BAP แต่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสในฟ้ายะลวยโจร

การเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร NLN ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ร่วมกับการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ทำให้แคลลัสฟ้ายะลวยโจรมีปริมาณสูงที่สุดร้อยละ 7.72 ส่วนการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน และการเพาะเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิสูง 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ไม่สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสของฟ้ายะลวยโจรได้ การเพาะเลี้ยงแคลลัสเพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อน พบว่าอาหาร NLN ที่เติมสาร BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่ในอุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ร่วมกับการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ทำให้แคลลัสฟ้ายะลวยโจรชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ โดยมีการชักนำให้เกิดต้นมากที่สุด 1 ต้น ซึ่งขั้นตอนต่อไปจะนำตรวจสอบโครโมโซมว่าเป็น Haploid ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากโครงการปรับปรุงพันธุ์พืชศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ มูลนิธิชัยพัฒนา ปีงบประมาณ 2562-2565 และคณะกรรมการการเกษตร สาขาวิทยาการสมุนไพร ณ ห้องปฏิบัติการทางชีวภาพทางพืชสมุนไพร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการปฏิบัติงาน ตลอดจน

เอกสารอ้างอิง

- Afele, J.C., L.W. Kannenberg, R. Keats, S. Sohota and E.B. Swanson, 1992. Increased induction of microspore embryos following manipulation of donor plant environment and culture temperature in corn (*Zea mays* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 28: 87-90.
- Afza, R., M. Chen., F. Zepata, J. Xie., K.H. Fundi, K.S. Lee, E.B. Mucio and A. Kodym. 2000. Effect of spikelet position on rice anther culture efficiency. *Plant Science* 153(2): 155-159.
- Azizi, P., M.Y. Rafii., M. Maziah., S.N.A. Abdullah, M.M. Hanafi, M.A. Latif, A.A. Rashid and M. Sahebi. 2015. Understanding the shoot apical meristem regulation: A study of the phytohormones, auxin and cytokinin, in rice. *Mechanisms of Development* 135: 1-15.
- Bajaj, Y.P.S. 1990. *In vitro* production of haploids and their use in cell genetics and plant breeding. pp. 3-44. *In*: Y.P.S. Bajaj (ed.). *Haploid in Crop Improvement I. Biotechnol in Agriculture and Forestry*. Vol 12. Springer Berlin, Heidelberg.
- Boopathi, C. 2000. *Andrographis* spp.: a source of bitter compounds for medicinal use. *Ancient Science of Life* 19(3-4): 164-168
- Chaleff, R.S. and A. Stolarz. 1981. Factors influencing the frequency of callus formation among cultured rice (*Oryza sativa*) anthers. *Physiologia Plantarum* 51(2): 201-206.

- Chen, C. 1978. Effects of sucrose concentration on plant production in anther culture of rice. *Crop Science* 18(5): 905-906.
- Chen, Z.J. 2013. Genomic and epigenetic insights into the molecular bases of heterosis. *Nature Reviews Genetics* 14(7): 471 - 482.
- Chu, C.C. 1978. The N6 medium and its applications to anther culture of cereal crops. In: *Proceedings of Symposium on Plant Tissue Culture*, 25 - 30 May 1978, Science Press, Peking.
- Department of Agricultural Extension. 2019. *Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees* (Fa Thalai Chon). Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand. 70 p. (in Thai)
- George, E.F., M.A. Hall and G.J. De Klerk. 2008. *Plant propagation by tissue culture*. 3rd ed. Springer, Dordrecht. 540 p.
- Genovesi, A.D. and G.B. Collins. 1982. *In vitro* production of haploid plants of corn via anther culture. *Crop Science* 22(6): 1137 - 1144.
- Ikeuchi, M., K. Sugimoto and A. Iwase. 2013. Plant callus: Mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell* 25(9): 3159 - 3173.
- Krudnak, A. 2011. Anther culture and effects of boron on pollen quality of sunflower. M.S. Thesis. Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima. 91 p. (in Thai)
- Liang, C.C., Y.H. Chou and C.M. Chen. 1978. A study of submicroscopic structure and metabolic blocks in the albino anther plants of rice. pp. 161 - 166. In: *Proceedings of Symposium on Plant Tissue Culture*. Science Press, Beijing.
- Lichter, R. 1982. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 105(5): 427-434.
- Maison, T., H. Volkaert, U. Boonprakob and Y. Paisooksantivatana. 2005. Genetic diversity of *Andrographis paniculata* Wall. ex Nees as revealed by morphological characters and molecular markers. *Kasetsart Journal (Natural Science)* 39(3): 388 - 399.
- Meesakul, M., P. Pongtongkam and S. Peyachoknagul. 2005. Anther culture of F1 Hybrid Rice and BC1 Hybrid Rice for the Production of Doubled Haploid. Kasetsart University Bangkok. 539 p. (in Thai)
- Niranjan, A., S.K. Tewari and A. Lehri. 2010. Biological activities of Kalmegh (*Andrographis paniculata* Nees.) and its active principles -A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources* 1(2): 125 - 135.
- Nitsch, C. and J.P. Nitsch. 1967. The induction of flowering in vitro in stem segments of *Plumbago indica* L. I. The production of vegetative buds. *Planta* 72: 355 - 370.
- Parixit, B., C. Bharath, N. Rajarajeshwari and S. Ganapaty. 2012. The genus *Andrographis*. a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 4(1): 1835 - 1856.
- Phamorn, W. and P. Na Chiangmai. 2009. Effects of culture media and explant types on callus induction of physic nut (*Jatropha curcas* L.). *Journal of Agriculture* 25(2): 125 - 133. (in Thai)

- Raina, S.K. 1983. Recent progress in rice anther culture studies. pp. 159-168. *In*: S.K. Sen and K.I. Giles. (eds). Plant Cell Culture in Crop Improvement. Springer, New York.
- Ruangsaen, S., N. Homprae and J. Ruangne. 2020. Stages of microspore development in various sizes of *Lilium longiflorum* var. *formolongo* flower buds. PSRU Journal of Science and Technology 5(1): 23-30. (in Thai)
- Samphantharak, K. 2003. Plant Breeding, Principle Methodology and Concept. Kasetsart University, Bangkok. 237 p. (in Thai)
- Sangduen, N. and S. Khumphiranont. 2005. Agricultural Biotechnology. Kasetsart University, Bangkok. 266 p. (in Thai)
- Sayvongjai, V., T. Chetianukornku and T. Pankasemsuk. 2016. Callus and shoot induction from endosperm of immature physic nut seed. Journal of Agriculture 32(3) : 331 - 338. (in Thai)
- Skoog, F., and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symposia of the Society for Experimental Biology. 11: 118-130.
- Smykalova, I., M. Vetrovcova, M. Klima, I. Machackova and M. Griga. 2006. Efficiency of microspore culture for doubled haploid production in the breeding project "Czech Winter Rape". Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 42(2): 58-71
- Thorpe, T.A. 2007. History of plant tissue culture. Molecular Biotechnology 37(2): 169-180.
- Tourae, A. and E. Heberle-Bors. 2003. Anther and microspore culture in tobacco. pp. 223 - 228. *In*: M. Maluszynski, K. J. Kasha, B. P. Forster, and I. Szarejko (eds.). Doubled Haploid Production in Crop Plants. Springer, Dordrecht.
- Zapata, F.J. 1985. Rice Anther Culture at IRRI. pp. 85 - 95. *In*: Proceeding of the Inter-Center Seminar on International Agricultural Research Centers (IARCs) and Biotechnology. IRRI, Los Banos.
- Zhang, C.Y. and B.K.H. Tan. 1997. Mechanisms of cardiovascular activity of *Andrographis paniculata* in the anaesthetized rat. Journal of Ethnopharmacology 56(2): 97-101.
-

อิทธิพลของระยะเวลาการให้แสงและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ต่อการเจริญเติบโตของหงส์เหินภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

Influence of Light Durations and Sucrose Concentrations on Growth and Development of *Globba* spp. Under *In Vitro*

อรณิด คำยง * และ กัลยวรรณ เมืองเปรม

Oranid Kumyong* and Kanyawan Mueangprem

สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พิษณุโลก อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

Division of Plant Science, Faculty of Science and Agricultural Technology,

Rajamangala University of Technology Lanna Phitsanulok, Muang, Phitsanulok, 65000, Thailand

*Corresponding author: Email: Oranid@rmutl.ac.th

(Received: 25 April 2025; Revised: 29 January 2026 ; Accepted: 30 January 2026)

Abstract: *Globba* is an important commercial flower of Thailand. It is popular cut flowers to worship during Buddhist Lent or other festivals. *Globba* flowers come in various colors, including purple, white, and pink. However, flowers can be cultivated as potted plants or used to decorate buildings and sites. The objective of this research was to determine the optimal light duration in combination with sucrose concentrations for the growth of *Globba* under *in vitro* conditions. The experiments utilized a 2x5 factorial in a completely randomized design, with factor A representing the influence of light durations from fluorescent light intensity of 3,000 Lux (8 and 16 hr/day) and factor B representing the concentrations of sucrose (0, 30, 40, 50, and 60 g/L). This research was conducted under 25±2 °C *in vitro* for 5 weeks. The results showed that no significant difference was found between light durations of 8 and 16 hr/day, while sucrose concentration were significantly different ($P<0.01$), The influence of light duration of 8 and 16 hr/day, when supplemented with 30 g/L sucrose, showed significantly different ($P<0.01$) compared to other treatments. However, interaction between light durations of 16 hr/day supplemented with 30 g/L sucrose was more suitable for shoot growth, the number of leaves, plant height and root number than other treatments.

Keyword: Light, sucrose concentration, *Globba*, *in vitro*

Copyright © Journal of Agricultural Research and Communications. All rights reserved.

บทคัดย่อ: หงส์เหิน (*Globba* spp.) เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย นิยมตัดดอกไปไหว้พระช่วงวันเข้าพรรษา หรือเทศกาลต่าง ๆ ซึ่งดอกของหงส์เหินมีหลายสี เช่น สีม่วง ขาว ชมพู เป็นต้น นอกจากนี้ยังนำไปปลูกเป็นไม้กระถางสำหรับตกแต่งอาคารสถานที่เพื่อความสวยงาม วัตถุประสงค์ของงานทดลองนี้เพื่อศึกษาระยะเวลาการให้แสงร่วมกับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหงส์เหินในสภาพปลอดเชื้อ วางแผนการทดลองแบบ 2x5 แฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (2x5 Factorial in CRD) โดยปัจจัย A คือ ระยะเวลาการให้แสงไฟเทียมจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (Lux) ได้แก่ 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ปัจจัย B คือ ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ได้แก่ 0, 30, 40, 50 และ 60 กรัมต่อลิตร ทำการเลี้ยงต้นหงส์เหินในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า อิทธิพลของระยะเวลาการให้แสงที่ 8 และ 16 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสมีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างระยะเวลาการให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมง ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) กับกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างไรก็ตามอิทธิพลร่วมระหว่างการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของหงส์เหินด้านจำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงต้น และจำนวนราก มากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ

คำสำคัญ: แสง, ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส, หงส์เหิน, สภาพปลอดเชื้อ

คำนำ

หงส์เหิน (*Globba* spp.) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae พบมากกว่า 100 ชนิด มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย (Mabberley, 2017) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยและพม่า (Sam and Ibrahim, 2016) สำหรับในประเทศไทยพบหงส์เหินได้ทุกภาคโดยเฉพาะภาคเหนือและภาคกลาง เช่น เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พิชณุโลก เป็นต้น นิยมปลูกเพื่อตัดดอกจำหน่ายหรือผลิตเป็นไม้ดอกประเภทกระถาง ปัจจุบันทั้งในและต่างประเทศนิยมผลิตเพื่อจำหน่ายและมีความต้องการทางเศรษฐกิจเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีลักษณะรูปทรงของดอกที่แปลกตา สีสันสวยงาม เช่น สีชมพู ม่วง ขาว แดง เป็นต้น ดอกของหงส์เหินมีลักษณะคล้ายนกหรือหงส์ที่กำลังเดินรำจึงถูกเรียกชื่อว่า “หงส์เหิน” ข่อดอกมีใบประดับสีสันสวยงาม ดอกมีขนาดเล็กมาก (Iwamoto *et al.*, 2020) สำหรับการส่งออกหัวพันธุ์นิยมส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่นและเนเธอร์แลนด์ ในประเทศไทยมีการนำไม้ดอกสกุลนี้ไปใช้ในการปักแจกัน ไหว้พระ ตักบาตรในวันเข้าพรรษา เนื่องจากอายุการปักแจกันของดอกยาวนานและสามารถผลิตเป็นไม้ดอกประเภทกระถางส่งผลให้ปริมาณความต้องการหงส์เหินในปัจจุบันเพิ่ม

มากขึ้น เช่น เมืองกวังโจว และต่งกวน ของสาธารณรัฐประชาชนจีน หงส์เหินนิยมขยายพันธุ์ด้วยวิธีการแยกหน่อ และใช้หัวพันธุ์ สำหรับการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการที่ช่วยเพิ่มปริมาณต้นในระยะเวลาอันรวดเร็ว รวมทั้งเป็นการอนุรักษ์พรรณพืชไว้ไม่ให้สูญหายให้คนรุ่นหลังและเพื่อใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ ต่อไป (Yuanjun *et al.*, 2024, Nontalee *et al.*, 2017)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชสกุลหงส์เหินในสภาพปลอดเชื้อ มีอยู่หลายประการ เช่น อุณหภูมิ (temperature) ความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity) สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator; PGR) ได้แก่ สารกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน เช่น IAA, TDZ, BAP และ Kinetin เป็นต้น สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแม้จะเป็นเทคนิคที่ทำให้เพิ่มปริมาณต้นรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น แต่มีปัจจัยที่ทำให้พืชสามารถอยู่ภายใต้สภาพปลอดเชื้อได้ มีการพัฒนาและการเจริญเติบโตที่ดี คือ แสง (light) และน้ำตาลซูโครส (sucrose) เนื่องจากแสงเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยการเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีสำหรับนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช อีกทั้งปริมาณความเข้มแสงช่วยกระตุ้นให้โปรพลาสติด (proplastid)

เจริญเป็นคลอโรพลาสต์ และคุณภาพของแสงมีผลต่อประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช (Kim *et al.*, 2004) สำหรับพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่ออยู่ในที่มีมีความเข้มแสงน้อยหรือมากเกินไปจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ทำให้พืชเกิดการยืดเข้าหาแสงและเกิดความผิดปกติ (Mahlberg and Yarus, 1977) ระยะเวลาการให้แสงจึงมีความสำคัญ โดยมีรายงานว่า เมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักราบที่ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ตามด้วยการให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน นาน 12 สัปดาห์ในระหว่างเลี้ยงในอาหาร Vacin and Went (VW) มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงสุด 92.64 เปอร์เซ็นต์ (Kongbangkerd and Wannachart, 2006) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าระยะเวลาที่ซึ่งได้รับให้แสง 16-24 ชั่วโมง ช่วยส่งเสริมการเกิดเหง้าชึ่งในหลอดทดลองได้ (Jaimakeaw *et al.*, 2016) สำหรับน้ำตาลเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเนื่องจากเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจำเป็นต้องใช้แสงไฟเทียมจากหลอดไฟ โดยมีรายงานการใช้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์และแสงแอลอีดีได้แก่ แสงสีขาว สีแดง สีน้ำเงิน และสีเขียว เป็นต้น สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชควรเติมน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานเพื่อให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดี ปัจจุบันมีการใช้น้ำตาลสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ น้ำตาลซูโครส กลูโคส มอลโตส แล็กโตส กาแล็กโตส และแมนนิทอล (Akhtar *et al.*, 2000) สำหรับการทดลองนี้ใช้น้ำตาลซูโครส เนื่องจากเป็นน้ำตาลที่สามารถถูกย่อยสลายให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุ็กโตส ซึ่งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวโดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคสจะถูกนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ (Boerio- Goates, 1991) ทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตและนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ ทั้งนี้มีรายงานการศึกษาการให้แสงร่วมกับการใช้น้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยอดหนุ่หวานที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้แสงแอลอีดีสีขาว ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต เพิ่มการสร้างคลอโรพลาสต์และพบปากใบ anisocytic มีขนาดใหญ่ แสงสีเขียวส่งผลต่อความสูงต้น นอกจากนี้ยังพบว่าแสงสีแดงและสีน้ำเงินทำให้จำนวนใบและขนาดใบเพิ่มขึ้น (Aulia *et al.*, 2024)

นอกจากนี้ Matgorzata (2025) รายงานว่าการเลี้ยงหัวทิวลิปโดยการให้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับการให้แสงสีขาว 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำให้หัวทิวลิปสามารถสร้างหัวได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการปลูกพืชชนิดนี้เชิงพาณิชย์ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะเวลาการให้แสงสีขาวร่วมกับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหงส์เหินในสภาพปลอดเชื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

การกระตุ้นการเจริญเติบโตของหงส์เหินในสภาพปลอดเชื้อ โดยเทคนิคการให้แสงร่วมกับน้ำตาลระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พิษณุโลก ในระหว่างเดือนกรกฎาคมถึง เดือนธันวาคม พ.ศ. 2566

การเตรียมต้นหงส์เหินที่ใช้ในการทดลอง

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

ทำการตัดส่วนหน่อของหงส์เหินขาว (*Globba adhaerens* Gagnep.) ที่อายุการปลูก 60 วัน ภายในโรงเรือนไม้ดอกไม้ประดับ สาขาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พิษณุโลก นำมาล้างทำความสะอาด ตัดแต่งชิ้นใบและกาบใบออก สำหรับชิ้นส่วนที่ใช้ทำการทดลอง คือ ชิ้นส่วนข้อของหงส์เหิน โดยทำการล้างผ่านน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ และล้างน้ำไหลผ่าน 5 นาที นำไปแช่ด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อหงส์เหินด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ จำนวน 2 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 ฟอกด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ครั้งที่ 2 ฟอกด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที แต่ละครั้งเติม Tween 20 จำนวน 2-3 หยด จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยการล้างน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

เขย่าครั้งละ 2 นาที จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 45 วัน

การเพิ่มปริมาณต้นหงส์เหิน

นำต้นหงส์เหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS มาชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเลี้ยงต้นหงส์เหินภายใต้สภาพปลอดเชื้อที่อายุ 20 วัน ทำการคัดเลือกต้นหงส์เหินที่มีความสูงต้นประมาณ 2 เซนติเมตร (Figure 1) นำมาเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสแต่ละระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการให้แสงไฟเทียมจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่แตกต่างกันตามแต่ละกรรมวิธี โดยใช้ขวดขนาด 8 ออนซ์ ภายใต้ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (Lux)

วางแผนการทดลองแบบ 2x5 แฟกทอเรียลแบบ สุ่มสมบูรณ์ (2x5 Factorial in CRD) โดยปัจจัย A คือ ระยะเวลาการให้แสงไฟเทียมจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (Lux) ได้แก่ 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ปัจจัย B คือ ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส ได้แก่ 0, 30, 40, 50 และ 60 กรัมต่อลิตร มีทั้งหมด 10 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำคือตัวอย่างละ 1 ขวด บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น จำนวนรากต่อต้น ความสูงของต้นโดยวัดจากโคนต้นถึงปลายยอด (เซนติเมตร) ขนาดความกว้างและความยาวของรากต่อต้น (มิลลิเมตร) โดยใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม SAS เวอร์ชัน 9.4 และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's Honesty Significant Different (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์



Figure 1. *Globba* plant part on MS media after 20 days under *in vitro* conditions

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการให้แสงไฟเทียมจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ร่วมกับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตของหงส์เหินภายใต้สภาพปลอดเชื้อ หลังการเพาะเลี้ยงต้นหงส์เหินในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้ระยะเวลาการให้แสงรวมกับการให้น้ำตาลซูโครสแต่ละระดับความเข้มข้นเป็นเวลา 5 สัปดาห์ หงส์เหินมีการเจริญเติบโตดังนี้

จำนวนยอด

จำนวนยอดของหงส์เหินที่เลี้ยงภายใต้การให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ แต่พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ในระดับความเข้มข้นน้ำตาล โดยพบว่า การให้น้ำตาลที่ระดับความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดต่อนต้นเฉลี่ยมากที่สุด

เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยของระยะเวลาการให้แสงไฟเทียมและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) โดยหงส์เหินที่เลี้ยงภายใต้ระยะเวลาการให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร

มีค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด 14.42 และ 13.85 ยอดตามลำดับ รองลงมาคือ การให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยจำนวนยอด 11.57 ยอด ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับการให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร ที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนยอดน้อยสุด 3.85 ยอด (Table 1) ซึ่งไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนยอดกับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น (Table 1, Figure 2)

จำนวนใบ

หงส์เหินที่เลี้ยงภายใต้การให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติด้านจำนวนใบ แต่ปัจจัยของระดับน้ำตาลซูโครสทุกความเข้มข้น มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$)

เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยของระยะเวลาการให้แสงไฟเทียมจากหลอดฟลูออเรสเซนต์และระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) โดยหงส์เหินที่เลี้ยงภายใต้ระยะเวลาการให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0 และ 30 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 5.25-5.42 และ 6.31-6.42 ใบ ตามลำดับ รองลงมาคือ การให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลระดับความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบ 4.71 ใบ ขณะเดียวกันเมื่อเพิ่ม

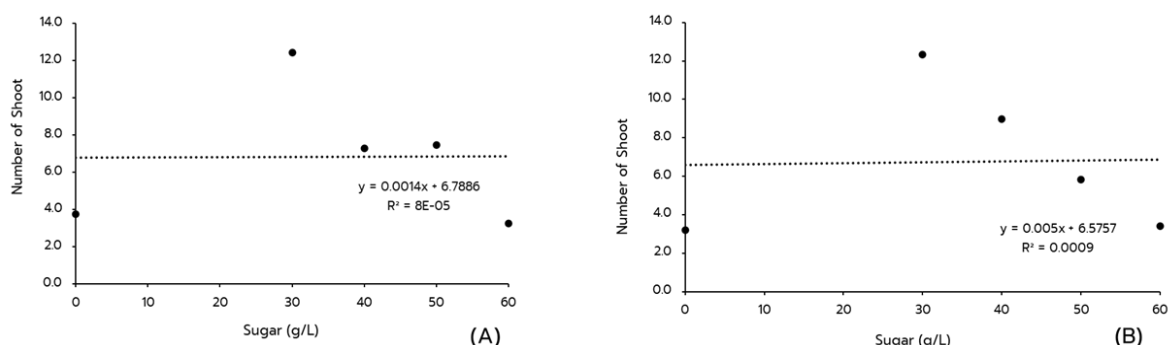


Figure 2. Correlations between sucrose concentrations and number of shoot after light durations of 8 and 16 hr/day under *in vitro* conditions after 5 week.

ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 60 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีจำนวนใบเฉลี่ยลดลงต่ำสุด 3.28 และ 3.00 ใบ ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งผลการทดลองพบว่า มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันระหว่างจำนวนใบกับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นคือ ส่งผลให้จำนวนใบลดลง โดยมีค่า $R^2=0.79$ และ $R^2=0.65$ ตามลำดับ (Table 1, Figure 3)

ความสูงของต้น

ความสูงของต้นหงส์เหินที่เลี้ยงภายใต้การให้แสงไฟเทียมจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ขณะที่ปัจจัยด้านระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสทุกระดับความเข้มข้น พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยของระยะเวลาการให้แสง และระดับความเข้มข้นของน้ำตาล

ซูโครส พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) ซึ่งต้นหงส์เหินที่ได้รับการให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 0 และ 30 กรัมต่อลิตร มีค่าความสูงต้นเฉลี่ยสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ คือ 10.14 และ 10.07 เซนติเมตร ตามลำดับ และการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 0 และ 30 กรัมต่อลิตร มีค่าความสูงต้นเฉลี่ย 9.64 และ 10.50 เซนติเมตร ตามลำดับ กรณีการให้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงขึ้นถึง 60 กรัมต่อลิตร มีแนวโน้มทำให้ความสูงของต้นหงส์เหินน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ คือ 4.25 และ 4.58 เซนติเมตร (Table 1) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันระหว่างความสูงกับระดับของน้ำตาลซูโครสที่เข้มข้นขึ้น โดยมีค่า $R^2=0.86$ และ $R^2=0.56$ ตามลำดับ (Figure 4)

Table 1. The influences of light duration and sucrose concentrations on the number of shoots, the number of leaves, and the plant height of *Globba* under *in vitro* conditions after 5 weeks

Light duration (hr./day)	Sucrose (g/L)	Number of shoot (Shoot)	Number of leaves (Leaves)	Plant height (cm)
8	0	4.14 ± 1.10d	5.25 ± 1.01a	10.14 ± 1.79a
	30	14.42 ± 2.44a	5.42 ± 1.33a	10.07 ± 1.80a
	40	8.28 ± 2.99c	3.57 ± 0.51c	5.78 ± 1.42b
	50	11.57 ± 4.64b	4.71 ± 1.31b	5.92 ± 0.84b
	60	3.85 ± 2.97d	3.28 ± 0.46cd	4.25 ± 0.36b
16	0	3.71 ± 1.01d	6.31 ± 1.06a	9.64 ± 2.06a
	30	13.85 ± 2.97a	6.42 ± 0.93a	10.50 ± 1.57a
	40	11.00 ± 3.38bc	3.14 ± 0.65cd	5.24 ± 0.93b
	50	6.28 ± 2.24c	3.14 ± 0.36cd	5.28 ± 0.94b
	60	3.85 ± 1.14d	3.00 ± 0.55d	4.58 ± 0.62b
Light duration (A)		ns	ns	ns
Sucrose concentration (B)		**	**	**
A x B		**	**	**
C.V.%		34.07	20.11	19.87

Data are presented as mean±SD, ns = non-significant, ** Mean there was highly a significant difference. Means within each column followed by different lowercase letters and highly significantly different according to the HSD test ($P<0.01$)

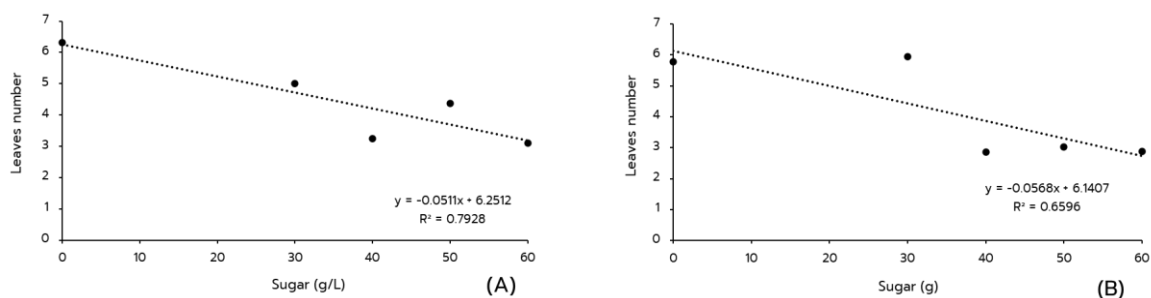


Figure 3. Correlations between sucrose concentrations and the number of leaves after light durations of 8 and 16 hr/day under *in vitro* conditions after 5 week.

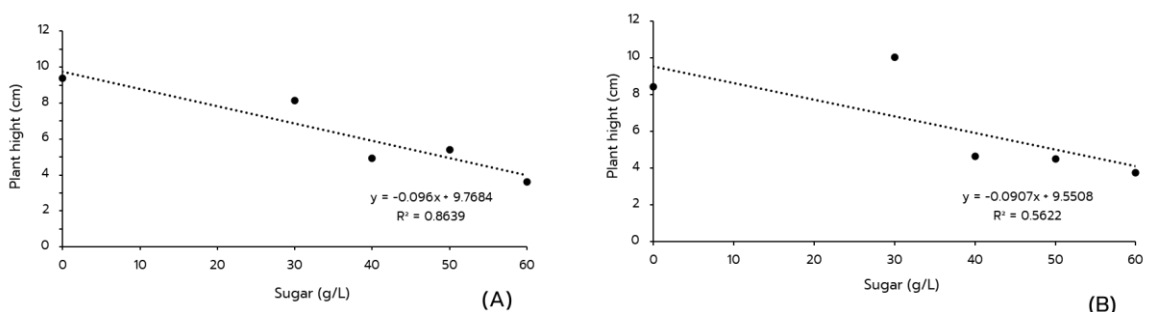


Figure 4. Correlations between sucrose concentrations and plant height after light durations of 8 and 16 hr/day under *in vitro* conditions after 5 week.

จำนวนราก

จำนวนรากของต้นหงส์เหินที่เลี้ยงภายใต้การให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ แต่พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ของปัจจัยด้านการได้รับระดับน้ำตาลซูโครสทุกความเข้มข้น ซึ่งน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีจำนวนรากมากที่สุด

เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยของระยะเวลาการให้แสงและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส พบว่า มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยหงส์เหินที่เลี้ยงภายใต้ระยะเวลาการให้แสง 8 และ 16 ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยจำนวนรากต่อต้นสูงที่สุด คือ 41.14 และ 33.57 ราก ตามลำดับ รองลงมาคือ การให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร ที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนรากต่อต้น 25.28 และ 24.28 ราก ตามลำดับ ขณะที่การให้แสง

8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับการให้น้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 0 กรัมต่อลิตร มีแนวโน้มจะมีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นน้อยที่สุดคือ 11.14 และ 11.57 รากตามลำดับ (Table 2) ซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างจำนวนรากกับระดับของน้ำตาลซูโครสที่เข้มข้นขึ้น โดยมีค่า $R^2 = 0.001$ และ $R^2 = 0.007$ ตามลำดับ (Figure 5)

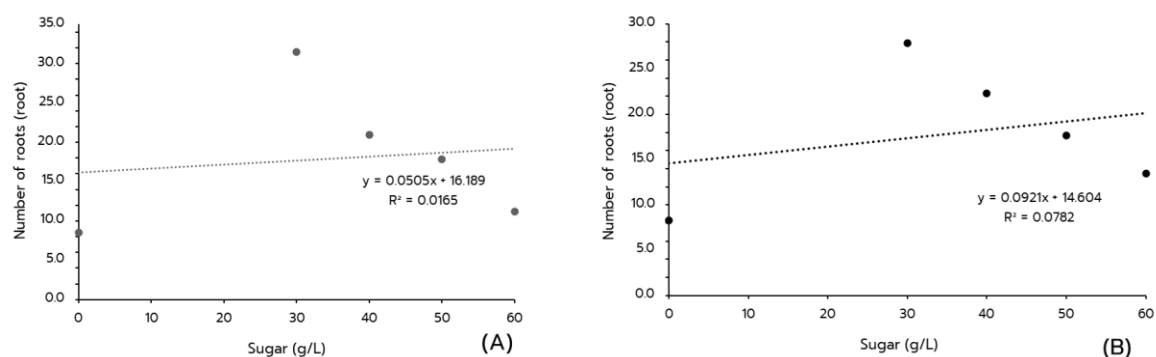
ความยาวและความกว้างของราก

ความยาวและความกว้างของรากหงส์เหินที่เลี้ยงภายใต้การให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ แต่พบความแตกต่างทางสถิติในระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยของระยะเวลาการให้แสงและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2) โดยไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความยาวรากกับระดับของน้ำตาลซูโครสที่เข้มข้นขึ้น โดยมีค่า $R^2 = 0.0002$ และ $R^2 = 0.0056$ ตามลำดับ (Figure 6) นอกจากนี้ยังพบ

Table 2. The influences of light duration and sucrose concentrations on the number of roots, root width, and root length of *Globba* under *in vitro* conditions after 5 weeks

Light duration (hr./day)	Sucrose (g/L)	Number of roots (root)	Root length (cm)	Root width (mm)
8	0	11.14 ± 2.08e	1.64 ± 0.58	0.10 ± 0.04
	30	41.14 ± 8.44a	6.11 ± 0.93	0.20 ± 0.05
	40	25.28 ± 5.19b	3.78 ± 1.47	0.22 ± 0.05
	50	19.42b ± 5.16cd	2.30 ± 0.87	0.32 ± 0.16
	60	12.14 ± 3.89d	1.82 ± 1.36	0.18 ± 0.04
16	0	11.57 ± 2.94d	1.27 ± 0.28	0.07 ± 0.03
	30	33.57 ± 2.94a	6.61 ± 1.32	0.27 ± 0.24
	40	24.28 ± 2.99b	3.25 ± 1.16	0.22 ± 0.05
	50	21.14 ± 7.78bc	2.10 ± 0.89	0.20 ± 0.00
	60	15.71 ± 1.95c	2.20 ± 0.56	0.21 ± 0.04
Light duration (A)		ns	ns	ns
Sucrose concentration (B)		**	**	**
A x B		**	ns	ns
C.V.%		21.58	34.28	21.15

Data are presented as mean±SD, ns = non-significant, ** Mean there was highly a significant difference. Means within each column followed by different lowercase letters and highly significantly different according to the HSD test ($P < 0.01$)

Figure 5. Correlations between sucrose concentrations and number of roots after light durations of 8 and 16 hr/day under *in vitro* conditions after 5 week.

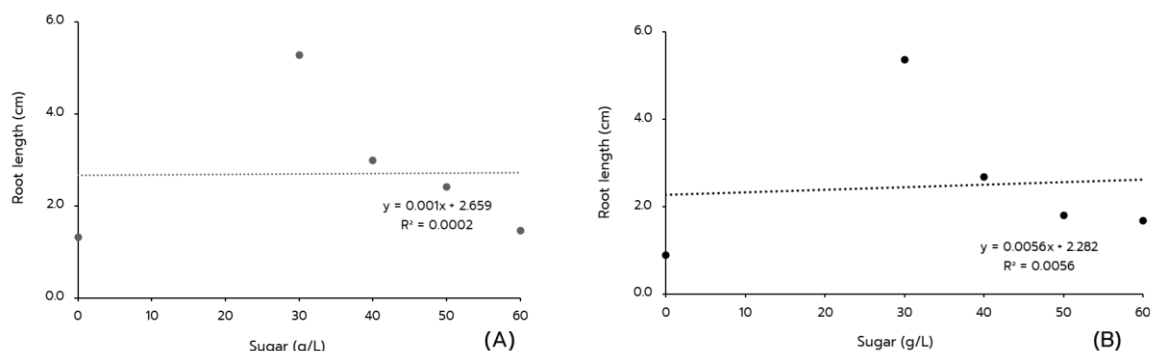


Figure 6. Correlations between sucrose concentrations and root length after light durations of 8 and 16 hr/day under *in vitro* conditions after 5 week.

ความสัมพันธ์ในเชิงบวกระหว่างความกว้างของรากกับระดับของน้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้นขึ้น โดยมีค่า $R^2 = 0.53$ และ $R^2 = 0.61$ ตามลำดับ (Figure 7)

จากการทดลองแสดงให้เห็นได้ว่า อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยการให้แสงระยะเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 0 กรัมต่อลิตร ส่งผลต่อการเจริญเติบโตด้านจำนวนใบต่อต้นและความสูงของหงส์เหิน และการให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนยอด ความสูงต้น และจำนวนราก เป็นที่น่าสังเกตว่าในการทดลองนี้การให้แสงเป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน ต้นหงส์เหินมีลักษณะผอมสูง ค่อนข้างอ่อนแอ ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากระยะเวลาการให้แสงที่สั้นทำให้เกิดการยืดตัวของลำต้นเพื่อหาแสง ซึ่งแสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เพื่อเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของพืช (Huché-Thélier *et al.*, 2016) สำหรับการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระดับความเข้มข้น 0 และ 30 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีจำนวนใบและความสูงต้นดีกว่าในกรรมวิธีอื่น ๆ และการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดและจำนวนรากมากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่า ต้นหงส์เหินมีลักษณะปกติ มีความสมบูรณ์แข็งแรง ใบมีสีเขียว (Figure 8) เมื่อพืชได้รับแสงในปริมาณที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตโดย

ส่งผลต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของพืชนั้นเอง สอดคล้องกับการรายงานของ Kumyong and YangKhamman (2020) ได้ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตของหงส์เหินลูกผสม “MJ16” ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการให้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร มีผลต่อการเจริญเติบโต คือ เหมาะสำหรับการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน สามารถเลี้ยงพืชในสภาพปลอดเชื้อได้หลายชนิด เช่น ต้นมณีกาญจน์ (Nakdang *et al.*, 2023) ซึ่งการให้แสงดังกล่าวมีปริมาณความเข้มแสงและระยะเวลาการให้แสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชในสภาพปลอดเชื้อ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ น้ำตาล ซึ่งใช้เป็นแหล่งพลังงานที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากพืชมีการสังเคราะห์แสงในอัตราที่ต่ำและการเลี้ยงต้นพืชในขวดอาหารมีผลให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำกว่าปกติในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช ดังนั้นจึงควรมีการให้น้ำตาลที่พืชสามารถนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชได้ ซึ่งการทดลองนี้ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยน้ำตาลซูโครสเป็น disaccharide ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส ซูโครสเป็นสารประกอบที่พบมากในพืชโดยพืชนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม การสังเคราะห์ซูโครสเกิดในไซโทพลาสซึมของ photosynthetic cell เริ่มจาก triose phosphate ซึ่งได้จากวัฏจักรคัลวิน (Calvin cycle) ในคลอโรพลาสต์แพร่ผ่านเยื่อหุ้มคลอโรพลาสต์

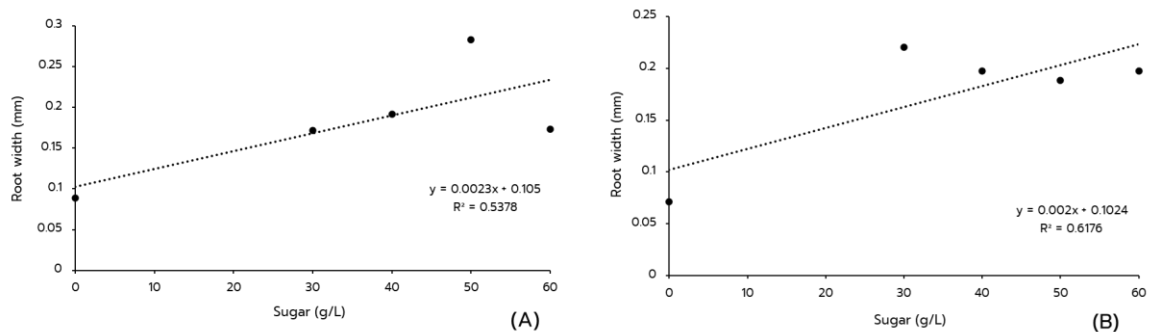


Figure 7. Correlations between sucrose concentrations and root width after light durations of 8 and 16 hr/day under *in vitro* conditions after 5 week.

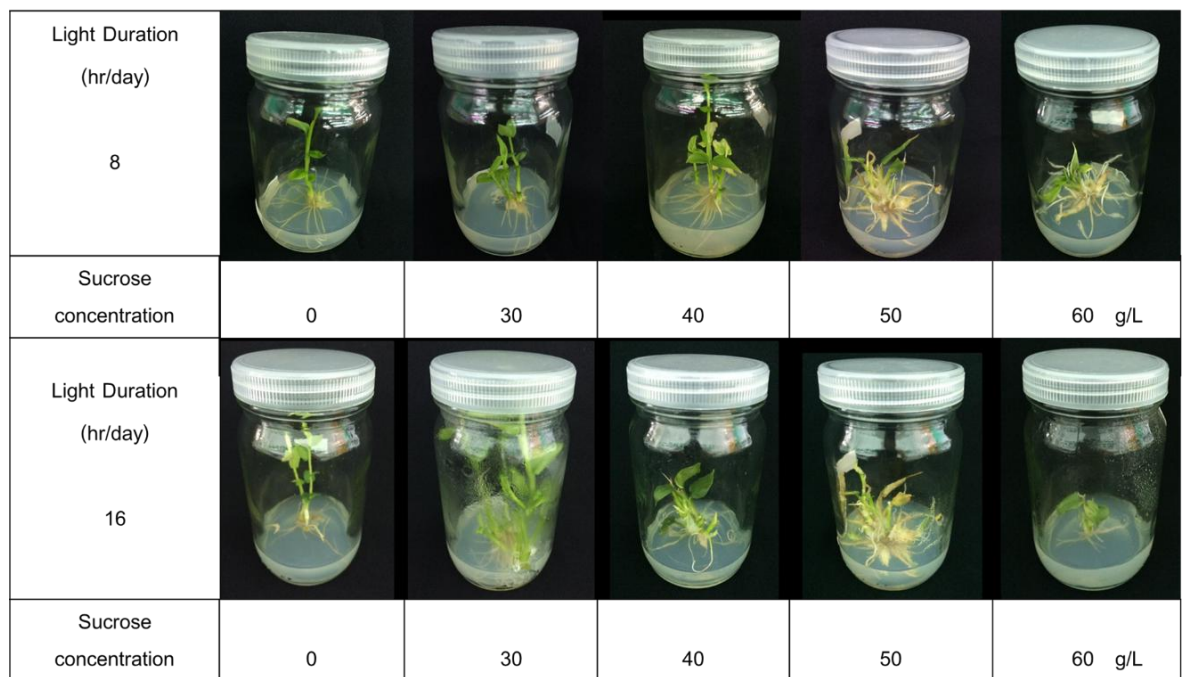


Figure 8. The growth and development of *Globba* under various light durations and sucrose concentrations *in vitro* for 5 weeks

มายังไซโทพลาสซึมโดยการแลกเปลี่ยน inorganic phosphate จากนั้น triose phosphate เปลี่ยนฟรุกโตส เป็น fructose-6-phosphate ด้วยเอนไซม์ fructose 1,6-bisphosphatase และเปลี่ยนเป็น sucrose-6-phosphate ด้วยเอนไซม์ sucrose phosphate synthase และเอนไซม์ sucrose phosphate phosphatase เร่งปฏิกิริยาการ Hydrolysis sucrose-6-phosphate ไป

เป็นน้ำตาลกลูโคสให้กับพืชที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ (Kaveeta *et al.*, 2017) ซึ่งสารอาหารที่พืชสร้างขึ้นช่วยให้พืชเจริญเติบโตและดำรงชีวิตอยู่ได้ ขณะที่การเลี้ยงพืชในอาหารสภาพปลอดเชื้ออาจได้รับแสงไม่เพียงพอต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง จึงเติมน้ำตาลซูโครสเพื่อชดเชยอาหารที่พืชอาจขาดหรือไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต และการให้น้ำตาลซูโครสช่วยทดแทนน้ำตาลจากการ-

สังเคราะห์แสงและพืชสามารถย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตส ซึ่งพืชนำไปใช้ได้ทันทีโดยไม่ต้องรอน้ำตาลจากการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชเอง (Kumyong, 2020) อย่างไรก็ตามจะต้องให้ในปริมาณที่เหมาะสมตามความต้องการของชนิด พันธุ์ และระยะการเจริญเติบโตของพืช ในการเจริญเติบโตระยะแรกของพืชที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ พืชใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหารสำคัญในกระบวนการหายใจ เพื่อนำพลังงานไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม (Bonga and Aderkas, 1992) สำหรับไม้ดอกประเภทหัวในขณะที่ยังไม่สร้างหัว ใบอ่อนทำหน้าที่เป็นแหล่งรับอาหาร (sink) โดยอาหารถูกลำเลียงจากใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งสร้างอาหาร (source) (Ruamrungsri, 2015) สำหรับการทดลองนี้ หงส์เหินที่ได้รับแสง 8 และ 16 โมงต่อวัน ร่วมกับระดับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร ทำให้การเจริญเติบโตด้านยอด ใบ และลำต้นลดลง อาจเป็นเพราะน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปส่งผลให้เกิด osmotic stress ในเซลล์ของรากพืชที่มีสารละลายน้ำตาลความเข้มข้นสูงขัดขวางการดูดน้ำและธาตุอาหาร ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชและเกิดความเป็นพิษแก่เซลล์พืชได้ (Jo et al., 2009)

สรุป

จากการทดลองการให้แสง 8 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร สำหรับกระตุ้นให้เจริญเติบโตด้านจำนวนยอด จำนวนใบ ความสูงต้น และจำนวนรากของต้นหงส์เหินหลังเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ขณะเดียวกันการเพิ่มระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 60 กรัมต่อลิตรกลับทำให้การเจริญเติบโตด้านต่าง ๆ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหงส์เหินหลังการให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับระดับน้ำตาลความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นหงส์เหินผิดปกติ เช่น การยืดยาวของลำต้น ต้นอ่อนแอ เป็นต้น

ดังนั้นการทดลองนี้สรุปได้ว่า การให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ร่วมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัม

ต่อลิตร มีความเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหงส์เหิน ซึ่งผลการทดลองด้านระยะเวลาการให้แสงร่วมกับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสอาจใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พิษณุโลก ที่อำนวยความสะดวกให้การสนับสนุน เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Akhtar, A., D. Zink and P.B. Becker. 2000. Chromodomains are protein - RNA interaction modules. *Nature* 407(6802): 405-409.
- Aulia, M., T. Nasution, W. Muslihatin, S.N. Patrialoka, I.P.E.W. Pratama, P.Y. Aisyah, N. Jadid, T.R. Antika and M. Shovitri. 2024. The synergistic application of sucrose and various LED light exposures to enhance the *in vitro* growth of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Open Agriculture* 9(1), doi: 10.1515/opag-2022-0305.
- Boerio-Goates, J. 1991. Heat-capacity measurements and thermodynamic functions of crystalline α -D-glucose at temperatures from 10K to 340K. *The Journal of Chemical Thermodynamics* 23(5): 403-409.
- Bonga, J.M. and P. Von Aderkas. 1992. *In Vitro Culture of Trees*. Dordrecht Kluwer Academic Publishers, Chicago. 236 p.
- Huché-Thélier, L., L. Crespel, J. Gourrierc, P. Morel, S. Sakr and N. Leduc. 2016. Light

- signaling and plant responses to blue and UV radiations-perspectives for applications in horticulture. Environmental and Experimental Botany 121: 22-38.
- Iwamoto, A., S. Ishigooka, L. Cao and L.P.R. De Craene. 2020. Floral development reveals the existence of a fifth staminode on the labellum of basal Globbeae. Frontiers in Ecology and Evolution 8: 1-16.
- Jaimakaew, C., S. Thumdee and C. Sotthikul. 2016. Effects of sucrose, activated carbon, and light duration on *in vitro* microrhizome formation of ginger. Journal of Agriculture 32(1): 9-17. (in Thai)
- Jo, E.A., R.K. Tewari, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2009. *In vitro* sucrose concentration affects growth and acclimatization of *Alocasia amazonica* plantlets. Plant Cell Tissue and Organ Culture 96: 307-315.
- Kaveeta, L., M. Na Nakorn, S. Suwanawong, S. Tantiwiwat and N. Wongkantrakorn. 2017. Plant Physiology. Kasetsart University Publishing, Bangkok. 270 p. (in Thai)
- Kim, S.J., E.J. Hahn, J.W. Heo and K.Y. Paek. 2004. Effects of LED on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets *in vitro*. Scientia Horticulturae 101(1-2): 143-151.
- Kongbangkerd, A. and S. Wannachart. 2006. Effect of light on *in vitro* seed germination and development of *Dendrobium ochreatum* Lindl. NU Science Journal 3(2): 231-241. (in Thai)
- Kumyong, O. 2020. Study on rhizomes production of *Globba* (*Globba* spp.). M.S. Thesis. Maejo University, Chiang Mai. 139 p. (in Thai)
- Kumyong, O. and P. Yangkhamman. 2020. Effect of sucrose on growth and development of *Globba hybrida* “MJ16” under *in vitro* conditions. Songklanakarin Journal of Plant Science 7(1): 2-9. (in Thai)
- Mabberley, D.J. 2017. Mabberley’s Plant-book, 4th ed. Cambridge University Press, Cambridge. 1102 p.
- Mahlberg, G.P. and S. Yarus. 1977. Effect of light, pH, temperature, and crowding on megaspore germination and sporophyte formation in *Marsilea*. Journal of Experimental Botany 28(5): 1137-1146.
- Matgorzata, M. 2025. Effect of light spectrum, sucrose concentration, and 6-Benzyl-aminopurine on *in vitro* adventitious bulb formation in *Tulipa tarda*. Agronomy 15(3): 1-9, doi: 10.3390/agronomy15030642.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15(3): 473-497.
- Nakdang, S., R. Chuengpanya, P.Sornyotha, A. Muangkroot, T. Jenjittikul and N. Chuenboonngarm. 2023. *In vitro* propagation of *Curcuma lithophila* Škorníček and Soonthornk an endemic species of Thailand with high potential to be used as ornamental plant. Journal of Applied Science and Emerging Technology 22(2): e248222, doi: 10.14416/JASET.KMUTNB.2023.02.010. (in Thai)
- Nontalee, S., S. Saensouk and P. Saensouk. 2017. *In vitro* propagation of *Globba*

- annamensis* Gagnep. for conservation of rare plant species in Thailand. Journal Khon Kean University Science 45(4): 858 - 872. (in Thai)
- Ruamrungsri, S. 2015. Physiology of Flower Blub. Chiang Mai University Publishing. Chiang Mai. 276 p. (in Thai)
- Sam, Y.Y. and H. Ibrahim. 2016. A new *Globba* with large white floral bracts from Peninsular Malaysia. PhytoKeys 73: 117 - 124.
- Yuanjun, Y., Y. Zhou, J. Tan, L. Huang and Y. Xu. 2024. *Globba* Hongman, a cut-flower cultivar with red bract color and long vase life. HortScience 59(10): 1550 - 1552, doi: 10.21273/HORTSCI18113-24.
-

Efficiency of Different Shapes and Heights of Sticky Traps on Capturing Muscid Flies (Diptera: Muscidae) on Dairy Cattle Farms in Saraburi Province, Thailand

ประสิทธิภาพของรูปทรงและความสูงของกับดักกาวเหนียวต่อการจับแมลงวัน (Diptera: Muscidae) ในฟาร์มโคนม จังหวัดสระบุรี ประเทศไทย

Jumnongjit Phasuk^{1*}, Darunwan Chuensaengarun¹, Chattraporn Rungchalermlak¹,
Pairpailin Jhaiaun¹, Nutsuda Klinkeaw¹, Wissanuwat Chimnoi¹,
Pumipat Tongyoo^{2,3} and Ketsarin Kamyinkird¹
จำนงจิต ผาสุก^{1*} ดรณวรรณ ชื่นแสงอรุณ¹ ฉัตรภารณ์ รุ่งเฉลิมลักษณ์¹
แพรวไพริน ใจเอื้อน¹ ณัฐสุตา กลิ่นแก้ว¹ วิษณุวัฒน์ จิมน้อย¹
ภูมิพัฒน์ ทองอยู่^{2,3} และ เกษริน ขำยิ่งเกิด¹

¹Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

¹ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

²Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

²ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

³Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/MHESI), Bangkok 10900, Thailand

³ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10900

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

(Received: 6 October 2025; Revised: 11 December 2025 ; Accepted: 26 December 2025)

บทคัดย่อ: แมลงวันจัดเป็นแมลงศัตรูสำคัญในโคและอาจก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจในฟาร์มโคนม แต่การศึกษาการใช้กับดักกาวเหนียวกับแมลงศัตรูเหล่านี้ในประเทศไทยยังมีจำกัด ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อประเมินประสิทธิภาพรูปทรงที่แตกต่างและความสูงของกับดักกาวเหนียวสีน้ำตาลเงินและสีขาวในการจับตัวเต็มวัยของแมลงวัน โดยดำเนินการทดลองในฟาร์มโคนม จังหวัดสระบุรี ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงกันยายน พ.ศ. 2567 ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของรูปทรงกับดักกาวเหนียว 4 แบบ ได้แก่ วงกลม สามเหลี่ยม สี่เหลี่ยมผืนผ้า และสี่เหลี่ยมจัตุรัส และระดับความสูงของกับดักจากพื้นดิน 3 ระดับ ได้แก่ 20, 50 และ 80 เซนติเมตร ผลการทดลองพบว่า จำนวนแมลงวันที่จับได้ไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างรูปทรงต่าง ๆ ของกับดัก แต่กับดักกาวเหนียวทั้งสีน้ำตาลเงินและขาวขอบด้านล่างอยู่ สูงจากพื้นดิน 20 เซนติเมตร สามารถดักจับแมลงวันได้มากที่สุด และมีแนวโน้มในการจับแมลงวันกลุ่มปากไม่กัดได้ มากกว่าแมลงวันกลุ่มปากกัด ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการปรับความสูงของกับดักให้เหมาะสมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการดักจับ และช่วยให้การติดตามชนิดเป้าหมายในฟาร์มโคนมมีความแม่นยำยิ่งขึ้น

Copyright © Journal of Agricultural Research and Communications. All rights reserved.

คำสำคัญ: แมลงวันกินเลือด, กั๊บกักกาวเหนียว, ประเทศไทย

Abstract: Muscid flies are major pests of cattle and may cause significant economic losses on dairy farms. In Thailand, there have been few reported studies on using sticky traps for these pests. This study aimed to assess the efficiency of different shapes and heights of blue and white sticky traps for capturing adult muscid flies. Trap shape and height were investigated through two field studies conducted on dairy farms from May to September 2024. The effectiveness of blue and white sticky traps was compared across four shapes (circle, triangle, rectangle, and square shapes) and three heights (20, 50, and 80 cm above ground). Based on the results, it is shown that the numbers of captured adult flies were not significantly different among the different shapes of sticky traps. The highest numbers of muscid flies were caught on both blue and white sticky traps with their bottom edges set at 20 cm above ground level, and both colors tended to capture more non-biting than biting muscid flies. These findings indicate that optimizing trap height can increase capture efficiency and improve monitoring of these target species on dairy farms.

Keywords: Hematophagous flies, sticky trap, Thailand

Introduction

The stable fly, *Stomoxys calcitrans* and the cattle fly, *Musca crassirostris* are an important group of dipteran insects belonging to the family Muscidae. The latter species was considered to be one of the most abundant of the muscid flies, especially on bovine farms (Desquesnes *et al.*, 2018). Both adult males and females of these two species are hematophagous flies and are commonly found in cattle farms of many countries, including Thailand (Boonsaen *et al.*, 2024; Desquesnes *et al.*, 2018; Nangoy *et al.*, 2022; Ngoen-Klan *et al.*, 2024; Ola-Fadunsin *et al.*, 2020; Onju *et al.*, 2020). In addition, other muscid flies have been reported in livestock areas in Thailand, including *M. ventrosa*, *M. pattoni*, *M. sorbens*, and *M. domestica* (Ngoen-Klan *et al.*, 2024), as well as *Haematobia exigua*, a blood - feeding species found in cattle and buffalo (Ngoen-Klan *et al.*, 2024; Phetcharat

et al., 2024). These flies can cause direct effects on hosts due to their annoyance factor, painful bites, and blood loss, resulting in reduced weight gain and milk production; in addition, they are transmitters of many pathogens (Crosskey, 1993). They are a major nuisance in livestock farming and cause economic losses to the agricultural industry by direct damage to livestock and as a result of causing diseases requiring veterinary intervention (Lehane, 2005).

Sticky trap made from Alsynite fiberglass have been commonly used for monitoring and managing stable fly populations (Rochon *et al.*, 2021; Taylor *et al.*, 2020). In addition to Alsynite fiberglass, some corrugated plastic materials or Coroplast[®] (known under various trade names in North America) are convenient, inexpensive, and simple materials to use for making stable fly traps (Rochon *et al.*, 2021). The effectiveness of a sticky trap to capture stable flies may be influenced by various factors

such as trap color, design, placement, and height. For example, trap color can influence *Stomoxys calcitrans* captures, with some studies reporting higher captures on blue plasticized corrugated boards (Cilek, 2003), while others found white to be more effective (Beresford and Sutcliffe, 2006). Previous findings indicated that stable fly captures can be increased by modifying traps to include black backgrounds (Murchie *et al.*, 2018). Traps placed closer to host animals are more likely to encounter and capture the flies attracted to those animals (Gilles *et al.*, 2007; Hogsette and Ose, 2017). In addition, the height of surrounding grasses or vegetation can influence the optimal trap placement. Trap height is an important factor influencing stable fly captures, with lower traps generally more effective (Beresford and Sutcliffe, 2008; Sharif *et al.*, 2020), although higher placements have also been reported in some studies for collecting stable flies (Bunthong *et al.*, 2019; Cilek, 2003; Khumalo and Galloway, 1996; Taylor and Berkebile, 2006).

In Thailand, cloth traps and adhesive traps have been used for the survey and study of stable and cattle flies (Boonsaen *et al.*, 2024; Ngoen-Klan *et al.*, 2024; Onju *et al.*, 2020). The cloth traps were made from blue and black fabrics and white mosquito netting, particularly the Vavoua and Nzi traps that are commonly used for studying hematophagous flies such as *Stomoxys* and tabanids (Boonsaen *et al.*, 2024; Ngoen-Klan *et al.*, 2024; Onju *et al.*, 2020; Phetcharat *et al.*, 2024; Tunnakundacha *et al.*, 2017). Phasuk *et al.* (2025) compared different sticky trap colors for capturing *S. calcitrans*, whereas Bunthong *et al.* (2019) investigated the effects of both color and shape. However, the efficacy of sticky traps made from corrugated

plastic for capturing blood-feeding flies in Thailand remains limited. Therefore, this study was conducted to provide baseline data for monitoring muscid flies and to guide future improvements in trap design and fly management on dairy farms.

Materials and Methods

Study site

The study was conducted on two dairy farms (referred to as farms A and B) located in Wang Muang district, Saraburi province, central Thailand from May to September 2024. Farm A (14° 52'06.11" N, 101°10'58.40" E) had 40 dairy cows and 2 young cattle, while farm B (14° 52'08.23" N, 101°10'42.80" E) had 50 dairy cows, 4 bulls, and 16 young cattle. In the present study, blue sticky traps were placed at farm A, with white sticky traps at farm B. The two colors used in this study were selected based on the findings of a previous color study (Phasuk *et al.*, 2025).

Traps and study designs

Different shapes of blue and white sticky traps were made from commercial corrugated plastic sheets and cut into four distinct shapes. All shapes had an area on one side of approximately 624–625 cm²: circle (28.2 cm diameter), equilateral triangle (38 cm per side), rectangle (21 cm high and 29.7 cm wide), and square (25 cm per side) (Figure 1). Both sides of the traps were painted with Beetle-Glue® colorless insect glue (Green plana Co., Ltd., Thailand) and secured on wooden stakes at 20 cm above the ground. Four different shapes of the same color were set up outside the cattle pens about 1 m from the fence and 1 m from each other at two locations, with a distance of 5 m



Figure 1. Sticky traps used to test different shapes and heights. Top panels show shapes; bottom panels show heights

between the locations. The sticky traps were left in the field for 4 days. On both farms, the four trapping periods were 27–31 May, 17–21 June, 1–5 July, and 15–19 July, except for the last trapping period on farm A (1–5 August). At each collection period, the traps were removed and replaced with new ones and the trap positions were rotated to avoid position effects.

In a second study, sticky traps were made of corrugated plastic sheets (29.7 cm long and 21 cm wide) coated with glue on both sides. The trap bottoms were located at 20, 50, and 80 cm above the ground (Figure 1). The sticky traps were fixed on wooden stakes and placed 1 m from the outside of the fence. Traps were placed 2 m apart at two locations with a distance of 5 m between the locations. Traps were deployed at each farm for 3 days at a time, then collected and

replaced with new ones for each trapping period and the trap positions were rotated at each collection. On both farms, the three trapping periods were 5–8 August, 23–26 August, and 10–13 September.

In both studies, treatments were rotated between trap positions according to a Latin-square design. After each trapping period, all sticky traps (Figure 2) were transported to the laboratory for later sorting and fly identification. Flies trapped on the sticky surfaces were removed from the traps using a small paintbrush and pointed forceps and placed on white paper until identification. Unfortunately, identification could be made only to the genus level due to the condition of the flies after being removed from the sticky traps. Adult flies were identified to genus using the taxonomic key of Tumrasvin and



Figure 2. Examples of muscid flies attached to sticky traps during the sampling periods

Shinonaga (1978), based on key morphological characters, including proboscis type, wing venation, and setal distribution. Stomoxyini flies (e.g., *Stomoxys*, *Haematobia*, *Haematobosca*) were separated from *Musca* by their elongated piercing–sucking proboscis, characteristic of biting muscid flies, whereas *Musca* possesses a sponging proboscis typical of non-biting muscid flies. Genus-level identification within Stomoxyini was supported by diagnostic characters, including the number and arrangement of sternopleural and notopleural bristles, the presence and form of arista hairs, and maxillary palp length.

Data analysis

Data were normalized using a log ($x + 1$) transformation and processed using one-way analysis of variance (ANOVA) for comparison among treatments (trap shape and height) for each farm. When a significant difference was

found, the least significant difference (LSD) *post hoc* test was applied. Chi-square (χ^2) analysis was used to determine significant differences in the numbers of *Stomoxys* spp. and *Musca* spp. captured on different shapes and heights of sticky traps at each farm. All differences were considered significant at $P < 0.05$. The data were analyzed using the R software (R Core Team, 2023).

Results

Trap shape

No significant difference was observed in the numbers of *Stomoxys* spp. captured among different sticky trap shapes for either blue (farm A: $F = 0.375$, $df = 3, 28$, $P = 0.771$) or white traps (farm B: $F = 1.584$, $df = 3, 28$, $P = 0.215$). Similarly, the numbers of *Musca* spp. captured did not differ significantly among trap shapes for blue

(farm A: $F = 0.226$, $df = 3, 28$, $P = 0.877$) or white traps (farm B: $F = 0.394$, $df = 3, 28$, $P = 0.758$) (Figure 3).

Based on the chi-square test, there were significant different between the numbers of *Stomoxys* spp. and *Musca* spp. according to the shape of the sticky traps (farm A: blue sticky trap, $\chi^2 = 10.486$, $df = 3$, $P < 0.05$; farm B: white sticky trap, $\chi^2 = 17.169$, $df = 3$, $P < 0.05$). All shapes of both the blue and white sticky traps captured more *Musca* spp. than *Stomoxys* spp. (Table 1).

Trap height

The numbers of *Stomoxys* spp. captured were significantly affected by trap height for both blue sticky traps (farm A: $F = 13.87$, $df = 2, 15$, $P < 0.05$) and white sticky traps (farm B: $F = 22.2$, $df = 2, 15$, $P < 0.05$). The highest captures were recorded at 20 cm above the ground, with no significant difference between 50 and 80 cm

(Figure 4). For *Musca* spp., trap height significantly affected captures in blue traps (farm A: $F = 12.09$, $df = 2, 15$, $P < 0.05$), with the highest numbers at 20 cm. No significant differences was observed between 50 and 80 cm. In contrast, no significant differences was found in white traps (farm B: $F = 1.5$, $df = 2, 15$, $P = 0.238$), although more flies were caught at 20 cm (Figure 4).

Chi-square analysis indicated no significant difference in the proportions of *Stomoxys* spp. and *Musca* spp. captured at different heights of blue traps (farm A: $\chi^2 = 4.582$, $df = 2$, $P = 0.101$). Conversely, significant differences were observed in white traps (farm B: $\chi^2 = 13.845$, $df = 2$, $P < 0.05$), with traps at 20 cm above the ground capturing more *Stomoxys* spp., whereas those at 50 or 80 cm were more attractive to *Musca* spp. (Table 2).

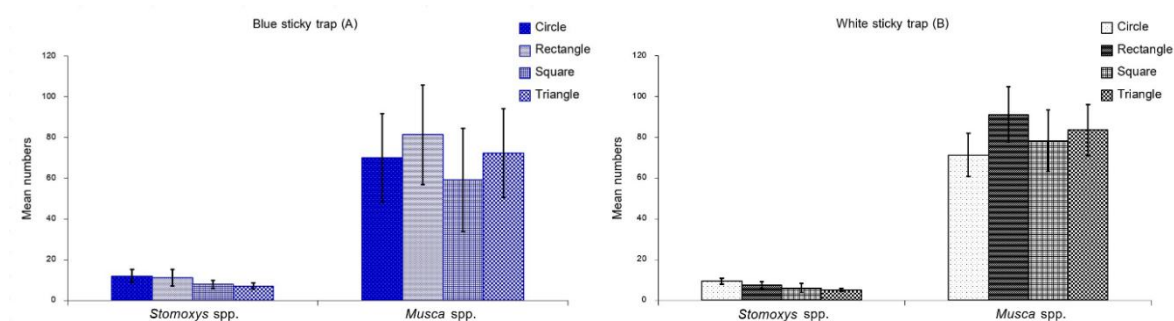


Figure 3. Mean numbers of adult *Stomoxys* and *Musca* collected on different shapes of sticky traps. Bars represent the standard error of the mean. (A): farm A and (B): farm B. No significant differences observed among treatments. Untransformed data shown

Efficiency of Different Shapes and Heights of Sticky Traps on Capturing Muscid Flies (Diptera: Muscidae) on Dairy Cattle Farms in Saraburi Province, Thailand

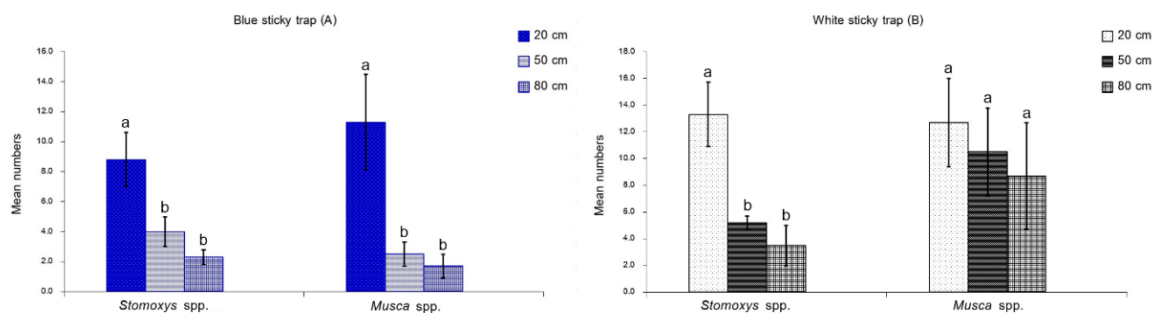


Figure 4. Mean numbers of adult *Stomoxys* and *Musca* collected by using sticky traps at different heights above the ground. Bars represent the standard error of the mean. (A): farm A and (B): farm B. Means with the same letter are not significantly different based on one-way ANOVA followed by LSD test, $P < 0.05$. Untransformed data shown

Table 1. Numbers of adult *Stomoxys* and *Musca* captured on different shapes of sticky traps

Trap color	Genus	Trap shape				χ^2	P-value
		Circular	Rectangular	Square	Triangular		
Blue	<i>Stomoxys</i> spp.	96 (14.6%)	89 (12.0%)	63 (11.8%)	56 (8.8%)	10.486	$P < 0.05$
	<i>Musca</i> spp.	560 (85.4%)	651 (88.0%)	473 (88.2%)	579 (91.2%)		
	Total	656	740	536	635		
White	<i>Stomoxys</i> spp.	74 (11.5%)	59 (7.5%)	48 (7.1%)	40 (5.6%)	17.169	$P < 0.05$
	<i>Musca</i> spp.	570 (88.5%)	729 (92.5%)	626 (92.9%)	668 (94.4%)		
	Total	644	788	674	708		

Table 2. Numbers of adult *Stomoxys* and *Musca* captured on different heights of sticky traps

Trap color	Genus	Trap height (cm)			χ^2	P-value
		20	50	80		
Blue	<i>Stomoxys</i> spp.	53 (43.8%)	24 (61.5%)	14 (58.3%)	4.582	$P = 0.101$
	<i>Musca</i> spp.	68 (56.2%)	15 (38.5%)	10 (41.7%)		
	Total	121	39	24		
White	<i>Stomoxys</i> spp.	80 (51.3%)	31 (33.0%)	21 (28.8%)	13.845	$P < 0.05$
	<i>Musca</i> spp.	76 (48.7%)	63 (67.0%)	52 (71.2%)		
	Total	156	94	73		

Discussion

The present study showed that the shape (circular, triangular, rectangular, and square) of both blue and white sticky traps did not significantly affect the numbers of *Stomoxys* spp. and *Musca* spp. captured. Although Bunthong *et al.* (2019) tested traps of both yellow and blue colors, the triangular yellow trap was the most effective at attracting stable flies. As the present study did not include yellow traps, only the effect of trap shape is directly comparable. Color contrast can also influence fly attraction. For example, Murchie *et al.* (2018) found that white sticky traps on a black background were more attractive to *S. calcitrans* than white or yellow backgrounds. Other studies reported that yellow traps are generally less attractive to stable flies compared to white, blue, gray, or red traps (Beresford and Sutcliffe 2006; Getahun *et al.*, 2024; Phasuk *et al.*, 2025), while some findings suggested that red, yellow, and green traps can be more effective than blue traps (Beresford and

Sutcliffe, 2006). These variations may be due to differences in trap design, methodology, environmental conditions, and fly populations. Based on the present results, both colored traps captured more *Musca* spp. than *Stomoxys* spp., likely reflecting species-specific behavioral responses.

Trap height, however, was a critical factor influencing trapping efficiency. Low sticky traps, with the bottom edge positioned 20 cm above the ground, captured significantly higher numbers of both *Stomoxys* spp. and *Musca* spp. compared to higher traps (50 or 80 cm), except that white trap height did not significantly affect *Musca* spp. captures. These results are consistent with Sharif *et al.* (2020), who reported that most stable flies tend to land on the lower half of sticky screen traps, and with Beresford and Sutcliffe (2008), who recommended positioning traps with the bottom edge about 20 cm above surrounding grass. Stable flies typically fly short distances around 90 cm above the ground and move between hosts and resting sites to feed and

mate, with males and unmated females generally perching near their hosts while mated females move closer to the substrate to lay eggs (Showler and Osbrink, 2015). Such behaviors are consistent with the species' preference for lower perching sites (Black and Krafur, 1985), which likely contributes to the higher capture rates observed with low-positioned traps in this study.

Conclusion

Trap height had a significant effect on the captures of *Stomoxys* spp. and *Musca* spp., while trap shape showed no significant impact. These results suggest that selecting an appropriate trap height is essential for effectively capturing host-seeking flies on dairy farms. Placing traps approximately 20 cm above the ground improved capture efficiency and provided practical guidance for fly management and future studies.

Acknowledgement

This research was financially supported by the Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, Thailand (grant number VET.KU2022-KPVRF01) and by the Kasetsart University Research and Development Institute (KURDI), Bangkok, Thailand (FF(KU)32.67).

References

Beresford, D.V. and J.F. Sutcliffe. 2006. Studies on the effectiveness of coroplast sticky traps for sampling stable flies (Diptera: Muscidae), including a comparison to Alsynite. *Journal of Economic Entomology* 99(3): 1025-1035.

Beresford, D.V. and J.F. Sutcliffe. 2008. Stable fly (*Stomoxys calcitrans*: Diptera, Muscidae) trap response to changes in effective trap height caused by growing vegetation. *Journal of Vector Ecology* 33(1): 40-45.

Black, W.C. and E.S. Krafur. 1985. Use of sticky traps to investigate seasonal trends in the spatial distribution of house flies and stable flies (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology* 22(5): 550-557.

Boonsaen, P., A. Nevot, S. Onju, C. Fossaert, P. Chalermwong, K. Thaisungnoen, A. Lucas, S. Thévenon, R. Masmeatathip, S. Jittapalapong and M. Desquesnes. 2024. Measurement of the direct impact of hematophagous flies on feeder cattle: an unexpectedly high potential economic impact. *Insects* 15(10): 735, doi: 10.3390/insects15100735.

Bunthong, E., W. Klakankhai and K. Tainchum. 2019. Behavioral responses of adult stable flies to colors, shapes and odorants combined with sticky traps. *Khon Kaen Agriculture Journal* 47(suppl. 2): 429-434. (in Thai)

Cilek, J.E. 2003. Attraction of colored plasticized corrugated boards to adult stable flies, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Florida Entomologist* 86(4): 420-423.

Crosskey, R.W. 1993. Stable flies and horn flies (bloodsucking Muscidae). pp. 389 - 400. *In*: R.P. Lane and R.W. Crosskey (eds). *Medical Insects and Arachnids*. Chapman & Hall, London.

Desquesnes, M., S. Onju, P. Chalermwong, S. Jittapalapong and R. Masmeatathip.

2018. A review and illustrated description of *Musca crassirostris*, one of the most neglected haematophagous livestock flies. Medical and Veterinary Entomology 33(1): 16-30.
- Getahun, M.N., S.B.S. Baleba, J. Ngjela, P. Ahuya and D. Masiga. 2024. Multimodal interactions in *Stomoxys* navigation reveal synergy between olfaction and vision. Scientific Reports 14: 17724, doi: 10.1038/s41598-024-68726-8.
- Gilles, J., J.F. David, G. Duvallet, S. De La Rocque and E. Tillard. 2007. Efficiency of traps for *Stomoxys calcitrans* and *Stomoxys niger niger* on Reunion Island. Medical and Veterinary Entomology 21(1): 65-69.
- Hogsette, J.A. and G.A. Ose. 2017. Improved capture of stable flies (Diptera: Muscidae) by placement of knight stick sticky fly traps protected by electric fence inside animal exhibit yards at the Smithsonian's National Zoological Park. Zoo Biology 36(6): 382-386.
- Khumalo, W.V. and T.D. Galloway. 1996. Seasonal abundance of stable flies, *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae), at Glenlea, Manitoba. Proceedings of the Entomological Society of Manitoba 52: 4-17.
- Lehane, M.J. 2005. The Biology of Blood-Sucking in Insects. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge. 321 p.
- Murchie, A.K., C.E. Hall, A.W. Gordon and S. Clawson. 2018. Black border increases *Stomoxys calcitrans* catch on white sticky trap. Insects 9(1): 13, doi: 10.3390/insects9010013.
- Nangoy, M., E. Sondakh, R. Koneri and U.K. Hadi. 2022. Fly species on cows around the Tangkoko Nature Reserve, North Sulawesi, Indonesia and their role as zoonotic disease vectors. Biodiversitas Journal of Biological Diversity 23(2): 631-636.
- Ngoen-Klan, R., A. Khenmee, N. Paramathsakul, K. Pitpeng, K. Moophayak and T. Chareonviriyaphap. 2024. Spatiotemporal distribution of hematophagous flies (Diptera: Muscidae) on beef cattle farms in Bangkok, Thailand. Journal of Medical Entomology 61(3): 667-677.
- Ola-Fadunsin, S.D., F.I. Gimba, D.A. Abdullah, F.F.J. Abdullah and R.A. Sani. 2020. Dataset on the diversity and distribution of biting flies collected from cattle farms in Peninsular Malaysia. Data in Brief 29: 105315, doi: 10.1016/j.dib.2020.105315.
- Onju, S., K. Thaisungnoen, R. Masmeatathip, G. Duvallet and M. Desquesnes. 2020. Comparison of blue cotton and blue polyester fabrics to attract hematophagous flies in cattle farms in Thailand. Journal of Vector Ecology 45(2): 262-268.
- Phasuk, J., P. Jhaiaun, C. Rungchalermlak, G.T. Nguyen, W. Chimnoi, P. Tongyoo and K. Kamyinkird. 2025. Comparison of colored sticky traps for *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) on dairy cattle farms in Saraburi province, Thailand. Journal of Economic Entomology 118(2): 959-965.
- Phetcharat, Y., T. Wongtawan, P. Fungwithaya, J. Amendt and N. Sontigun. 2024. Species diversity and seasonal abundance of

- Stomoxyinae (Diptera: Muscidae) and tabanid flies (Diptera: Tabanidae) on a beef cattle and a buffalo farm in Nakhon Si Thammarat province, southern Thailand. *Insects* 15(10): 818, doi: 10.3390/insects15100818.
- R Core Team. 2023. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. (Online). Available: <http://www.R-project.org/> (December 1, 2023).
- Rochon, K., J.A. Hogsette, P.E. Kaufman, P.U. Olafson, S.L. Swiger and D.B. Taylor. 2021. Stable fly (Diptera: Muscidae)—biology, management, and research needs. *Journal of Integrated Pest Management* 12(1): 38, doi: 10.1093/jipm/pmab029.
- Sharif, S., E. Liénard, G. Duvallet, L. Etienne, C. Mongellaz, C. Grisez, M. Franc, E. Bouhsira and P. Jacquet. 2020. Attractiveness and specificity of different polyethylene blue screens on *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Insects* 11(9): 575, doi: 10.3390/insects11090575.
- Showler, A.T. and W.L.A. Osbrink. 2015. Stable fly, *Stomoxys calcitrans* (L.), dispersal and governing factors. *International Journal of Insect Science* 7(7): 19-25.
- Taylor, D.B. and D. Berkebile. 2006. Comparative efficiency of six stable fly (Diptera: Muscidae) traps. *Journal of Economic Entomology* 99(4): 1415-1419.
- Taylor, D.B., K. Harrison and J.J. Zhu. 2020. Methods for surveying stable fly populations. *Journal of Insect Science* 20(6): 17, doi: 10.1093/jisesa/ieaa094.
- Tumrasvin, W. and S. Shinonaga. 1978. Studies on medically important flies in Thailand V. On 32 species belonging to the subfamilies Muscinae and Stomoxyinae including the taxonomic keys (Diptera: Muscidae). *Bulletin of Tokyo Medical and Dental University* 25: 201-227.
- Tunnakundacha, S., M. Desquesnes and R. Masmeatathip. 2017. Comparison of Vavoua, Malaise and Nzi traps with and without attractants for trapping of *Stomoxys* spp. (Diptera: Muscidae) and tabanids (Diptera: Tabanidae) on cattle farms. *Agriculture and Natural Resources* 51(4): 319-323.
-

การทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว

Evaluation and Comparison of the Efficacy of Mutant and Newly Selected *Trichoderma* Strains in Controlling Rice Blast Disease

นุจรินทร์ จังขันธ โกเมส เด ฟาเรียส^{1*} ดวงกมล บุญช่วย² วันพร เข้มมุกต์³

จิราภรณ์ กวงใหม่¹ กนกพร มะโนเรือง¹ อัญชลี ตาคำ⁴ และ พยอมน โคเบลลี³

Nootjarin Jungkhun Gomes de Farias^{1*}, Duangkamon Boonchuay², Wanporn Khemmuk³,
Jiraporn Kuangmai¹, Kanokporn Manoruang¹, Anchalee Takham⁴ and Payorm Cobelli³

¹ ศูนย์วิจัยข้าวเชียงราย อ.พาน จ.เชียงราย 57120

¹ Chiang Rai Rice Research Center, Phan, Chiang Rai, 57120, Thailand

² ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท อ.เมืองชัยนาท จ.ชัยนาท 17000

² Chainat Rice Research Center Khao, Mueang Chainat, Chainat 17000, Thailand

³ กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

³ Division of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

⁴ ศูนย์วิจัยข้าวเชียงใหม่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ 50120

⁴ Chiang Mai Rice Research Center, San Pa Tong, Chiang Mai 50120, Thailand

*Corresponding author: Email: Nootjarin.nan@gmail.com

(Received: 20 November 2025; Revised: 27 January 2026 ; Accepted: 28 January 2026)

Abstract: Rice blast (*Pyricularia oryzae*) is a major disease affecting rice yield and quality in Thailand. The use of *Trichoderma* spp. is a potential biological disease management option that also promotes sustainable rice production. This research aimed to evaluate the efficacy of highly effective mutant and newly selected strains of *Trichoderma* spp. for sustainable rice blast disease management. Previously characterized gamma and UV-irradiated mutants and newly selected strains were tested *in vitro* for their ability to inhibit *P. oryzae* isolates. The mutant strains TEPCNT002_Gamma_003, TCNT_003 Gamma_005, and TEPCNT002_Gamma_001 continued to exhibit good inhibitory activity, particularly the TEPCNT002_Gamma_003 mutant. Besides, three newly selected isolates, 66TRCRPA2-1, 66TRCMMC1-1, and 66TRCMMC2-4, also showed good inhibitory activity. The strain TEPCNT002_Gamma_003, identified by nucleotide sequence analysis of the internal transcribe spacer (ITS) translation elongation factor 1-alpha (*tef 1α*) และ RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) as *Trichoderma asperelloides*, exhibited excellent

Copyright © Journal of Agricultural Research and Communications. All rights reserved.

disease control when tested in greenhouse conditions and was the most effective in controlling blast disease when tested in field conditions. This research indicates that inducing mutations in *Trichoderma* fungi is an effective approach to enhance disease control potential. *T. asperelloides* TPCNT002_Gamma_003 can be a sustainable alternative to chemical agents for the control of rice blast disease.

Keywords: *Trichoderma*, rice blast disease, biological control, mutations in *Trichoderma* fungi

บทคัดย่อ: โรคไหม้ข้าว (*Piricularia oryzae*) เป็นโรคสำคัญที่ส่งผลต่อผลผลิตและคุณภาพข้าวในประเทศไทย การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) จึงเป็นทางเลือกของการจัดการโรคโดยชีววิธีที่มีศักยภาพและส่งเสริมการผลิตข้าวอย่างยั่งยืน การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินและยืนยันประสิทธิภาพของเชื้อไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายและคัดเลือกใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงในการจัดการโรคไหม้ข้าวอย่างยั่งยืน โดยนำเชื้อไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายที่ได้จากการชักนำด้วยรังสีแกมมาและรังสียูวี และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งไอโซเลทของเชื้อรา *P. oryzae* ในห้องปฏิบัติการ จากการทดสอบพบว่า สายพันธุ์กลาย TPCNT002_Gamma_003, TCNT_003 Gamma_005 และ TPCNT002_Gamma_001 และไอโซเลทคัดเลือกใหม่ 66TRCPA2-1, 66TRCMMC1-1 และ 66TRCMMC2-4 ยังคงแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดี โดยเฉพาะสายพันธุ์กลาย TPCNT002_Gamma_003 ซึ่งถูกจำแนกชนิดด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง internal transcribe spacer (ITS) translation elongation factor 1-alpha (*tef1α*) และ RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) ว่าเป็น *Trichoderma asperelloides* แสดงการควบคุมโรคได้ดีเมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือน และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ได้ดีที่สุดเมื่อทดสอบในสภาพแปลงนาทดลอง การทดสอบนี้ชี้ให้เห็นว่า การชักนำให้เชื้อราไตรโคเดอร์มาเกิดการกลายพันธุ์เป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มศักยภาพการควบคุมโรค โดย *T. asperelloides* TPCNT002_Gamma_003 สายพันธุ์กลายนี้จะเป็นทางเลือกที่ยั่งยืนในการใช้ทดแทนสารเคมีเพื่อควบคุมโรคไหม้ข้าวต่อไป

คำสำคัญ: ไตรโคเดอร์มา โรคไหม้ข้าว การควบคุมโดยชีววิธี การกลายพันธุ์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา

คำนำ

โรคไหม้ข้าว (rice blast disease) เกิดจากเชื้อรา *Piricularia oryzae* เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างรุนแรงต่อผลผลิตข้าวทั่วโลก รวมถึงในประเทศไทย (Jantasuriyarat and Katengam, 2009) แม้ว่าการควบคุมโรคไหม้ข้าวในปัจจุบันยังคงพึ่งพาการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราเป็นหลัก แต่การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องได้สร้างปัญหาสำคัญด้านความต้านทานของเชื้อรา การตกค้างในสิ่งแวดล้อม และความเสี่ยงต่อสุขภาพ (Khilaimala, 2015) ด้วยเหตุนี้ จึงมีความจำเป็นในการพัฒนาแนวทางควบคุมโรคที่ปลอดภัย

และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี (biocontrol)

การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นอย่างมากในการเกษตรที่ยั่งยืน เนื่องจากเชื้อราไตรโคเดอร์มามีกลไกการควบคุมที่ซับซ้อนและหลากหลาย เช่น การเป็นปรสิต การสร้างสารปฏิชีวนะ รวมถึงความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช (induced systemic resistance; ISR) (Shores et al., 2010) งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้แสดงศักยภาพของไตรโคเดอร์มาในการลดความรุนแรงของโรคไหม้ข้าวในระยะต่าง ๆ (Singh et al., 2012) เพื่อเพิ่ม

ศักยภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ให้สูงขึ้น จึงมีการนำเทคนิคการชักนำการกลายพันธุ์แบบดั้งเดิม (classical mutagenesis) ด้วยรังสีไอออนไนซ์ เช่น รังสีแกมมา มาใช้เพื่อปรับปรุงลักษณะทางฟีโนไทป์และเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อโรค (Abbasi *et al.*, 2016) วิธีการนี้ช่วยให้สามารถพัฒนาสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติเด่นขึ้นมาใหม่ได้ โดยยังคงเป็นวิธีการที่หลีกเลี่ยงข้อจำกัดด้านสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม (GMOs) (Tran *et al.*, 2025) งานวิจัยของ Boonchuay *et al.* (2024) พบว่า เชื้อรา *T. asperelloides* ที่ผ่านการชักนำให้กลายพันธุ์ หลายไอโซเลตแสดงประสิทธิภาพการยับยั้ง *P. oryzae* ในห้องปฏิบัติการได้สูง ผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึง การเพิ่มศักยภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ผ่านการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ และเป็นก้าวสำคัญในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

การจำแนกชนิดของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ด้วยเทคนิคทางอนุชีววิทยาเป็นวิธีที่ให้ความแม่นยำสูง โดยเฉพาะเทคนิคการหาลำดับเบสหลายยีน (multilocus sequence typing; MLST) และการหาลำดับเบสจีโนมทั้งหมด (whole genome sequencing; WGS) โดย MLST เป็นเทคนิคที่ใช้ลำดับเบสของยีนหลายตำแหน่ง (multiple loci) แต่มีข้อจำกัดด้านข้อมูลที่ได้เฉพาะบริเวณที่เลือกศึกษาเท่านั้น (Druzhinina *et al.*, 2005) ในทางกลับกัน WGS เป็นการหาลำดับเบสของจีโนมทั้งหมด ทำให้ได้ข้อมูลที่ละเอียดและครอบคลุมที่สุด สามารถใช้ระบุสายพันธุ์ได้อย่างแม่นยำ และช่วยในการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการควบคุมโรคได้ อย่างไรก็ตาม WGS ยังคงมีข้อจำกัดในด้านความซับซ้อนของการวิเคราะห์ข้อมูลทางชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ซึ่งต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญและทรัพยากรในการประมวลผลสูงกว่า MLST มาก (Ross and Santiago-Tirado, 2024)

ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกและประเมินประสิทธิภาพของไอโซเลตเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์คัดเลือกใหม่และสายพันธุ์กลายในการยับยั้งไอโซเลตของ *P. oryzae* จากพื้นที่ต่างๆ พร้อมทั้งจำแนกชนิดของสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดด้วยเทคนิค WGS ก่อนประเมินผลการควบคุมโรคไหม้ข้าวในสภาพโรงเรือนและแปลงนาทดสอบ เพื่อนำไปสู่การ-

พัฒนาชีวภัณฑ์ประสิทธิภาพสูง สำหรับใช้ในระบบการผลิตข้าวอย่างยั่งยืนและปลอดภัยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายและสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้จากพื้นที่ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาเริ่มต้นด้วยการประเมินประสิทธิภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา 6 สายพันธุ์กลาย ที่คัดเลือกจากงานวิจัยของ Boonchuay *et al.* (2024) และ 5 สายพันธุ์คัดเลือกใหม่จากงานวิจัยของ Gomes de Farias *et al.* (2023) รวมทั้งหมด 11 สายพันธุ์ โดยทำการทดสอบการยับยั้งกับเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ ไอโซเลตจาก 3 แหล่งที่เป็นตัวแทนของภูมิภาคในการพบการระบาดในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงราย (NB CRI), สุพรรณบุรี (NB SPB), และศรีสะเกษ (NB SSK) การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราดังกล่าว ดำเนินการโดย วิธี dual culture (Bastakoti *et al.*, 2017) บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ (Tshilenge-Lukanda *et al.*, 2024) หลังจากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (percent inhibition of radial growth; PIRG) เพื่อประเมินประสิทธิภาพก่อนที่จะคัดเลือกไอโซเลตที่แสดงค่า PIRG สูงสุด รวม 6 ไอโซเลต (สายพันธุ์กลาย 3 อันดับแรก และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 3 อันดับแรก) เพื่อนำไปทดสอบการควบคุมโรคไหม้ในสภาพโรงเรือนต่อไป

2. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายด้วยวิธีชีวโมเลกุล

ศึกษาความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเชื้อราไตรโคเดอร์มาในสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 และสายพันธุ์ดั้งเดิม TEPCNT002 โดยเริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอจากเชื้อบริสุทธิ์ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยชุด DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen) ประเทศเยอรมนี วัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง

Qubit Fluorometer ยี่ห้อ Invitrogen (Thermo Fisher Scientific) รุ่น Qubit 4 Fluorometer ประเทศสหรัฐอเมริกา และดำเนินการหาลำดับจีโนมทั้งหมด (WGS) โดยใช้เครื่อง Illumina Miseq ยี่ห้อ Illumina รุ่น NovaSeq X Plus ประเทศสหรัฐอเมริกา ข้อมูลลำดับเบสที่ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ทางชีวสารสนเทศโดยคัดกรองคุณภาพด้วยโปรแกรม Fastp (v0.23.1) (Chen *et al.*, 2018) ก่อนทำการประกอบจีโนมใหม่แบบ *de novo* assembly ด้วยโปรแกรม SPAdes v4.2.0 (Bankevich *et al.*, 2012) สำหรับการจำแนกชนิดลำดับเบสในตำแหน่ง internal transcribe spacer (ITS) translation elongation factor 1-alpha (*tef-1α*) และ RNA polymerase II subunit B (*rpb2*) ค้นหาลำดับ contigs ที่ประกอบใหม่ โดยใช้โปรแกรม BLAST+ (v. 2.17.0) (Camacho *et al.*, 2009) เปรียบเทียบกับข้อมูลอ้างอิง *T. asperelloides* ไอโซเลท GJS 04-111T และ GJS 04-187 ก่อนจะนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NCBI GenBank และวิเคราะห์แผนภูมิวิวัฒนาการตามวิธีการของ de Farias *et al.* (2024) ต่อไป

3. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาในสภาพโรงเรือน

ปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) (Khalili *et al.*, 2012) รวม 12 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 กระถาง ๆ ละ 3 ต้น กรรมวิธีในการทดลองประกอบด้วย 6 ไอโซเลทของเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่คัดเลือกจากผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการ (สายพันธุ์กลาย 3 ไอโซเลท และสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 3 ไอโซเลท) เปรียบเทียบกับเชื้อดั้งเดิม (wild type) (2 ไอโซเลท), เชื้อราไตรโคเดอร์มาจากกรมส่งเสริมการเกษตร (TDOAE002), สารเคมีควบคุม (Tricyclazole 75% WP), และชุดควบคุม (น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่ปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อ) โดยไอโซเลทเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ใช้ถูกเตรียมเป็นสปอร์แขวนลอยที่ความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นบนต้นข้าวก่อนปลูกเชื้อ *P. oryzae* 1 วัน เมื่อข้าวอายุ 30 วัน ปลูกเชื้อ *P. oryzae* (ผสมไอโซเลทตัวแทนจาก 3 ภูมิภาค) ด้วยสปอร์แขวนลอยความเข้มข้นประมาณ 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ประเมินความรุนแรงของโรคตาม standard evaluation system (SES) ของ

IRRI (International Rice Research Institute, 2013) และคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรคตามวิธีการของ Townsend and Heuberger (1943)

4. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาในแปลงทดลอง

ปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธีหว่านน้ำตามในแปลงย่อยขนาด 4x7 เมตร (28 ตารางเมตร) วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Bhusal *et al.*, 2018) จำนวน 6 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ กรรมวิธีที่ใช้ประกอบด้วยสายพันธุ์ที่แสดงประสิทธิภาพสูงสุดในโรงเรือน ได้แก่ สายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003, สายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 66TRCPA2-1, เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม TEPCNT002, เชื้อราไตรโคเดอร์มาจากกรมส่งเสริมการเกษตร (TDOAE002), สารเคมีควบคุม (Tricyclazole 75% WP), และชุดควบคุม (น้ำเปล่า) เชื้อราไตรโคเดอร์มาถูกเตรียมเป็นสปอร์แขวนลอยความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นด้วยปริมาตร 0.7 ลิตรต่อครั้งต่อแปลงย่อย (คำนวณจากอัตราการใช้ 40 ลิตรต่อไร่) จำนวน 4 ครั้ง ได้แก่ ระยะกล้า, ระยะแตกกอ, ตั้งท้อง และระยะออกรวง 5-10 เปอร์เซ็นต์ ประเมินความรุนแรงของโรคตาม SES ของ IRRI (International Rice Research Institute, 2013) และคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรคตามวิธีการของ Townsend and Heuberger (1943) ดังนี้ ดัชนีความรุนแรงของโรค (DI %) = $\frac{[\sum ((n \times v)]}{N \times V} \times 100$ โดย n = จำนวนใบในแต่ละระดับคะแนน v = ระดับคะแนนความรุนแรงของโรค (Numerical Grade) N = จำนวนใบทั้งหมดที่ประเมิน และ V = ระดับความรุนแรงของโรคสูงสุด (Highest Category) ประเมินการเกิดอาการไหม้คอร่วงก่อนเก็บเกี่ยว 1 สัปดาห์ คำนวณและบันทึกผลผลิตที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ จากพื้นที่เก็บเกี่ยว 2x5 เมตร (10 ตารางเมตร)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายและสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ต่อการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรครไหม้จากพื้นที่ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลายในการการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* จาก 3 ไอโซเลท (NB CRI, NB SPB, และ NB SSK) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งมีความผันแปรตามไอโซเลทของเชื้อ *P. oryzae* ที่นำมาทดสอบ โดยเชื้อ *P. oryzae* ไอโซเลท NB CRI นั้น TEPCNT002_Gamma_001 สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 53.44 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไอโซเลทอื่น และสายพันธุ์ดั้งเดิมทั้ง 2 ไอโซเลท การทดสอบกับไอโซเลท NB SPB พบว่า สายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_001 TEPCNT002_Gamma_002 TEPCNT002_Gamma_003 TCNT003_Gamma_005 และ TCNT003_UV15min_070 แสดงความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสายพันธุ์กลาย TCNT003_UV15min_048 และสายพันธุ์ดั้งเดิมทั้ง 2 ไอโซเลท โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 66.16-67.09 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การทดสอบกับไอโซเลท NB SSK พบว่า TEPCNT002_Gamma_003 แสดงความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุด เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 65.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสายพันธุ์ดั้งเดิมทั้งสองไอโซเลท และสายพันธุ์กลายอื่น ยกเว้นไอโซเลท TEPCNT002_Gamma_001 ที่แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (Table 1, Figure 1)

ผลการทดสอบนี้ยืนยันว่า การชักนำด้วยรังสีแกมมา (mutagenesis) เป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ของ *Trichoderma* spp. ต่อเชื้อรา *P. oryzae* โดยสอดคล้องกับรายงานของ Tran *et al.* (2025) ที่ระบุว่าสายพันธุ์กลายที่ชักนำด้วยรังสีแกมมาสามารถเพิ่มอัตราการยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* ในห้องปฏิบัติการได้สูงถึง 92.57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสายพันธุ์กลายที่ชักนำด้วยรังสีแกมมาสามารถเพิ่มอัตราการยับยั้งเชื้อ *P. oryzae* ได้สูง

ในส่วน of สายพันธุ์คัดเลือกใหม่ เชื้อราไตรโคเดอร์มาทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* ทั้ง 3 ไอโซเลท โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไอโซเลท NB CRI อยู่ในช่วง 46.08-52.92 ไอโซเลท NB SPB อยู่ในช่วง 62.38-68.65 และ NB SSK อยู่ในช่วง 56.13-65.00 เปอร์เซ็นต์ (Table 2, Figure 2) จากการทดลองนี้ ได้คัดเลือกไอโซเลท 66TRCPA2-1 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 68.65 เปอร์เซ็นต์ ไปใช้ในการทดลองต่อไป โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งนี้สูงกว่าอัตราการยับยั้งสูงสุดที่รายงานในงานวิจัย เช่น การยับยั้งได้ 60 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลท Ts7B1 (Tshilenge-Lukanda *et al.*, 2024) หรือ 43.99 เปอร์เซ็นต์ของ *T. harzianum* (Pandit *et al.*, 2024) ประสิทธิภาพที่สูงนี้อาจเป็นผลมาจากกลไกการผลิตสารปฏิชีวนะหรือเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ของไอโซเลทนี้ที่ทำงานได้ดีกว่า (Prismantoro *et al.*, 2024)

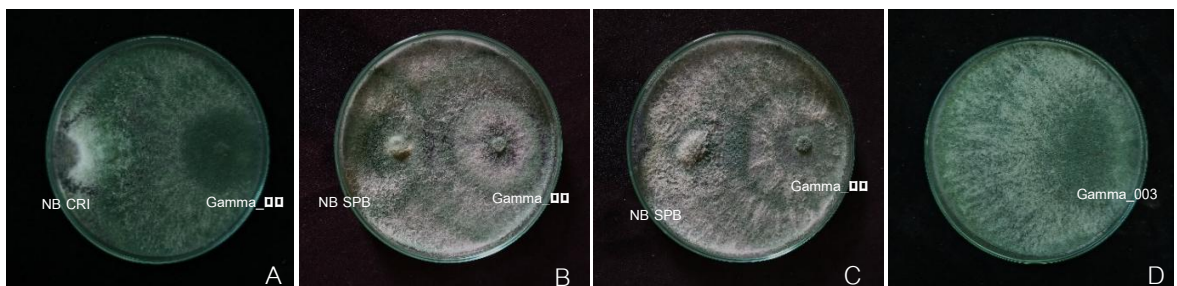


Figure 1. Effect of mutant *Trichoderma* sp. TEPCNT002_Gamma_003 against *P. oryzae* isolates. (A) NB CRI, (B) NB SPB, (C) NB SSK and (D) Control: TEPCNT002_Gamma_003

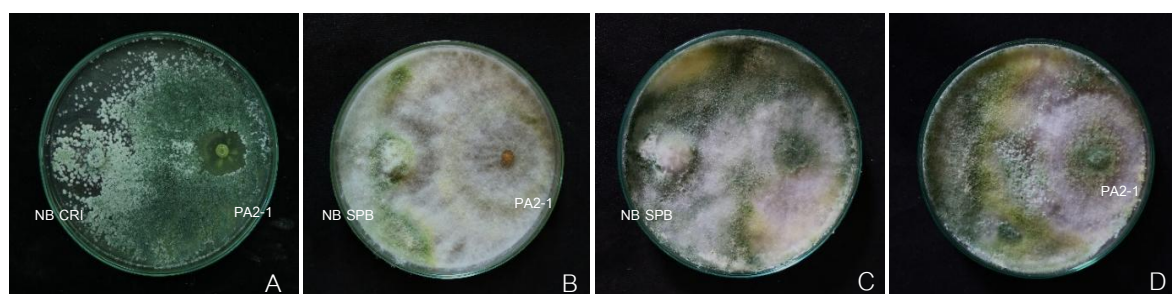


Figure 2. Effect of *Trichoderma* sp. 66TRCRPA2-1 against *P. oryzae* isolates. (A) NB CRI, (B) NB SPB, (C) NB SSK and (D) Control: 66TRCRPA2-1

Table 1. Percentage inhibition of radial growth of antagonistic *Trichoderma* isolates against *P. oryzae* isolate NB CRI, NB SPB, and NB SSK

<i>Trichoderma</i> spp.	Radial growth inhibition (%) against <i>P. oryzae</i>		
	NB CRI	NB SPB	NB SSK
TEPCNT002_Gamma_001	53.44 ± 0.85a ¹	66.61 ± 1.82a	64.30 ± 2.32ab
TEPCNT002_Gamma_002	47.32 ± 0.71b	66.34 ± 1.88a	55.20 ± 0.93d
TEPCNT002_Gamma_003	46.90 ± 3.88b	67.09 ± 1.71a	65.50 ± 2.06a
TCNT003_Gamma_005	45.73 ± 3.27b	66.68 ± 0.93a	60.68 ± 2.18bc
TCNT003_UV15min_048	46.39 ± 0.76b	64.25 ± 1.04b	60.43 ± 3.68bc
TCNT003_UV 15min_070	46.41 ± 4.23b	66.16 ± 2.46a	57.92 ± 1.72cd
Wild type TEPCNT002	44.74 ± 4.46b	63.67 ± 0.79bc	55.22 ± 1.39d
Wild type TCNT003	47.47 ± 1.83b	62.24 ± 0.97d	57.91 ± 2.24cd
CV (%)	5.34	1.32	3.81

¹Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

Table 2. Antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against three isolates of *P. oryzae*

<i>Trichoderma</i> spp.	Radial growth inhibition (%) against <i>P. oryzae</i>		
	NB CRI	NB SPB	NB SSK
66TRCRPA2-1	52.92 ± 2.63a ¹	68.65 ± 2.17a	65.00 ± 1.63a
66TRCMMC1-1	52.42 ± 1.89a	64.82 ± 1.12bc	62.50 ± 2.84a
66TRCMMC2-4	51.31 ± 2.79a	66.84 ± 2.65ab	59.73 ± 1.73a
66TRCMMC4-2	46.08 ± 3.35b	67.60 ± 1.15ab	56.13 ± 2.12b
66TRCMMC5-3	49.83 ± 1.89ab	62.38 ± 2.09c	64.15 ± 3.48ab
CV (%)	4.18	2.79	4.09

¹ Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

2. ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย

การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมในตำแหน่ง ITS และยีน *tef-1α* และ *rpb2* ของเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย พบว่า เชื้อไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์ดั้งเดิม TPCNT002 และสายพันธุ์กลาย TPCNT002_Gamma_003 จัดอยู่ในกลุ่ม *T. asperelloides* (Figure 3) โดยมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสายพันธุ์ต้นแบบ *T. asperelloides* GJS 04-111T และสายพันธุ์ GJS 04-187 ด้วยค่าการสนับสนุนทางสถิติสูงสุด Bayesian inference (PP = 1.0) และ maximum likelihood (ML) bootstrap 99 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานของ Atanasova *et al.* (2013) ที่ระบุว่า ITS, *tef-1α* และ *rpb2* มีบทบาทสำคัญในการจำแนกสายพันธุ์ไตรโคเดอร์มา เนื่องจากลำดับเบสในตำแหน่ง ITS เพียงอย่างเดียวไม่สามารถแยกสายพันธุ์ได้อย่างแม่นยำในกรณีที่มีการเกิดสายพันธุ์แฝง (cryptic speciation) การวิเคราะห์

ข้อมูลลำดับเบสของยีนหลายตำแหน่ง (multilocus barcoding) สามารถแยกสายพันธุ์ TPCNT002 และสายพันธุ์กลาย TPCNT002_Gamma_003 ออกจาก *T. asperellum* (CBS 433.97T และ GJS 04-15) ได้อย่างชัดเจน ด้วยค่าการสนับสนุนสูง (ML bootstrap 73 เปอร์เซ็นต์ และ Bayesian PP = 1.0) แสดงถึงความแม่นยำของข้อมูลลำดับเบสที่ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์เชื้อรากลุ่มไตรโคเดอร์มาซึ่งมีความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากเชื้อรา *T. asperellum* และ *T. asperelloides* มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันและมักถูกระบุผิดพลาดหากไม่มีข้อมูลจากหลายตำแหน่งของรหัสพันธุกรรม (Ismail *et al.*, 2024) แม้ว่ารังสีแกมมาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโมเลกุลของดีเอ็นเอ ซึ่งอาจนำไปสู่การตายของเซลล์หรือการเพิ่มประสิทธิภาพการต้านเชื้อได้ (Rostami *et al.*, 2024) แต่การเปลี่ยนแปลงทางจีโนมที่เกิดขึ้น ส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบของ point mutation (การกลายพันธุ์แบบจุด หรือ single nucleotide

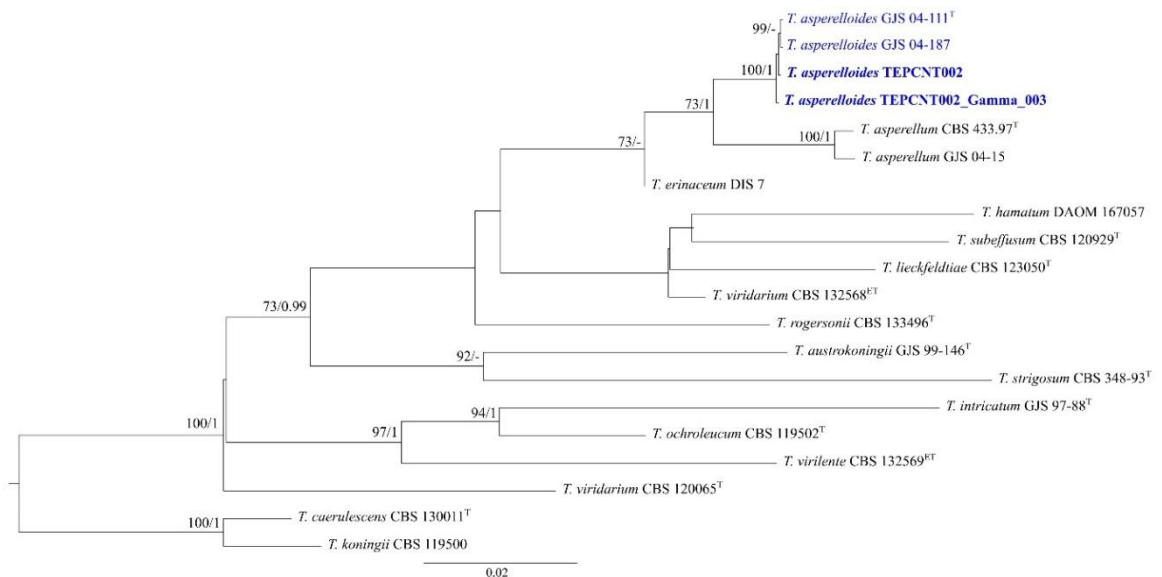


Figure 3. The combined maximum likelihood and Bayesian phylogenetic tree generated from ITS, *tef-1α*, and *rpb2* sequence data for *Trichoderma* sp. The tree is rooted with *T. koningii* (CBS 119500) and *T. caerulescens* (CBS 130011^T). The strains from this study are in bold blue, and T and ET after the strain codes represent type materials. Bayesian posterior probabilities ≥ 0.95 and Maximum Likelihood bootstrap values $\geq 70\%$ are shown at the nodes

polymorphism; SNP) และไม่สามารถคาดการณ์ได้ (Tan *et al.*, 2019) การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นนั้นมักส่งผลต่อคุณลักษณะทางฟีโนไทป์ เช่น การผลิตสารทุติยภูมิหรือความสามารถในการต้านเชื้อมากกว่าการเปลี่ยนรหัสพันธุกรรมที่ใช้ในการจำแนกชนิด (Mukherjee *et al.*, 2013) ดังนั้น การศึกษาในอนาคตจึงจำเป็นต้องใช้การวิเคราะห์จีโนมทั้งหมด (WGS) เพื่อระบุตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์ที่ทำให้เชื้อ TEPCNT002_Gamma_003 มีกิจกรรมการควบคุมทางชีวภาพเพิ่มขึ้น ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการทำความเข้าใจกลไกทางอนุชีววิทยาเบื้องหลังประสิทธิภาพที่ได้รับการพัฒนาของสายพันธุ์นี้

3. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาในสภาพโรงเรือน

จากการทดสอบในสภาพโรงเรือน พบว่าค่าดัชนีความรุนแรงของโรคในทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา มีค่าอยู่ในช่วง 10.55-12.50 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีไตรไซคลาโซล (Tricyclazole 75% WP, ดัชนี 11.39) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (ปลูกเชื้อและพ่นน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ) (ดัชนี 21.67) (Table 3) ผลการทดสอบนี้ยืนยันว่า เชื้อราไตรโคเดอร์มามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเทียบเท่ากับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในสภาพโรงเรือน (Ferreira and Musumeci, 2021) ประสิทธิภาพที่เทียบเท่ากันนี้ คาดว่าเป็นผลมาจากการ-

พ่นป้องกันก่อนการเกิดโรค และกลไกการต่อต้านเชื้อราที่หลากหลายของเชื้อราไตรโคเดอร์มา เช่น การผลิตเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ และการแข่งขันเพื่อแย่งสารอาหาร (Mukhopadhyay and Kumar, 2020) ซึ่งถือเป็นข้อได้เปรียบที่ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดเชื้อดื้อยาเมื่อเทียบกับสารเคมีที่มีกลไกเดียว ดังนั้น จากผลลัพธ์ที่ไม่แตกต่างทางสถิติในกลุ่มชีววิธีและสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา จึงได้นำผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการมาประกอบการพิจารณา เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดสองไอโซเลท ได้แก่ สายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 66TRCRPA2-1 และสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 เพื่อนำไปทดสอบในแปลงนาทดลองต่อไป

4. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราไตรโคเดอร์มาในระดับแปลงทดลอง

จากการประเมินความรุนแรงของโรคไหม้ในแปลงนาทดลอง พบว่า กรรมวิธีพ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ได้ดีในทุกระยะการเจริญเติบโต (ระยะกล้า 10.63, แตกกอ 20.61, ตั้งท้อง 36.29 และออกรวง 50.09 เปอร์เซ็นต์) โดยมีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารเคมีไตรไซคลาโซล (Tricyclazole 75% WP) ซึ่งให้ความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด (ระยะกล้า 8.69, แตกกอ 19.65, ตั้งท้อง 30.27 และออกรวง 47.10 เปอร์เซ็นต์) แต่แตกต่างอย่างมี-

Table 3. Blast disease severity index from the efficacy test of *Trichoderma* for controlling blast disease in the tillering stage in greenhouse conditions at Chainat Rice Research Center.

Treatment	Severity index	Treatment	Severity index
66TRCRPA1-2	12.50 b ¹	TCNT003 (wild type)	10.55 b
66TRCRMMC1-1	10.83 b	TEPCNT002 (wild type)	11.66 b
66TRCRMMC2-4	11.39 b	TDOAE 002	10.83 b
TEPCNT002_Gamma_001	11.39 b	Tricyclazole 75% WP	11.39 b
TEPCNT002_Gamma_003	11.11 b	Sterile water (inoculation)	21.67 c
TCNT_003_Gamma_005	11.39 b	Sterile water (no inoculation)	0.00 a
CV (%)		16.11	

¹ Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

นัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) ซึ่งมีความรุนแรงของโรคสูงที่สุดในทุกระยะ (ระยะกล้า 13.91, แตกกอ 27.05, ตั้งท้อง 61.06 และออกรวง 79.35 เปอร์เซ็นต์) ในส่วนของผลผลิต TEPCNT002_Gamma_003 ให้ผลผลิต 303.25 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสารเคมีที่ให้ผลผลิต 387.00 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ผลผลิตของเชื้อราสายพันธุ์กลายนี้สูงกว่าชุดควบคุม (น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งให้ผลผลิตต่ำที่สุดที่ 166.25 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 4) ผลลัพธ์นี้แสดงให้เห็นว่า เชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ทำให้ได้ผลผลิตในระดับที่ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีไตรโคโลโซล ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Seekham *et al.* (2024) ที่รายงานว่า *T. harzianum* KUFA0405 สามารถลดความรุนแรงของโรคและเพิ่มผลผลิตข้าวได้อย่างมี-

นัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการใช้สารเคมีไตรโคโลโซลให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคที่รวดเร็วและส่งผลให้ผลผลิตสูงกว่าเล็กน้อย แต่การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 แสดงให้เห็นถึงความได้เปรียบในด้านของความยั่งยืนทางการเกษตร เนื่องจากการมีกลไกการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคที่หลากหลาย (Multiple modes of action) ทั้งการผลิตเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์และการแข่งขันแย่งชิงสารอาหาร ซึ่งแตกต่างจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์ที่มีกลไกการออกฤทธิ์จำเพาะเจาะจงเพียงตำแหน่งเดียว (Single-site mode of action) กลไกที่หลากหลายจากเชื้อราไตรโคเดอร์มานี้ไม่เพียงแต่ช่วยลดระดับความรุนแรงของโรค แต่ยังช่วยลดความเสี่ยงต่อการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรคในระยะยาวอีกด้วย

Table 4. Evaluation of blast disease severity index, and rice yield in a *Trichoderma* efficacy trial at the Chiang Rai Rice Research Center, during the 2024 wet season.

Treatment	Severity index (%)				Yield (kg/rai)
	Seedling	Tillering	Booting	Panicle	
TEPCNT002_Gamma_003	10.63 ab ¹	20.61 a	36.29 a	50.09 ab	303.25 ab
TEPCNT002	9.30 ab	22.26 ab	50.82 b	60.81 abc	273.50 abc
66TRCRPA2-1	12.29 bc	25.71 b	51.99 b	61.90 bc	264.00 bc
TDOAE 002	10.43 abc	22.52 ab	54.56 b	67.79 bc	240.25 bc
Tricyclazole 75% WP	8.69 a	19.65 a	30.27 a	47.10 a	387.00 a
Sterile water	13.91 c	27.05 b	61.06 b	79.35 d	166.25 c
CV (%)	19.17	13.49	17.27	14.29	26.44

¹ Means within the same column followed the same letter are not significantly different by the DMRT test at $p \leq 0.05$

สรุป

การชักนำการกลายพันธุ์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มาด้วยรังสีแกมมาช่วยเพิ่มศักยภาพการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. oryzae* โดยสายพันธุ์กลาย TEPCNT002_Gamma_003 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคในห่อปฏิบัติการสูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม และมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสายพันธุ์คัดเลือกใหม่ 66TRCPA2-1 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS และยีน *tef-1α* และ *rpb2* ยืนยันว่า TEPCNT002_Gamma_003 จัดเป็น *T. asperelloides* เช่นเดียวกับสายพันธุ์ดั้งเดิม การประเมินในสภาพโรงเรือนและแปลงนาทดลองแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์กลายและสายพันธุ์คัดเลือกใหม่สามารถลดความรุนแรงของโรคไหม้ข้าวได้ในระดับใกล้เคียงการใช้สารเคมีควบคุมโรค โดยเฉพาะสายพันธุ์ TEPCNT002_Gamma_003 ที่ให้ผลดีที่สุดในระดับแปลงนา ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสายพันธุ์ดังกล่าวในการพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สำหรับการควบคุมโรคไหม้ข้าวในระบบการผลิตข้าวอย่างยั่งยืน และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาต่อยอดด้านจีโนมและการพัฒนารูปแบบชีวภัณฑ์ที่มีเสถียรภาพและประสิทธิภาพสูงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) ภายใต้แผนงานวิจัยระบบการผลิตข้าวแบบอาหารปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ระยะที่ 2 โครงการวิจัยการจัดการศัตรูข้าวอย่างยั่งยืนโดยชีววิธี โครงการวิจัยย่อยการคัดเลือกและการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้โดยชีววิธี

เอกสารอ้างอิง

- Abbasi, S., N. Safaie, M. Shams-Bakhsh and S. Shahbazi. 2016. Biocontrol activities of gamma induced mutants of *Trichoderma harzianum* against some soilborne fungal pathogens and their DNA fingerprinting. Iranian Journal of Biotechnology 14(4): 260-269.
- Atanasova, L., I.S. Druzhinina and W.M. Jaklitsch. 2013. Two hundred *Trichoderma* species recognized on the basis of molecular phylogeny. pp. 10-42. In: P. K. Mukherjee, B. A. Horwitz, U. S. Singh, M. Mukherjee, and M. Schmoll (eds.) *Trichoderma: Biology and Applications*. CABI, Croydon.
- Bankevich, A., S. Nurk, D. Antipov, A.A. Gurevich, M. Dvorkin, A.S. Kulikov, V.M. Lesin, S.I. Nikolenko, S. Pham, A.D. Pribelski, A.V. Pyshkin, A.V. Sirotkin, N. Vyahhi, G. Tesler, M.A. Alekseyev and P.A. Pevzner. 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. Journal of Computational Biology 19(5): 455-477.
- Bastakoti, S., S. Belbase, S. Manandhar and C. Arjyal. 2017. *Trichoderma* species as biocontrol agent against soil borne fungal pathogens. Nepal Journal of Biotechnology 5(1): 39-45.
- Bhusal, N.R., B. Acharya, A.R. Devkota and J. Shrestha. 2018. Field evaluation of *Trichoderma viride* for the management of rice leaf blast disease in Pyuthan district, Nepal. Journal of the Institute of Agriculture and Animal Science 35(1): 259-266.
- Boonchuay, D., J. Chaengpradit, N.J. Gomes de Farias, A. Takham and P. Kobelli. 2024. Selection of *Trichoderma asperelloides* mutants induced by gamma and ultraviolet radiation for enhanced efficient inhibition of *Pyricularia oryzae*.

- pp. 2565 -2573. *In* Proceedings of the 21st National Conference, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, December 3-4, 2024. Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom. (in Thai)
- Camacho, C., G. Coulouris, V. Avagyan, N. Ma, J. Papadopoulos, K. Bealer and T. L. Madden. 2009. BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 10: 421. doi: 10.1186/1471-2105-10-421.
- Chen, S., Y. Zhou, Y. Chen and J. Gu. 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34(17): i884 - i890, doi: 10.1093/bioinformatics /bty560.
- de Farias, A.R.G., N. Afshari, V.S.H. Silva, J. Louangphan, O. Karimi and S. Boonmee. 2024. Three novel species and new records of Kirschsteiniotelia (Kirschsteinioteliales) from northern Thailand. *MycKeys* 101: 347-370.
- Druzhinina, I.S., A.G. Kopchinskiy, M. Komoń, J. Bissett, G. Szakacs and C.P. Kubicek. 2005. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology* 42(10): 813-828.
- Ferreira, F.V. and M.A. Musumeci. 2021. *Trichoderma* as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 37(5): 90, doi: 10.1007/s11274-021-03058-7.
- Gomes de Farias, N.J., N. Wangmanow, K. Manoruang, A. Takham and P. Kobelli. 2023. Isolation and screening of *Trichoderma* spp. to suppress the rice blast fungal pathogen. pp. 78 -87. *In* Proceeding of the 20th National Conference, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus (Oral presentation). December 7– 8, 2023. Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom. (in Thai)
- International Rice Research Institute. 2013. SES: Standard Evaluation System for Rice, 5th. International Rice Research Institute, Los Baños, Laguna. 65 p.
- Ismaiel, A., D.K. Lakshman, P.P. Jambhulkar and D. P. Roberts. 2024. *Trichoderma*: Population structure and genetic diversity of species with high potential for biocontrol and biofertilizer applications. *Applied Microbiology* 4(2):875-893.
- Jantasuriyarat, C. and S. Katengam. 2009. Rice blast disease and the current situation of research on blast resistance genes in rice. *Khon Kaen Agriculture Journal* 37: 69-78. (in Thai)
- Khalili, E., M. Sadravi, S. Naeimi and V. Khosravi. 2012. Biological control of rice brown spot with native isolates of three *Trichoderma* species. *Brazilian Journal of Microbiology* 43(1): 297-305.
- Khilaimala, P. 2015. Study on the severity of impacts and monitoring of highly toxic or persistent pesticides in the environment. Department of Agriculture, Bangkok. 105 p. (in Thai)
- Mukherjee, P.K., B.A. Horwitz, A. Herrera-Estrella, M. Schmoll and C. M. Kenerley. 2013. *Trichoderma* research in the genome era. *Annual Review of Phytopathology* 51: 105-129.

- Mukhopadhyay, R. and D. Kumar. 2020. *Trichoderma*: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. Egyptian Journal of Biological Pest Control 30: 133.
- Pandit, D., A.K. Singh, V.K. Razdan, S.K. Singh, V.B. Singh and D. Kumar. 2024. Management of rice blast disease caused by *Pyricularia oryzae* through application of biocontrol agents and fungicides alone and in possible combinations. Indian Phytopathology 77: 283-289.
- Prismantoro, D., S.I. Akbari, N. Permadi, U. Dey, A. Anhar, M. Miranti, M. S. Mispan and F. Doni. 2024. The multifaceted roles of *Trichoderma* in managing rice diseases for enhanced productivity and sustainability. Journal of Agriculture and Food Research 18: 101324, doi: 10.1016/j.jafr.2024.101324
- Ross, R.L. and F.H. Santiago-Tirado. 2024. Advanced genetic techniques in fungal pathogen research. Msphere 9(4): e00643-23, doi: 10.1128/msphere.00643-23.
- Rostami, M., A. Ghorbani and S. Shahbazi. 2024. Gamma radiation-induced enhancement of biocontrol agents for plant disease management. Current Research in Microbial Sciences 7: 100308, doi: 10.1016/j.crmicr.2024.100308.
- Seekham, N., N. Kaewsalong, A. Jantasorn and T. Dethoup. 2024. Field biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. in fresh and dry formulations against rice blast and brown spot diseases and yield effect. European Journal of Plant Pathology 170(1): 1-13.
- Shoresh, M., G.E. Harman and F. Mastouri. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual review of phytopathology 48: 21-43.
- Singh, P.K., A.K. Singh, H.B. Singh and B.K. Dhakad. 2012. Biological control of rice blast disease with *Trichoderma harzianum* in direct seeded rice under medium low land rainfed conditions. Environment and Ecology 30(3B): 834-837.
- Tan, C., X.Q. Zhang, Y. Wang, D. Wu, M.I. Bellgard, Y. Xu, X. Shu, G. Zhou and C. Li. 2019. Characterization of genome-wide variations induced by gamma-ray radiation in barley using RNA-Seq. BMC Genomics 20(1): 783, doi: 10.1186/s12864-019-6182-3.
- Townsend, G.R. and J.W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. Plant Disease Reporter 27(17): 340-343.
- Tran, B.D., H.T. Tran, D.S. Hoang, H.N. Tran, N.K.L. Dao, X.V. Le, X.A. Tran, H.D. Nguyen, T. T.H. Le and T.H. Do. 2025. Gamma irradiation enhances the *in vitro* biocontrol potential of *Trichoderma* species against major rice pathogens *Rhizoctonia solani* and *Pyricularia oryzae*. Applied Biosciences 4(3): 41.
- Tshilenge-Lukanda, L., A. Ngombo-Nzokwani, J. Mukendi, M. Muengula-Manyi, J. Mudibu and A. Kalonji-Mbuyi. 2024. *In vitro* evaluation of *Trichoderma* strains against *Pyricularia oryzae*, the causal agent of rice blast disease. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 13(6): 252-259.

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ (ต่อ)

- 16 กรณีผู้แต่งเดียวกัน แต่ปีพิมพ์ต่างกัน ให้เรียงลำดับตามปีพิมพ์
- ตัวอย่าง (Tangtaweewipat et al. 2009; Tangtaweewipat et al. 2018)
- 17 กรณีอ้างอิงเป็นภาษาอื่น เช่น ภาษาไทย ต้องแปลเป็นภาษาอังกฤษ และเขียน ปีพ.ศ. เป็นปี ค.ศ.
- 18 กรณีเป็นหน่วยงาน ได้แก่ หน่วยงานราชการ สมาคม สถาบัน สำนักงาน ฯลฯ ให้ใช้ชื่อหน่วยงานเต็มในการอ้างอิงทั้งบทความ ตัวอย่าง (Department of Agricultural Extension, 1995)...
- 19 กรณีมีผู้แต่งที่ทั้งบุคคลและเป็นหน่วยงาน ให้ใส่ชื่อผู้แต่งตามด้วยหน่วยงาน และใช้ () คั่นระหว่างชื่อผู้แต่งและหน่วยงาน

2. การเขียนเอกสารอ้างอิง มีรูปแบบการเขียนมีดังนี้

วารสาร (Journals) อ้างอิงวารสารที่มีความทันสมัยและเป็นปัจจุบันมากที่สุด

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

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.

ในกรณีที่เป็นการวารสารออนไลน์ 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.

เรื่องย่อในตำราหรือหนังสือที่มีผู้เขียนแยกเรื่องเขียน และมีบรรณาธิการ

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

TH: Krainikh, S. and W. Namruangsi. 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. ชื่อเรื่องย่อ. 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: Shutsirung, 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. Rourmchaiapikun 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 พร้อมแนบบทฟอร์มนำเสนอบทความเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสาร (<https://li011.tci-thaijo.org/index.php/joacmw/information/authors>) โดยนำเสนอผ่านทาง online เท่านั้น ที่ <https://li011.tci-thaijo.org/index.php/joacmw/index>

การพิจารณาบทความ

- ต้นฉบับที่ไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับของวารสาร จะไม่ได้รับการพิจารณา
- ทุกบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสาร ต้องผ่านการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิ ไม่น้อยกว่า 3 ท่าน
- กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจและแก้ไขบทความทุกเรื่องที่เสนอเพื่อการตีพิมพ์ในวารสาร (The Editorial Board claims a right to review and correct all articles submitted for publishing in Journal of Agriculture)
- หากบทความใดขาดการติดต่อเกิน 6 เดือน กองบรรณาธิการจะดำเนินการลบบทความดังกล่าวออกจากระบบ ThaiJo 2.0 เพื่อให้การจัดทำวารสารเป็นไปด้วยความเรียบร้อยและมีคุณภาพ

สำนักงานและการติดต่อสอบถาม (Office and Inquiries)

กองบรรณาธิการวารสาร
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/1AK1gabPWQgw2ErSRUaTKMjrFdtKdsFC/view>)

Journal of Agricultural Research and Communications

A Technical Journal of Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

Volume 42, Issue 1 January-April 2026

Perceptions and Conditions of Young Agricultural Entrepreneurship in Northeastern Thailand

Kotchaphon Phonimdaeng, Subhakij Sinsukh, Phanitnart Wongyim,
Kanlaya Mikhama and Yos Borisutdhi.....1

Callus Induction and Plantlet Regeneration from Anther of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall.ex Nees. *In Vitro*

Therdsak Thonnaluk, Chantana Witrut and Jinthapa Aum-um.....15

Influence of Light Durations and Sucrose Concentrations on Growth and Development of *Globba* spp. Under *In Vitro*

Oranid Kumyong and Kanyawan Mueangprem.....31

Efficiency of Different Shapes and Heights of Sticky Traps on Capturing Muscid Flies (Diptera: Muscidae) on Dairy Cattle Farms in Saraburi Province, Thailand

Jumnongjit Phasuk, Darunwan Chuensaengarun, Chattraporn Rungchalermlak,
Pairpailin Jhaiaun, Nutsuda Klinkeaw, Wissanuwat Chimnoi,
Pumipat Tongyoo and Ketsarin Kamyinkird.....45

Evaluation and Comparison of the Efficacy of Mutant and Newly Selected *Trichoderma* Strains in Controlling Rice Blast Disease

Nootjarin Jungkhun Gomes de Farias, Duangkamon Boonchuay, Wanporn Khemmuk,
Jiraporn Kuangmai, Kanokporn Manoruang, Anchalee Takham and Payorm Cobelli.....57