



วารสาร

เกษตรพระวรรณ

PRAWARUN AGRICULTURAL JOURNAL

ปีที่ ๑๓ ฉบับที่ ๑

มิถุนายน ๒๕๕๙

Vol. 13 No. 1

June 2016

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY, RAJABHAT MAHA SARAKHAM UNIVERSITY



- พลกระทบของปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญาที่มีต่อปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าเพื่อเป็นแนวทางการจัดการทรัพยากรน้ำสำหรับการเกษตรอย่างยั่งยืน
- การเปรียบเทียบความหลากหลายชนิดของไม้ต้นและการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นระหว่างป่าชายชุมและป่าระหาร อำเภอเมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์
- ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในการควบคุมโรคราสนิมขาวของพืชบวบที่เกิดจากเชื้อรา *Albugo ipomoeae-aquaticae*
- ผลการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ต่อเนื้อลูกผสมจีนดูบราเซลล์ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัตว์เพื่อจัดรอบการเป็นสัตว์ในจังหวัดมหาสารคาม
- Cell Viability and Cytotoxic Testing of Seventeen Asian Plant Extracts toward MARC-145 Cells by MTT Assay
- Effects of supplementation of exogenous fibrolytic enzyme enhances on gas production, digestibility and rumen fermentation of rice straw by using in vitro gas production technique
- สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแตริทิโนยด์ โดย *Rhodotorula rubra* ร่วมกับสารเสริมชีวิตจากเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในฟืนข้าวโพดอาหารสัตว์
- Acute Toxicity of Paraquat and Glyphosate on embryonic development of Climbing Perch (*Anabas testudineus*)
- ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลาไนที่ความหนาแน่นต่างกัน
- การกำจัดสารนิโคตินิกในตัวกลางที่เป็นของเหลวโดยใช้พืชน้ำ
- Promising lipid source for biodiesel production from *Desmodium* sp. RMU08 (Sphaeropleales: Scenedesmales)
- การใช้กากแอมานอลามิกัสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ของโภชนาและกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนโคขุน

ผลกระทบของปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญาที่มีต่อปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่า เพื่อเป็นแนวทางการจัดการทรัพยากรน้ำสำหรับการเกษตรอย่างยั่งยืน

ปิยพงษ์ ทองดินนอก*

ภาควิชาอนุรักษ์วิทยา คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความผันแปรและเปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในปีเอลนีโญ ปีลานีญาและปีปกติ โดยการศึกษาแบบย้อนหลัง ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิอากาศจากกรมอุตุนิยมวิทยา และปริมาณน้ำท่าจากกรมชลประทานและกรมทรัพยากรน้ำ ในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และคลองยัน ระหว่างปี พ.ศ. 2494–2552 ดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อศึกษาความผันแปรด้วยการวิเคราะห์แนวโน้ม และวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่า ในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และลุ่มน้ำคลองยัน ระหว่างปีเอลนีโญกับปีปกติ และปีลานีญากับปีปกติ โดยแบ่งเป็นช่วงรายปี ช่วงน้ำหลาก และช่วงน้ำแล้ง ด้วยสถิติการทดสอบค่า t (t-test for Independent Samples) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ผลการศึกษาพบว่า ลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และคลองยันมีค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำฝน 1,100.70, 1,320.84 และ 1,960.84 มิลลิเมตร มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิ 25.30, 26.81 และ 26.92 องศาเซลเซียส และมีค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำท่า 493.05, 1,621 และ 11,106.50 ล้าน ลบ.ม. ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และคลองยันในช่วงรายปี น้ำหลาก และน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญและปีปกติกับปีลานีญาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นช่วงน้ำหลากที่เปรียบเทียบระหว่างปีปกติกับปีลานีญา ในลุ่มน้ำคลองยัน พบว่าปริมาณน้ำฝนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (p-value = 0.031)

คำสำคัญ : ผลกระทบของปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญา, ปริมาณน้ำฝน, อุณหภูมิ, ปริมาณน้ำท่า, การจัดการน้ำ และการเกษตรอย่างยั่งยืน

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail : fforppt@ku.ac.th

The Impact of El Niño and La Niña Phenomenon on Rainfall, Temperature and Stream Flow to Water Management Approach for Sustainable Agriculture

Piyapong Tongdeenok*

Department of Conservation, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.

Abstract

The objectives of this research were to study variation and comparative analysis of rainfall, temperature and stream flow under El Nino and La Nina phenomena. The methodologies were conducted by a retrospective study. The source of rainfall and temperature were belong to Thai meteorological department while stream flow measurement was belong to royal irrigation department and department of water resources during 1951 to 2009 at difference typical watershed as Mae Taeng, Choen and Khlong Yan. All data were to study variation by trend analysis and comparative analysis between El Niño and normal years, La Niña and normal year among three conditions as annually, wet period and dry period by independent samples t-test with statistical significance at the 0.05 level. The results of variation analysis showed that the annually average of rainfall at Mae Taeng, Choen, and Khlong Yan watersheds were 1,100.70, 1,320.84 and 1,960.84 millimeters. The annual average of temperature at Mae Taeng, Choen and Khlong Yan watersheds were 25.30, 26.81 and 26.92 degree Celsius. The yearly average of stream flow at Mae Taeng, Choen and Khlong Yan watersheds were 493.05, 1,621 and 11,106.50 million cubic meters. The results of comparative analysis showed that not significantly different during El Nino and La Nina phenomena in all comparison except rainfall in during a wet period of comparison between La Niña year and normal year in Khlong Yan watersheds had a significance difference level of 0.05 (p-value = 0.031).

Keywords : The Impact of El Niño and La Niña Phenomenon, Rainfall Amount, Air Temperature, Stream Flow, Water Management and Sustainable Agriculture

* Corresponding author: E-mail: fforppt@ku.ac.th

การเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศ (Climate Change) คือ การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ไม่ว่าจะเป็นเนื่องจากความผันแปรตามธรรมชาติหรือการกระทำของมนุษย์ เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน และความชื้น (Carlos and Jonathan, 2004) ซึ่งคณะกรรมการระหว่างรัฐบาลว่าด้วยการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศ (Intergovernmental Panel on Climate Change: IPCC) ได้คาดการณ์ถึงการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศโลกไว้ว่าในอีก 100 ปีข้างหน้าอุณหภูมิเฉลี่ยของโลกจะเพิ่มสูงขึ้นอีกประมาณ 2.5 องศาเซลเซียส และในประเทศที่อยู่ในแถบที่สูงขึ้นไปทางเหนือและทางใต้ของเส้นศูนย์สูตรอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นอีก 3-5 องศาเซลเซียส ส่วนประเทศที่อยู่ในแถบเส้นศูนย์สูตรอุณหภูมิเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้น 0.5-1.5 องศาเซลเซียส ระดับน้ำทะเลสูงขึ้น 0.09-0.80 เมตร การกระจายของฝนเปลี่ยนไป และภัยพิบัติจากธรรมชาติถี่และรุนแรงขึ้น (IPCC, 2016)

การเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศโลกดังกล่าวส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสังคมมนุษย์เป็นวงกว้าง ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงต่อระดับและกระแสน้ำในมหาสมุทร การเปลี่ยนแปลงของกระแสและทิศทางลม ความรุนแรงของพายุเขตร้อน การเปลี่ยนแปลงของระบบวัฏจักรของน้ำ การเปลี่ยนแปลงของระบบนิเวศด้านการเปลี่ยนแปลงหรือความหลากหลายทางชีวภาพลดลง การเปลี่ยนแปลงด้านทรัพยากรธรรมชาติต่างๆ รวมถึงด้านการเกษตร เศรษฐกิจ ด้านที่อยู่อาศัย และสุขอนามัยของประชาชนในภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลก (Patzet *et al.*, 2005)

ปรากฏการณ์หนึ่งที่เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศโลกคือปรากฏการณ์เอลนีโญ (EL Nina) และลานีญา (La Nina) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ทางธรรมชาติของภาคพื้นสมุทรที่มีความสัมพันธ์กับสภาพภูมิอากาศ โดยเฉพาะอุณหภูมิและปริมาณน้ำฝน โดยเกิดขึ้นมาจากการเปลี่ยนแปลงของชั้นบรรยากาศโลกบริเวณเส้นศูนย์สูตรเหนือมหาสมุทรแปซิฟิก มีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นและเย็นลงของอุณหภูมิผิวน้ำทะเลตอนกลางและด้านตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิกเขตร้อน ซึ่งปรากฏการณ์เอลนีโญเกิดจากการไหลย้อนกลับของผิวน้ำทะเลที่อุ่น ในช่วงเวลาช่วงหนึ่งๆ จากบริเวณเส้นศูนย์สูตรทางมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันออก ไปแทนที่กระแสน้ำเย็นที่

ไหลอยู่เดิมบริเวณเส้นศูนย์สูตรทางมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตกและบริเวณชายฝั่งตะวันตกเฉียงเหนือของทวีปอเมริกาใต้ เมื่อการอุ่นขึ้นของอุณหภูมิผิวน้ำทะเลได้แผ่ขยายกว้างก็ส่งผลกระทบต่ออุณหภูมิเย็นของบรรยากาศแผ่ขยายกว้างออกไปและเป็นต้นเหตุสำคัญทำให้เกิดความแห้งแล้งไปทั่วโลก โดยเฉพาะพื้นที่ในทวีปอเมริกาใต้ ออสเตรเลีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในขณะที่ปรากฏการณ์ลานินญาจะเกิดจากการที่กระแสน้ำเย็นแปรุไหลกลับมาในทิศทางเดิม เพราะลมสินค้าตะวันออกเฉียงใต้มีกำลังแรงขึ้น ทำให้กระแสน้ำอุ่นไหลมาทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ส่งผลให้ภาคพื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทวีปอเมริกาเหนือฝั่งตะวันตกมีฝนตกชุก มีพายุรุนแรงมากกว่าปกติ จนทำให้เกิดอุทกภัย (Ward *et al.*, 2014)

ผลกระทบของปรากฏการณ์ดังกล่าวที่มีต่อประเทศไทย ซึ่งตั้งอยู่ในภาคพื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้คือเมื่อเกิดปรากฏการณ์เอลนีโญ ปริมาณน้ำฝนในประเทศไทยจะมีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะฤดูร้อน (มีนาคม-เมษายน) และต้นฤดูฝน (พฤษภาคม-มิถุนายน) ในขณะที่อุณหภูมิของอากาศจะสูงกว่าปกติ ในขณะที่เมื่อเกิดปรากฏการณ์ลานินญาจะทำให้เกิดผลกระทบในทางตรงกันข้ามคือ ประเทศไทยจะมีอุณหภูมิต่ำกว่าปกติในทุกฤดู และถ้าปรากฏการณ์ลานินญาที่มีขนาดปานกลางถึงรุนแรงจะส่งผลให้ปริมาณน้ำฝนในประเทศไทยสูงขึ้นมากกว่าปกติ (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2553) ผลกระทบของการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิอันเนื่องมาจากปรากฏการณ์ดังกล่าวยังส่งผลกระทบต่อระยะเหຍของน้ำซึ่งจะส่งผลกระทบต่อปริมาณน้ำท่า (น้ำในลำธารและแหล่งน้ำ) ซึ่งปริมาณน้ำท่าเป็นปัจจัยที่มีความจำเป็นและสำคัญอย่างยิ่งต่อการอุปโภค บริโภค การดำรงชีวิตและการประกอบอาชีพของประชาชน เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีพื้นที่ที่ใช้ในการเกษตร 150 ล้านไร่จากพื้นที่ทั้งหมด 319 ล้านไร่ (คิดเป็นร้อยละ 47 ของพื้นที่ทั้งหมด) มีการปลูกพืชเกือบร้อยละ 70 ของพื้นที่ที่ใช้ประโยชน์ได้ โดยร้อยละ 50 เป็นการปลูกข้าว รองลงมาคือ อ้อย มันสำปะหลัง ข้าวโพดและยางพารา (สำนักเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) ผลกระทบจากปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญาจึงส่งผลกระทบต่อกิจกรรมทางการเกษตรโดยตรง เช่น พื้นที่ขาดความชุ่มชื้น พืชขาดน้ำ พืชชะงักการเจริญเติบโต ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพต่ำ ส่วนผลกระทบต่อทรัพยากรป่าไม้ พบว่าในพื้นที่ป่าไม้มีค่าการคายระเหยน้ำสูงในช่วงปีลานินญาน้อยในช่วงปีเอลนีโญ

และสถิติการเกิดไฟฟ้า พบว่าสูงถึงสูงมากในปีที่เป็นเอลนีโญรุนแรง นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศ เช่น ผลผลิตทางการเกษตรคุณภาพต่ำ ทำให้ราคาผลผลิตลดลง เกิดความยากจนและเกิดการสูญเสียจากการทิ้งร้างที่ดินและส่งผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อม ทำให้การเกิดภัยแล้งอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ ทำให้แหล่งน้ำตามธรรมชาติตื้นเขิน ระดับน้ำใต้ดินเปลี่ยนแปลง พื้นที่ที่เคยอุดมสมบูรณ์เกิดความแห้งแล้ง เกิดการกัดเซาะของหน้าดินและการทิ้งร้างไม่ได้ใช้ประโยชน์ของที่ดิน

จากผลกระทบของปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญาที่มีต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิและความสำคัญของปริมาณน้ำท่าที่มีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการประกอบอาชีพเกษตรกรรม ทำให้มีความจำเป็นที่ต้องทำการศึกษผลกระทบของปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญาที่มีต่อปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่า เพื่อการจัดการน้ำสำหรับการเกษตรอย่างยั่งยืน โดยมีวัตถุประสงค์คือ

1. เพื่อศึกษาความผันแปรของปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิและปริมาณน้ำท่าในปีเอลนีโญ ปีลานีญาและปีปกติ
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำท่ากับปริมาณน้ำฝน และอุณหภูมิในปีเอลนีโญ ปีลานีญา และปีปกติ

ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการเตรียมความพร้อมสำหรับการจัดการน้ำให้มีความเหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำท่าและลดความสูญเสียที่เกิดขึ้นเนื่องจากปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญา รวมถึงการจัดทำแผนหรือพัฒนาระบบการจัดการน้ำของภาคเกษตรอย่างยั่งยืนอันจะนำไปสู่การการแก้ไขปัญหาภัยแล้งและปัญหาอุทกภัยในภาคการเกษตรตลอดรวมถึงการบริหารจัดการน้ำเพื่อการอุปโภค บริโภคสำหรับการดำรงชีวิตในประเทศไทยต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. แนวทางการศึกษา และการเลือกพื้นที่ศึกษา

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงสำรวจ โดยทำการศึกษาแบบย้อนหลัง (Retrospective Study) โดยทำการศึกษาปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2494-2552 ในพื้นที่ลุ่มน้ำที่เป็นตัวแทนของกลุ่มน้ำในแต่ละภาคของประเทศไทยคือ กลุ่มน้ำแม่แตง ตั้งอยู่ในเขตจังหวัดเชียงใหม่เป็นตัวแทนของภาคเหนือ กลุ่มน้ำเชิญตั้งอยู่ในเขตจังหวัดเพชรบูรณ์ ขอนแก่น และชัยภูมิเป็นตัวแทนของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และกลุ่มน้ำคลองยันเป็นตั้งอยู่ในจังหวัดระนอง และสุราษฎร์ธานี ตัวแทนของภาคใต้ (สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2548) (ภาพที่ 1)

2. การเก็บรวบรวมข้อมูล

การศึกษาในครั้งนี้ได้กำหนดและรวบรวมข้อมูลสำหรับการใช้ในการศึกษา ดังนี้

2.1 แผนที่ขอบเขตพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เชิญ และคลองยัน

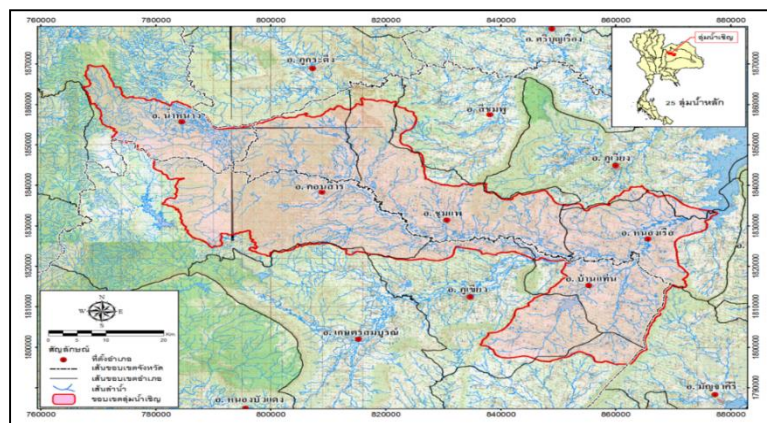
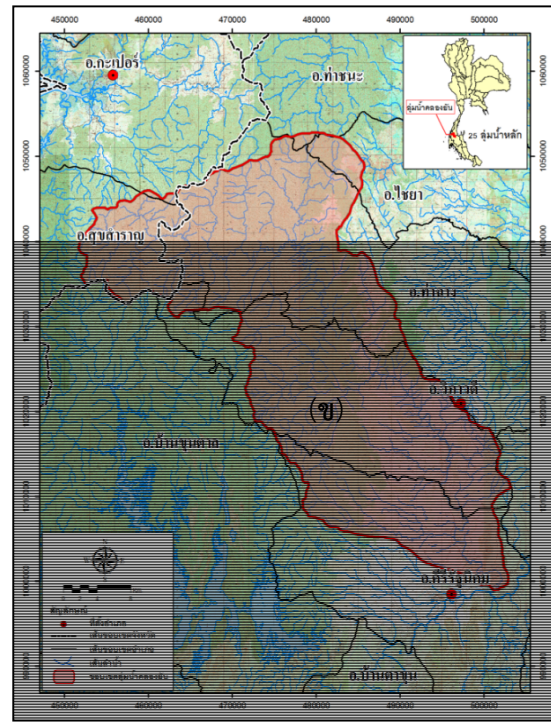
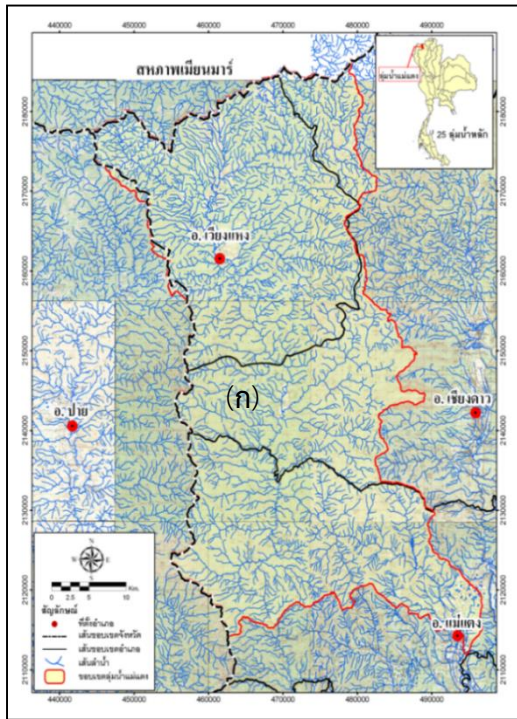
2.2 แผนที่ตั้งสถานีตรวจวัดอากาศ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่า

2.3 การเก็บรวบรวมข้อมูลปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าจากสถานีตรวจวัดในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เชิญ และคลองยัน ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยมีแหล่งข้อมูลดังนี้

2.3.1 ข้อมูลปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิตายเดือนจากกรมอุตุนิยมวิทยาระหว่างปี พ.ศ. 2494-2552

2.3.2 ข้อมูลปริมาณน้ำท่ารายเดือนจากกรมชลประทานและกรมทรัพยากรน้ำ ระหว่างปี พ.ศ. 2494-2552

2.4 ข้อมูลสถิติปีการเกิดปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญาที่ผ่านมาในประเทศไทย จากกรมอุตุนิยมวิทยา



ภาพที่ 1 พื้นที่ศึกษา (ก) กลุ่มน้ำแม่แตง อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (ข) กลุ่มน้ำเชิญ อำเภอกอนสาร จังหวัดชัยภูมิ และ (ค) กลุ่มน้ำคลองยัน อำเภอวิภาวดี จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ตารางที่ 1 จำนวนสถานีวัดปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในกลุ่มน้ำแม่แตง เชิญ และคลองยัน

ชนิดข้อมูล	กลุ่มน้ำแม่แตง (สถานี)	กลุ่มน้ำเชิญ (สถานี)	กลุ่มน้ำคลองยัน (สถานี)
ปริมาณน้ำฝน	14	15	15
อุณหภูมิ	6	6	6
ปริมาณน้ำท่า	1	1	1

ที่มา : กรมอุตุนิยมวิทยา (2553) กรมชลประทาน (2553) และกรมทรัพยากรน้ำ (2553)

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาในครั้งนี้ได้จัดเตรียมข้อมูลและดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลดังนี้

3.1 จัดเรียงข้อมูลปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่ารายเดือนจากสถานีวัดทั้งในพื้นที่ลุ่มน้ำและพื้นที่ใกล้เคียงทั้ง 3 ลุ่มน้ำ ซึ่งแต่ละสถานีเรียงลำดับข้อมูลปริมาณน้ำฝนรายเดือนจากปี พ.ศ. 2494–2552 ตามลำดับ

3.2 การจำแนกช่วงเวลาที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 2

3.3 วิเคราะห์ความความผันแปรของปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าจำแนกตามปีเอลนีโญ ปีลานินญา และปีปกติ ของทั้ง 3 ลุ่มน้ำ โดยทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำฝนด้วยวิธี Theissen Method ค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิด้วยวิธี Isohyetal method และค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำท่าโดยใช้ข้อมูลปริมาณน้ำท่า ณ จุดตรวจวัดของ

ทั้ง 3 ลุ่มน้ำ แล้วนำข้อมูลมาสร้างกราฟปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าเฉลี่ยจำแนกตามปีเอลนีโญ ปีลานินญา และปีปกติ ในแต่ละสถานีตรวจวัด โดยแยกปีที่มีความผันผวนของลักษณะภูมิอากาศอย่างรุนแรง แบ่งเป็นช่วงน้ำหลาก (เมษายน-ตุลาคม) และช่วงแล้งน้ำ (พฤศจิกายน-มีนาคม)

3.4 วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และคลองยัน ในปีเอลนีโญ ปีลานินญา และปีปกติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for Social Science (SPSS FOR WINDOWS) ดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติการทดสอบค่า t (t-test for Independent Samples) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 โดยดำเนินการวิเคราะห์เปรียบเทียบรายคู่ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 สถิติการเกิดปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญาขนาดรุนแรงในประเทศไทย

ปรากฏการณ์	พ.ศ.		
เอลนีโญ (EL Nina)	พ.ศ. 2500 – 2502	พ.ศ. 2515 – 2516	พ.ศ. 2525 – 2526
	พ.ศ. 2533 – 2536	พ.ศ. 2540 – 2541	
ลานินญา (La Nina)	พ.ศ. 2497 – 2499	พ.ศ. 2516 – 2519	พ.ศ. 2531 – 2532
	พ.ศ. 2541 – 2542		

หมายเหตุ : ปีปกติคือปีที่ไม่มีปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญา

ที่มา : กรมอุตุนิยมวิทยา (2553)

ตารางที่ 3 ลักษณะการเปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่า

ลักษณะการเปรียบเทียบ	เปรียบเทียบระหว่างชนิดปี	
เปรียบเทียบรายปี	ปีปกติ กับ ปีเอลนีโญ	ปีปกติ กับ ปีลานินญา
เปรียบเทียบช่วงน้ำหลาก	ปีปกติ กับ ปีเอลนีโญ	ปีปกติ กับ ปีลานินญา
เปรียบเทียบช่วงน้ำแล้ง	ปีปกติ กับ ปีเอลนีโญ	ปีปกติ กับ ปีลานินญา

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

1. ผลการศึกษา

1.1 ข้อมูลปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่ารายเดือนของกลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และลุ่มน้ำคลองยัน จากการรวบรวมข้อมูลปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณ

น้ำท่ารายเดือนของกลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และลุ่มน้ำคลองยัน ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2494-2552 สามารถสรุปได้ดังนี้ (ตารางที่ 4 และภาพที่ 2)

1.1.1 ลุ่มน้ำแม่แตง มีปริมาณน้ำฝนสูงสุด 2,352.22 มม. ต่ำสุด 111.21 มม. มีค่าเฉลี่ย 1,100.70 มม. อุณหภูมิสูงสุด 28.16 (°C) ต่ำสุด 20.90 (°C) มีค่าเฉลี่ย

25.30 (°C) และปริมาณน้ำท่าสูงสุด 1,423.57 ล้าน ลบ.ม. ต่ำสุด 48.37 ล้าน ลบ.ม. มีค่าเฉลี่ย 493.05 ล้าน ลบ.ม.

1.1.2 กลุ่มน้ำเขมามีปริมาณน้ำฝนสูงสุด 3,952.54 มม. ต่ำสุด 53.04 มม. มีค่าเฉลี่ย 1,320.84 มม. อุณหภูมิ สูงสุด 29.72 (°C) ต่ำสุด 22.70 (°C) มีค่าเฉลี่ย 26.81 (°C) และปริมาณน้ำท่าสูงสุด 4,862 ล้าน ลบ.ม. ต่ำสุด 99.7 ล้าน ลบ.ม. มีค่าเฉลี่ย 1,621 ล้าน ลบ.ม.

1.1.3 กลุ่มน้ำคลองย่นมีปริมาณน้ำฝนสูงสุด 3,219 มม. ต่ำสุด 365.52 มม. มีค่าเฉลี่ย 1,960.84 มม. อุณหภูมิ สูงสุด 28.74 (°C) ต่ำสุด 25.39 (°C) มีค่าเฉลี่ย 26.92 (°C) และปริมาณน้ำท่าสูงสุด 15,703.90 ล้าน ลบ.ม. ต่ำสุด 6,850.30 ล้าน ลบ.ม. มีค่าเฉลี่ย 11,106.50 ล้าน ลบ.ม.

ตารางที่ 4 ข้อมูล ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำแม่แตง เขมู และกลุ่มน้ำคลองย่น (ปี พ.ศ. 2549-2552)

ชนิดข้อมูล		กลุ่มน้ำแม่แตง	กลุ่มน้ำเขมู	กลุ่มน้ำคลองย่น
ปริมาณน้ำฝน (มม.)	สูงสุด	2,352.22	3,952.54	3,219
	ต่ำสุด	111.21	53.04	365.52
	เฉลี่ย	1,100.70	1,320.84	1,960.84
อุณหภูมิ (°C)	สูงสุด	28.16	29.72	28.74
	ต่ำสุด	20.90	22.70	25.39
	เฉลี่ย	25.30	26.81	26.92
ปริมาณน้ำท่า (ล้าน ลบ.ม.)	สูงสุด	1,423.57	4,862	15,703.90
	ต่ำสุด	48.37	99.7	6,850.30
	เฉลี่ย	493.05	1,621	11,106.50

1.2 ความผันแปรของปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในพื้นที่กลุ่มน้ำแม่แตง เขมู และกลุ่มน้ำคลองย่น การวิเคราะห์ความผันแปรของปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในพื้นที่กลุ่มน้ำแม่แตง เขมู และกลุ่มน้ำคลองย่นในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2494-2552 จำแนกตามปีเอลนีโญ ปีลานีญา และปีปกติ ผลการวิเคราะห์ข้อมูลสรุปได้ดังนี้

1.2.1 กลุ่มน้ำแม่แตง

ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของปริมาณน้ำฝน พบว่า ความผันแปรของกราฟปริมาณน้ำฝนทั้งสามเส้นคือ เส้นกราฟปีเอลนีโญ เส้นกราฟปีลานีญา และเส้นกราฟปีปกติ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ มีจุดสูงสุดอยู่ในช่วงน้ำหลากระหว่างเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายนเป็นส่วนใหญ่ เส้นกราฟปีเอลนีโญจะอยู่ต่ำกว่าเส้นกราฟปีลานีญาและเส้นกราฟปีปกติ

ผลความผันแปรของอุณหภูมิ พบว่า รูปแบบของเส้นกราฟปีเอลนีโญ เส้นกราฟปีลานีญา และเส้นกราฟปีปกติ มีรูปแบบเดียวกันมีจุดต่ำสุดในฤดูหนาวระหว่างเดือนธันวาคมถึงเดือนมกราคม

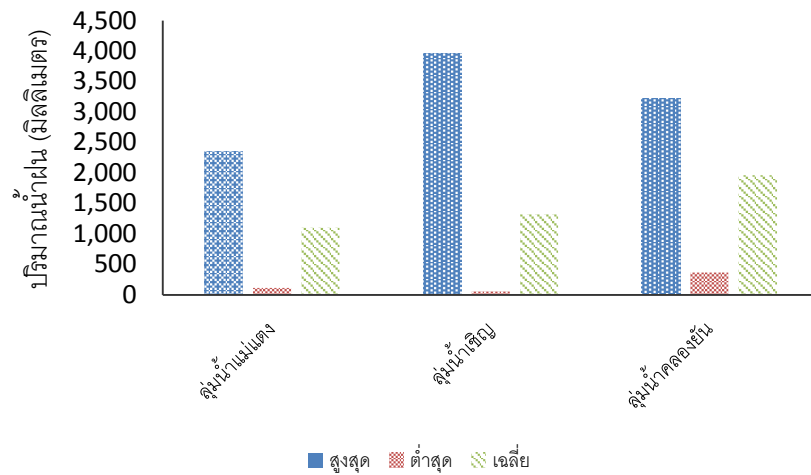
ผลความผันแปรของปริมาณน้ำท่า พบว่า เส้นกราฟปีเอลนีโญ เส้นกราฟปีลานีญา และเส้นกราฟปีปกติ มีรูปแบบตามปรากฏการณ์เอลนีโญ และปีลานีญา คือ เส้นกราฟปีเอลนีโญ จะอยู่ต่ำสุด ส่วนเส้นกราฟปีลานีญา จะอยู่สูงสุด

1.2.2 กลุ่มน้ำเขมู

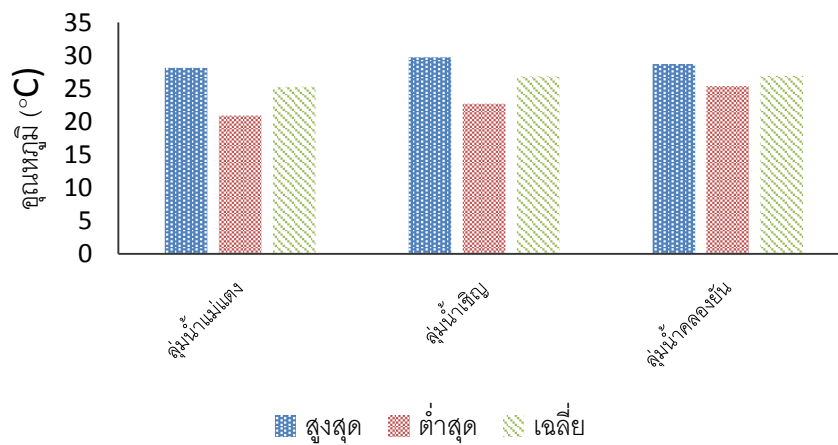
ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของปริมาณน้ำฝน พบว่า ความผันแปรของกราฟปริมาณน้ำฝนทั้งสามเส้นคือ เส้นกราฟปีเอลนีโญ เส้นกราฟปีลานีญา และเส้นกราฟปีปกติ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ มีจุดสูงสุดอยู่ในช่วงน้ำหลากระหว่างเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายน เส้นกราฟปีปกติ มีค่าสูงกว่าเส้นกราฟปีเอลนีโญและเส้นกราฟปีลานีญา

ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของอุณหภูมิพบว่า รูปแบบของเส้นกราฟปีเอลนีโญ เส้นกราฟปีลานีญา และเส้นกราฟปีปกติ มีรูปแบบเดียวกันมีจุดต่ำสุดในฤดูหนาวและจุดสูงสุดในฤดูร้อน

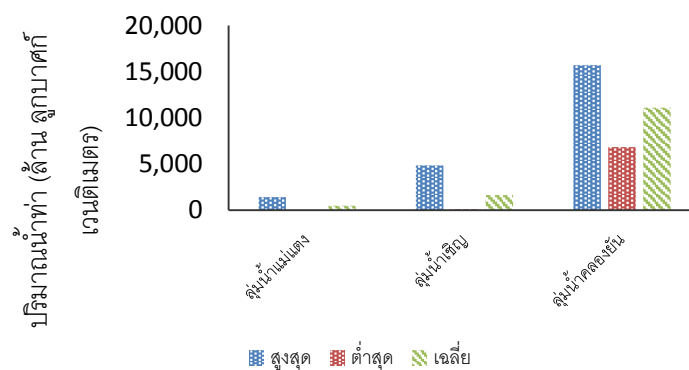
ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของปริมาณน้ำท่า พบว่า เส้นกราฟปีเอลนีโญ เส้นกราฟปีลานีญา และเส้นกราฟปีปกติ มีรูปแบบของกราฟตามปรากฏการณ์เอลนีโญ และลานีญาคือเส้นกราฟปีเอลนีโญ จะอยู่ต่ำสุด ส่วน



(ก.)



(ข.)



(ค.)

ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำฝนสูงสุด ต่ำสุด และเฉลี่ย (ภาพ ก.) อุณหภูมิน้ำฝนสูงสุด ต่ำสุด และเฉลี่ย (ภาพ ข.) ปริมาณน้ำท่าสูงสุดต่ำสุด และเฉลี่ย (ภาพ ค.) ของกลุ่มน้ำแม่แตง เจริญ และกลุ่มน้ำคลองยัน

เส้นกราฟปีลานินญา จะอยู่สูงสุดกราฟทั้งสามเส้น จะมีค่าสูงสุดในช่วงน้ำหลาก คือ เดือนกันยายนถึงตุลาคม

1.2.3 กลุ่มน้ำคลองยัน

ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของปริมาณน้ำฝน พบว่า ความผันแปรของกราฟปริมาณน้ำฝนทั้งสามเส้นคือ เส้นกราฟปีเอลนีโญ เส้นกราฟปีลานินญา และเส้นกราฟปีปกติ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือมีปริมาณฝนสูงสุดในช่วงฤดูฝนของภาคใต้ในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม โดยรูปแบบของเส้นกราฟส่วนใหญ่เป็นไปตามปรากฏการณ์เอลนีโญ และปีลานินญา คือเส้นกราฟปีลานินญา จะสูงกว่าเส้นกราฟปีเอลนี

ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของอุณหภูมิ พบว่า ความผันแปรของอุณหภูมิไปในทิศทางเดียวกันมีจุดต่ำสุด ในช่วงเดือนธันวาคมและสูงสุดในเดือนเมษายน เส้นกราฟปีลานินญา ส่วนใหญ่มีค่ามากกว่าเส้นกราฟปีเอลนีโญ

ผลการวิเคราะห์ความผันแปรของปริมาณน้ำท่า พบว่า เส้นกราฟปีเอลนีโญ เส้นกราฟปีลานินญา และเส้นกราฟปีปกติ มีรูปแบบของกราฟตามปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญา โดยรูปแบบของกราฟทั้งสามเส้นมีฐานกราฟที่กว้าง กราฟจะมีค่าต่ำในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายนเท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลุ่มน้ำคลองยันตั้งอยู่ทางภาคใต้ในเขตจังหวัดสุราษฎร์ธานีและจังหวัดระนอง โดยปกติเป็นพื้นที่ที่มีฝนตกชุกอยู่แล้วย่อมซึ่งส่งผลโดยตรงให้ปริมาณน้ำท่ามากเช่นกัน

1.3 การเปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เขียว และลุ่มน้ำคลองยัน

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่า ในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เขียว และลุ่มน้ำคลองยันในช่วงรายปี น้ำหลาก (เมษายน-ตุลาคม) และน้ำแล้ง (พฤศจิกายน-มีนาคม) ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และปีปกติกับปีลานินญา (ตารางที่ 5)

1.3.1 ลุ่มน้ำแม่แตง

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของปริมาณน้ำฝนของกลุ่มน้ำแม่แตง พบว่า ปริมาณน้ำฝนของกลุ่มน้ำแม่แตงช่วงรายปี ช่วงน้ำหลาก และช่วงน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และระหว่างปีปกติกับปีลานินญาไม่มีความแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตงตั้งอยู่ทางภาคเหนือ ซึ่งห่างจากทะเลทำให้ได้รับอิทธิพลจากปรากฏการณ์ลานินญาน้อย ทำให้การตกของฝนไม่แตกต่างไปจากแต่ละฤดูกาลในภาวะปกติ

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของอุณหภูมิในกลุ่มน้ำแม่แตง พบว่า อุณหภูมิของกลุ่มน้ำแม่แตงช่วงรายปี ช่วงน้ำหลากและช่วงน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญและระหว่างปีปกติกับปีลานินญาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของอุณหภูมิขึ้นอยู่กับ การได้รับแสงจากดวงอาทิตย์เป็นหลัก ประกอบกับกลุ่มน้ำแม่แตงตั้งอยู่บนภูเขาทางภาคเหนือมีอากาศเย็นสบายจึงทำให้อุณหภูมิในแต่ละฤดูกาลไม่มีความแตกต่างกัน

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำแม่แตง พบว่า ปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำแม่แตงช่วงรายปี ช่วงน้ำหลาก และช่วงน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และระหว่างปีปกติกับปีลานินญาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 อาจเนื่องมาจากกลุ่มน้ำแม่แตงปกคลุมด้วยป่าดิบเขาและอยู่ในชั้นคุณภาพลุ่มน้ำที่ 1A ถึง 95 เปอร์เซนต์ ทำให้ระบบการระบายน้ำสู่ลำธารเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพถูกต้องตามฤดูกาลจึงทำให้ปริมาณน้ำท่าในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตงไม่มีความแตกต่างกัน

1.3.2 ลุ่มน้ำเขียว

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของปริมาณน้ำฝนของกลุ่มน้ำแม่เขียว พบว่า ปริมาณน้ำฝนของกลุ่มน้ำเขียวช่วงรายปี ช่วงน้ำหลาก และช่วงน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และระหว่างปีปกติกับปีลานินญาไม่มีความแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากการตกของฝนขึ้นอยู่กับ การเคลื่อนตัวของของลมระดับภูมิภาคที่มีกำลังในการพัดเมฆฝนไปตกในพื้นที่ต่างๆ ประกอบกับพื้นที่ลุ่มน้ำเขียวห่างไกลจากทะเล ทำให้กำลังของลมมีความอ่อนหรือแรงแตกต่างกันไป ประกอบกับบางครั้งมีพายุดีเปรสชันพัดเข้ามาจากทะเลจีนใต้ทำให้มีฝนตกหนักในช่วงฤดูฝน

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของอุณหภูมิในกลุ่มน้ำเขียว พบว่า อุณหภูมิของกลุ่มน้ำเขียวช่วงรายปี ช่วงน้ำหลากและช่วงน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และระหว่างปีปกติกับปีลานินญาไม่มีความแตกต่างกัน การที่อุณหภูมิในกลุ่มน้ำเขียวไม่มีความแตกต่างเนื่องมาจากกลุ่มน้ำเขียวมีลักษณะภูมิอากาศแบบทุ่งหญ้าเขาวานในเขตร้อน มีการตกของฝนน้อยจึงทำให้พื้นที่ได้รับแสงจากดวงอาทิตย์ยาวนานในทุกฤดูกาลอุณหภูมิจึงไม่มีความแตกต่างกัน

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของปริมาณน้ำท่าในกลุ่มน้ำเขียว พบว่า ปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำเขียวช่วงรายปี ช่วงน้ำหลาก และช่วงน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และ

ระหว่างปีปกติกับปีลานีญาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 อาจเนื่องมาจากพื้นที่ตั้งอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความห่างไกลจากทะเลทำให้ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ที่มีฝนตกหนักอยู่เพียงแค่เดือนสิงหาคมถึงกันยายน ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อปริมาณน้ำท่า เมื่อผ่านช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้กลุ่มน้ำเข็ญก็จะได้รับอิทธิพลจากมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ซึ่งจะทำให้พื้นที่เข้าสู่ภาวะแห้งแล้ง และต่อด้วยฤดูร้อนตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงเดือนพฤษภาคมยิ่งเพิ่มความแห้งแล้งตามมามาก

1.3.3 กลุ่มน้ำคลองยัน

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของปริมาณน้ำฝนของกลุ่มน้ำคลองยัน พบว่า ปริมาณน้ำฝนของกลุ่มน้ำคลองยันระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญช่วงรายปี ช่วงน้ำหลาก และช่วงน้ำแล้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาณน้ำฝนของกลุ่มน้ำคลองยันระหว่างปีปกติกับปีลานีญาช่วงรายปี และช่วงน้ำแล้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ช่วงน้ำหลากพบว่าปริมาณน้ำฝนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p = 0.031$)

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของอุณหภูมิในกลุ่มน้ำคลองยัน พบว่าอุณหภูมิของกลุ่มน้ำคลองยันช่วงรายปี ช่วงน้ำหลาก และช่วงน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และระหว่างปีปกติกับปีลานีญาไม่มีความแตกต่างกัน

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบของปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำคลองยัน พบว่า ปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำคลองยันช่วงรายปี ช่วงน้ำหลาก และช่วงน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และระหว่างปีปกติกับปีลานีญาไม่มีความแตกต่างกัน

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพื้นที่กลุ่มน้ำคลองยันตั้งอยู่ในพื้นที่ภาคใต้ปกคลุมด้วยป่าดงดิบ ที่มีทะเลสาบทั้งสองข้างและได้รับลมมรสุมทั้งสองด้าน ทำให้การตกของฝนนั้นชุกกว่าทุกภาค ประกอบกับมีเพียง 2 ฤดู คือ ฤดูฝน กับฤดูร้อน ซึ่งส่วนใหญ่จะมีฝนสลับกับแดดเกือบตลอดทั้งปี

2. อภิปรายผล

จากผลการศึกษาความผันแปรปริมาณฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าที่พบว่า ปริมาณฝน อุณหภูมิ

ตารางที่ 5 ผลวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำแม่แตง เข็ญ และกลุ่มน้ำคลองยันจำแนกตามรายปี ช่วงน้ำหลากและช่วงแล้งน้ำ ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และระหว่างปีปกติกับปีลานีญา

ช่วงเวลา	เปรียบเทียบระหว่างชนิดปี (p-value)					
	ปีปกติ กับ ปีเอลนีโญ			ปีปกติ กับ ปีลานีญา		
	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิ	ปริมาณน้ำท่า	ปริมาณน้ำฝน	อุณหภูมิ	ปริมาณน้ำท่า
กลุ่มน้ำแม่แตง						
รายปี	0.571	0.961	0.362	0.565	0.893	1.717
ช่วงน้ำหลาก	0.438	0.735	0.262	0.533	0.947	0.559
ช่วงน้ำแล้ง	0.590	0.905	0.809	0.162	0.893	0.719
กลุ่มน้ำเข็ญ						
รายปี	0.717	0.720	0.895	0.811	0.863	0.620
ช่วงน้ำหลาก	0.728	0.655	0.903	0.760	0.872	0.531
ช่วงน้ำแล้ง	0.627	0.876	0.117	0.914	0.913	0.797
กลุ่มน้ำคลองยัน						
รายปี	0.856	0.449	0.548	0.291	0.489	0.448
ช่วงน้ำหลาก	0.848	0.539	0.565	0.031*	0.308	0.305
ช่วงน้ำแล้ง	0.603	0.657	0.925	0.405	0.840	0.875

หมายเหตุ: * นัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05

และปริมาณน้ำท่าของกลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และคลองยันส่วน ใหญ่ผันแปรไปตามปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญา พบว่า ผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาถึงปริมาณฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าที่สัมพันธ์กับปรากฏการณ์เอล นีโญและลานินญาอื่นดังเช่นการศึกษาของ Molles and Dahm (1990) ที่ทำการศึกษถึงปริมาณน้ำท่าในแม่น้ำ Gila และ Pecos ในรัฐนิวเม็กซิโกโดยการเก็บรวบรวม ข้อมูลย้อนหลัง 60 ปี พบว่าปริมาณน้ำในแม่น้ำทั้งสองที่เกิด จากการหลอมละลายของหิมะเพิ่มขึ้นเพิ่มขึ้นอย่างมี นัยสำคัญในช่วงปีเอลนีโญ และลดลงอย่างมีนัยสำคัญในช่วง ปีลานินญา ซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปรากฏการณ์เอล นีโญและลานินญามีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำท่าในรัฐ นิวเม็กซิโกและการศึกษาของ Clark, Serreze and McCabe (2001) ที่ได้ทำการศึกษาผลกระทบของ ปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญาที่มีต่อการ เปลี่ยนแปลงของฤดูกาลที่ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลง ของภูเขาหิมะในรัฐโคโลราโดและโคโลราโด โดยศึกษาถึง ระดับ สมดุลของหิมะ - น้ำใน แม่น้ำ (Snow-water equivalent: SWE) ผลการศึกษาพบว่าระดับสมดุลของ หิมะ - น้ำในแม่น้ำจะลดลงในช่วงปรากฏการณ์เอลนีโญ และเพิ่มขึ้นในช่วงปรากฏการณ์ลานินญา นอกจากนี้ยังมี การศึกษาของ Letnic, Tamayo and Dickman (2005) ที่ ได้ทำการศึกษถึงผลกระทบของลานินญาที่มีต่อการตกของ ฝนและปริมาณน้ำฝนในทะเลทรายซิมป์สัน ประเทศ ออสเตรเลีย ในช่วงปี 1999-2002 ผลการศึกษาพบว่า ความถี่ของการตกของฝนและปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์ กับปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญา และยังสอดคล้อง กับการศึกษาของ Chiew *et al.* (1998) ที่ทำการศึกษถึง ผลกระทบของปรากฏการณ์เอลนีโญ-ลานินญาที่มีต่อ ปริมาณน้ำฝน ปริมาณน้ำท่า และภัยแล้งในประเทศ ออสเตรเลีย ผลการศึกษาพบว่าปริมาณน้ำฝนและปริมาณ น้ำท่ามีความสัมพันธ์อย่างมากกับปรากฏการณ์เอลนีโญ- ลานินญา และการศึกษาของ Nicholson and Selato (2000) ที่ได้ทำการศึกษถึงผลกระทบของปรากฏการณ์ ลานินญาที่มีต่อปริมาณน้ำฝนในช่วงฤดูหนาวของทวีป แอฟริกา โดยใช้วิธี harmonic analysis method ผล การศึกษาพบว่าปรากฏการณ์ลานินญามีความสัมพันธ์อย่าง มากกับปริมาณน้ำฝนในภาคใต้ของทวีปแอฟริกาและยัง ส่งผลให้มีฝนตกยาวนานออกไปอีก 1-2 เดือนในช่วงของปี ลานินญาด้วย ซึ่งเขาค้นพบว่าเหตุการณ์เหล่านี้มี ความสัมพันธ์กับระดับอุณหภูมิของน้ำทะเลด้วย นอกจากนี้

ปีที่ 13 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2559

ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Fu *et al.* (2007) ทำการศึกษาถึงตัวแปรด้านภูมิอากาศที่มีต่อปริมาณน้ำท่าใน แม่น้ำเหลืองของประเทศจีน ผลการศึกษาพบว่าปริมาณ น้ำฝนจะมีมากขึ้นในช่วงของปีลานินญา ซึ่งจะส่งผลให้ ปริมาณ น้ำท่าเพิ่มขึ้นด้วย และจากการวิเคราะห์ ความสัมพันธ์ของตัวแปรด้านภูมิอากาศและปริมาณน้ำท่า ด้วย ArcGIS Geostatistical Analyst พบว่าปริมาณน้ำท่า มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิ

สำหรับผลการวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณ น้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าที่ พบว่าโดยส่วนใหญ่ไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นสิ่งบ่งบอก ได้ว่าปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญามีผลกระทบต่อ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในประเทศไทยใน ระดับน้อย ยกเว้นช่วงน้ำหลากที่เปรียบเทียบระหว่างปีปกติ กับปีลานินญาในกลุ่มน้ำคลองยันพบว่าปริมาณน้ำฝนมีความ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (p-value = 0.031) ซึ่งผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับ การศึกษาของ Kahya and Cagatay (2001) ที่ทำการศึกษถึงความสัมพันธ์ ของปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญาที่มีต่อปริมาณ น้ำท่าในประเทศตุรกี โดยแบ่งพื้นที่ศึกษาเป็นภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลการศึกษาพบว่าผลของ ปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญาที่มีต่อปริมาณน้ำท่า ในแต่ละพื้นที่แตกต่างกัน จากผลการศึกษาที่พบว่ามีเฉพาะ กลุ่มน้ำคลองยันพบว่าปริมาณน้ำฝนมีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญ ทางสถิติที่ระดับ 0.05 (p-value = 0.031) ในช่วงน้ำหลากที่เปรียบเทียบระหว่างปีปกติกับปีลานินญา ทั้งนี้เมื่อพิจารณาถึงลักษณะที่ตั้งของกลุ่มน้ำที่ทำการศึกษา คือกลุ่มน้ำแม่แตง กลุ่มน้ำเชียง และกลุ่มน้ำคลองยันจะเห็นได้ว่า ลักษณะทางภูมิประเทศและความใกล้-ไกลของเส้นศูนย์สูตร ของกลุ่มน้ำทั้ง 3 กลุ่มน้ำมีความแตกต่างกัน จึงส่งผลให้ได้รับ อิทธิพลต่อปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญาแตกต่างกัน ซึ่งเมื่อถึงลักษณะตั้งของกลุ่มน้ำคลองยันซึ่งตั้งอยู่ในภาคใต้ ของประเทศไทยมีลักษณะภูมิประเทศเป็นคาบสมุทรที่มี ทะเลขนาบอยู่ 2 ข้างคือ ทะเลอ่าวไทยและทะเลอันดามัน มีลักษณะภูมิอากาศแบบร้อนชื้นแถบมรสุมมีฤดูร้อนสั้น (4 เดือน) ฤดูฝนยาว (8 เดือน) และไม่มีฤดูหนาว เนื่องจากอยู่ ใกล้เส้นศูนย์สูตร ทำให้ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงใต้ และลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือจึงทำให้กลุ่มน้ำ คลองยันได้รับอิทธิพลจากปรากฏการณ์ลานินญาโดยตรง ซึ่งส่งผลกลุ่มน้ำคลองยันได้รับผลของปรากฏการณ์ลานินญา มากกว่ากลุ่มน้ำแม่แตง และกลุ่มน้ำเชียง

วารสารเกษตรพระวรุณ 11

1. สรุปผลการศึกษา

ลุ่มน้ำแม่แตง มีค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำฝน 1,100.70 มม. อุณหภูมิ 25.30 (°C) และปริมาณน้ำท่า 493.05 ล้าน ลบ.ม. ลุ่มน้ำเชียงมีค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำฝน 1,320.84 มม. อุณหภูมิ 26.81 (°C) และปริมาณน้ำท่า 1,621 ล้าน ลบ.ม. และลุ่มน้ำคลองยันมีค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำฝน 1,960.84 มม. อุณหภูมิ 26.92 (°C) และปริมาณน้ำท่า 11,106.50 ล้าน ลบ.ม.

ผลการศึกษาความผันแปรปริมาณฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าสรุปได้ว่า ปริมาณฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าของลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และคลองยันส่วนใหญ่ผันแปรไปตามปรากฏการณ์ เอลนีโญ และลานีญา ข้อแตกต่างของปริมาณฝนและปริมาณน้ำท่าในลุ่มน้ำคลองยันพบว่า ลุ่มน้ำคลองยันมีฐานของกราฟกว้างและค่าของกราฟสูง เนื่องจากพื้นที่ทางภาคใต้ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมทั้งสองด้านและความใกล้เคียงทะเลมากกว่าลุ่มน้ำแม่แตง และลุ่มน้ำเชียง จึงทำให้มีปริมาณฝนที่ตกมีมากกว่า ส่งผลให้ปริมาณน้ำท่าให้มากขึ้นด้วย

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่า ในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และลุ่มน้ำคลองยันในช่วงรายปี น้ำหลาก และน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และปีปกติกับปีลานีญา พบว่า ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่า ในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และคลองยันในช่วงรายปี น้ำหลาก และน้ำแล้ง ระหว่างปีปกติกับปีเอลนีโญ และปีปกติกับปีลานีญาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นช่วงน้ำหลากที่เปรียบเทียบระหว่างปีปกติกับปีลานีญาในลุ่มน้ำคลองยันพบว่าปริมาณน้ำฝนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (p-value = 0.031)

จากผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าที่พบว่าโดยส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นสิ่งบ่งบอกได้ว่าปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญามีผลกระทบต่อปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าในประเทศไทยในระดับน้อย

2. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการศึกษา

เนื่องจากผลการศึกษาที่พบว่าปริมาณฝน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำท่าผันแปรตามปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญา ทำให้วางแผนในการจัดการน้ำประกอบด้วยการกักเก็บน้ำ การจัดสรรน้ำสำหรับการอุปโภค และการเพาะปลูก ต้องมีความสอดคล้องกับปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญาดังนี้

2.1 ในช่วงปีที่เกิดปรากฏการณ์เอลนีโญซึ่งจำทำให้เกิดภัยแล้งเนื่องจากปริมาณน้ำฝนลดลง อุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณน้ำท่าน้อย ต้องมีการวางแผนการจัดการน้ำและการเพาะปลูกโดยให้เกษตรกรเพาะปลูกพืชที่ใช้น้ำน้อย พืชทนแล้ง และมีการสร้างแหล่งกักเก็บน้ำไว้สำหรับใช้เพื่อการอุปโภค บริโภค และการเพาะปลูกเพิ่มมากขึ้น

2.2 ในช่วงปีที่เกิดปรากฏการณ์ลานีญาซึ่งจะมีปริมาณน้ำฝนเพิ่มมากขึ้น อุณหภูมิลดลง ปริมาณน้ำท่าเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดอุทกภัยได้ ดังนั้นต้องมีการวางแผนในการจัดการน้ำโดยเฉพาะการจัดการปริมาณน้ำในเขื่อนต่างๆ ให้สามารถรองรับปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้น เพื่อเป็นการกักเก็บน้ำไว้ใช้ในช่วงที่เกิดภัยแล้ง และบรรเทาอุทกภัยที่อาจจะเกิดขึ้น

3. ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาในครั้งต่อไป

จากผลการศึกษาและข้อเท็จจริงที่พบว่าผลของปรากฏการณ์เอลนีโญและลานีญามีความแตกต่างกันตามลักษณะภูมิประเทศ และความใกล้-ไกลจากเส้นศูนย์สูตร ดังนั้นเพื่อให้ผลการศึกษาที่ได้มีความถูกต้องและแม่นยำถึงผลกระทบจากปรากฏการณ์ดังกล่าวมากยิ่งขึ้นจึงควรทำการศึกษาในพื้นที่ที่มีขนาดเล็ก หรือลักษณะใกล้เคียงกัน เพื่อให้ได้ผลการศึกษาที่นำมาใช้ประโยชน์ในการวางแผนและดำเนินงานเพิ่มมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กรมชลประทาน. 2553. สถานีวัดน้ำท่าและข้อมูลปริมาณน้ำท่า. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: กรุงเทพฯ.
- กรมทรัพยากรน้ำ. 2553. สถานีวัดน้ำท่าและข้อมูลปริมาณน้ำท่า. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม: กรุงเทพฯ.
- กรมอุตุนิยมวิทยา. 2553. สถานีอุตุนิยมวิทยา สถานีวัดปริมาณน้ำฝน ข้อมูลภูมิอากาศ ข้อมูลปริมาณน้ำฝน และ สถิติ การเกิดปรากฏการณ์เอลนีโญและลานินญา. กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร: กรุงเทพฯ.
- สำนักเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: กรุงเทพฯ.
- สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2548. โครงการศึกษาสถานการณ์สภาพของประชากรที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ป่าอนุรักษ์ (กลุ่มลุ่มน้ำแม่แตง เชียง และคลองยัน). พื้นที่พันธุ์พืช: กรุงเทพฯ
- Carlos, F.C., and Jonathan, A.P. 2004. Global warming kills trees, and people. B WORLD HEALTH ORGAN. 82(7): 481-489.
- Chiew, F.H., Piechota, T.C., Dracup, J.A., and McMahon, T.A. 1998. El Nino/Southern Oscillation and Australian rainfall, streamflow and drought: Links and potential for forecasting. J. Hydrol. 204(1): 138-149.
- Clark, M.P., Serreze, M.C., and McCabe, G.J. 2001. Historical effects of El Nino and La Nina events on the seasonal evolution of the montane snowpack in the Columbia and Colorado River Basins. Water Resour. Res. 37(3): 741-757.
- Fu, G., Charles, S.P., Viney, N.R., Chen, S., and Wu, J.Q. 2007. Impacts of climate variability on stream-flow in the Yellow River. Hydrol. Process. 21(25): 3431-3439.
- Intergovernmental Panel on Climate Change: IPCC. 2016. Human Influence on Climate Clear [online]. [Accessed January 7, 2016]. Available from: URL: http://www.ipcc.ch/news_and_events/docs/ar5/press_release_ar5_wgi_en.pdf.
- Kahya, E., and Cagatay Karabork, M. 2001. The analysis of El Nino and La Nina signals in stream flows of Turkey. Int. J. Climatol. 21(10): 1231-1250.
- Letnic, M., Tamayo, B., and Dickman, C. R. 2005. The responses of mammals to La Nina (El Nino Southern Oscillation)-associated rainfall, predation, and wildfire in central Australia. J. Mammal. 86(4): 689-703.
- Molles, M.C., & Dahm, C.N. 1990. A perspective on El Nino and La Nina: global implications for stream ecology. J. North Am. Benthological Soc. 68-76.
- Nicholson, S.E. and Selato, J.C. 2000. The influence of La Nina on African rainfall. Int. J. climatol. 20(14): 1761-1776.
- Patz, J.A., Campbell-Lendrum, D., Holloway, T., and Foley, J.A. 2005. Impact of regional climate change on human health. Nature. 438(7066): 310-317.
- Ward, P.J., Jongman, B. Kumm, M.D., Dettinger, F.C., Weiland, H.S. and Winsemius, C. 2014. Strong influence of El Nino Southern Oscillation on flood risk around the world. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 111: 15659-15664.

การเปรียบเทียบความหลากหลายของไม้ต้นและการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นระหว่างป่ายางชุม และป่าระหาร อำเภอมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์

สมชญา ศรีธรรม*

สาขาวิชาเทคโนโลยีภูมิทัศน์ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์
อ. เมืองสุรินทร์ จ. สุรินทร์ 32000

บทคัดย่อ

การเปรียบเทียบความหลากหลายของไม้ต้นและการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น เพื่อทราบถึงค่าความหลากหลายของไม้ต้น ค่าดัชนีความสำคัญระดับชนิดและระดับวงศ์ค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ ค่าร้อยละความคล้ายคลึงระหว่างสังคม และการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นของไม้ต้นระหว่างป่ายางชุมและป่าระหาร ผลการศึกษาพบว่าป่ายางชุมมีไม้ต้น 434 ต้น 39 ชนิด 21 วงศ์ ค่าความสำคัญของชนิดพันธุ์ 5 อันดับแรก คือ กล้วยน้อย กระบาก กราย พอก และ พะยอม มีค่าความสำคัญ 49.30, 38.73, 32.37, 28.21 และ 21.62 ตามลำดับ และมีค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ (H') เท่ากับ 2.78 แปลงตัวอย่างป่าระหารมีไม้ต้น 536 ต้น 41 ชนิด 24 วงศ์ ค่าความสำคัญของชนิดพันธุ์ 5 อันดับแรกคือ ยางเหียง ลำดวน พะยอม เต็ง และ พอก มีค่าความสำคัญ 43.02, 39.03, 35.42, 30.46 และ 23.37 ตามลำดับ และมีค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ (H') เท่ากับ 2.87 ทั้งป่ายางชุมและป่าระหารมีกลุ่มวงศ์ที่มีค่าดัชนีความสำคัญ 3 อันดับแรกเหมือนกันคือวงศ์ Dipterocarpaceae Annonaceae และ Fabaceae และมีค่าดัชนีความคล้ายคลึงระหว่างสังคมอยู่ที่ 36.16% จากจำนวนชนิดที่เหมือนกัน 24 ชนิดจากจำนวนรวม 56 ชนิด ซึ่งไม้ต้นทุกชนิดมีการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น โดยใช้ประโยชน์ด้านสมุนไพรมากที่สุด รองลงมาคือ ด้านอาหาร การก่อสร้างที่อยู่อาศัย เครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตร เครื่องมือเครื่องใช้ในบ้าน ย้อมสี เชื้อเพลิงอื่นๆ และไม่ประดับ ตามลำดับโดยทั้ง 2 ป่ายังเอื้อประโยชน์ต่อพื้นที่การเกษตรของชุมชนโดยรอบ ช่วยดูดซับน้ำฝนที่ตกตามธรรมชาติไว้ทำให้บริเวณพื้นที่เกษตรโดยรอบและดินในบริเวณนั้นมีความชุ่มชื้น และมีแหล่งน้ำในป่าที่ชุมชนนำมาใช้ได้ตลอดปีส่งผลดีต่อพื้นที่การเกษตรของชุมชน

คำสำคัญ: ความหลากหลายของชนิดพันธุ์, ดัชนีความสำคัญ และ สมุนไพร

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: somchaya777@gmail.com

Comparison of Trees Diversity and Local Utilization among Yang Choom Forest and Rahan Forest, Mueang Surin District, Surin Province

Somchaya Sritram^{*}

*Department of Landscape Technology, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of
Technology Isan Surin Campus, Surin 32000, Thailand*

Abstract

The comparison of trees diversity and local utilization, this study to know of trees diversity, important value index of species and family, species diversity, percentage of similarity and local utilization of trees among Yang choom forest and Rahan forest. The results showed that, Yang choom forest had 434 plants which were identified into 39 species and 21 families. The 5 first Important value index of tree species are Kluai noi, Krabak, Krai, Phok and Pha with IVI equal 49.30, 38.73, 32.37, 28.21 and 21.62 respectively and diversity index were 2.78. Rahan forest had 536 plants which were identified into 41 species and 24 families. The 5 first important value index of tree species are Yang hiang, Lam duan, Pha yom, Teng and Phok with IVI equal 43.02, 39.03, 35.42, 30.46 and 23.37 respectively and diversity index were 2.87. The both forest are similar of the first 3 dominant families based on the important value index were Dipterocarpaceae, Annonaceae and Fabaceae and the community similarity index were 36.16% with 24 species of the same kind of the total 56 species. All species are used for local utilization; the highest of local utilization are herbs followed by foods, build a house, residential building, agricultural tools, home appliances, dyeing plants, fuels, other and ornamental plants respectively. These two forest also contribute to the farmland of the surrounding community, absorbs rain water as nature intended, the surrounding agricultural areas and soil in the area is humidity and there is a water source in the forest community are available throughout the year, positive impact on the community's agricultural areas.

Keywords: Species diversity, Importance value index and Herb

^{*} Corresponding author: E-mail: somchaya777@gmail.com

ป่าชุมชน (community forest) เป็นทรัพยากรที่สำคัญอย่างยิ่ง เป็นแหล่งปัจจัย 4 ต่อการดำรงชีพของชุมชน ป่าชุมชนมีกลไกที่สำคัญที่เป็นช่องทางให้ชุมชนเข้ามามีส่วนร่วมในการอนุรักษ์ จัดการ ฟื้นฟูให้ป่ามีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้น และมีการใช้ทรัพยากรและผลผลิตจากป่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อความมั่นคงแห่งชีวิตของคนในชุมชน ดังนั้นเมื่อคนในชุมชนมีความเป็นอยู่ดีขึ้นจึงไม่ต้องอพยพย้ายถิ่นฐาน และที่สำคัญยิ่งคือเพิ่มความสามารถให้กับมนุษยชาติ ได้เรียนรู้การอยู่อย่างสมดุลกับธรรมชาติและดำรงชีพอยู่ได้อย่างมีความสุข (Soontornwong, 2014) ในปัจจุบันป่าชุมชนมีพื้นที่ลดลง จากการบุกรุกพื้นที่ป่าให้เป็นพื้นที่การเกษตรและที่อยู่อาศัย ป่ายางชุมและป่าระหารทั้ง 2 ป่าเคยเป็นป่าชุมชนที่มีความสำคัญและมีทรัพยากรที่สมบูรณ์แต่ถูกรุกไล่แผ้วถางจากชุมชน ทำให้ระบบนิเวศทั้งในป่าและพื้นที่การเกษตรโดยรอบเกิดความเสียหายส่งผลไปถึงดินและแหล่งน้ำใกล้เคียง ทำให้ความอุดมสมบูรณ์ของดินลดลงส่งผลเสียต่อการเกษตรของชุมชน

ป่ายางชุม (Fig. 1) ตั้งอยู่ที่บ้านจะแกโกน หมู่ 5 ตำบลท่าส่ว อำเภอมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ มีพื้นที่ 150 ไร่ เป็นป่าเต็งรังและป่าผสมผลัดใบ เดิมเป็นป่าที่ผ่านการแผ้วถางตัดไม้ทำลายป่าและเข้าไปใช้ประโยชน์ในป่าอย่างไม่ถูกวิธี ทำให้ป่าเสื่อมโทรมอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันชุมชนได้ตระหนักถึงความสำคัญของป่าจึงจัดตั้งกลุ่มอนุรักษ์เพื่อดูแลรักษาป่ายางชุมให้คงอยู่ ป่ายางชุมจึงเป็นป่าที่มีความสมบูรณ์และมีความหลากหลายของพันธุ์ไม้และสร้างประโยชน์ให้แก่ชุมชนมากขึ้น



Fig. 1 Yang Choom forest

ป่าระหาร (Fig. 2) ตั้งอยู่ที่บ้านระหาร หมู่ 6 ตำบลเทนมีย์ อำเภอมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ มีพื้นที่ 463 ไร่เป็นป่าเต็งรังและป่าผสมผลัดใบ พบว่ามีกลุ่มคนจากชุมชนตำบลเทนมีย์ และตำบลนอกเมือง เข้ามาใช้ประโยชน์ในการหาของป่า ตัดไม้เพื่อไปทำเป็นเชื้อเพลิงและสิ่งก่อสร้าง ภาครัฐและผู้นำชุมชนจึงมีนโยบายป้องกันรักษาป่าโดยการขุดหนองน้ำขนาดใหญ่เพื่อใช้ประโยชน์ทางการเกษตรและการอุปโภคบริโภค รวมทั้งการขุดคูน้ำรอบป่าบางส่วนเพื่อสร้างความชุ่มชื้นให้ผืนป่าและป้องกันการบุกรุกจากชุมชน



Fig. 2 Rahan forest

ป่ายางชุมและป่าระหารเป็นป่าที่อยู่ใกล้ชุมชน การเข้าถึงสะดวก โดยป่ายางชุมมีเส้นทางเข้าออกป่าได้โดยรอบและมีคลองชลประทานติดกับป่า ส่วนป่าระหารมีพื้นที่ขนาดใหญ่กว่าป่ายางชุมมีเส้นทางเข้าออกป่าและตัดผ่านป่า มีสระน้ำขนาดใหญ่กลางป่า และมีคูน้ำล้อมป่าบางส่วนไว้ ซึ่งผู้นำท้องถิ่นและชุมชนทั้ง 2 ป่า ตระหนักถึงความสำคัญและให้ความร่วมมือในการอนุรักษ์ป่าเป็นอย่างดีจากการลงพื้นที่ป่าและสอบถามชุมชนเบื้องต้น พบว่ายังไม่มี การสำรวจและจัดทำฐานข้อมูลทรัพยากรของทั้ง 2 ป่า ทั้งเรื่องของพันธุ์ไม้และการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น ชุมชนสามารถนำทรัพยากรจากป่ามาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย มีองค์ความรู้ด้านภูมิปัญญาท้องถิ่นจำนวนมาก เช่น การนำมาทำเป็นยาสมุนไพร อาหาร ย้อมสี เครื่องใช้ต่างๆ แต่

ชุมชนส่วนใหญ่ถ่ายทอดภูมิปัญญาและชื่อพันธุ์ไม้เป็นภาษาเขมรสุรินทร์ ทำให้ยากต่อการบันทึกและหาข้อมูลชนิดพันธุ์ไม้ในภาษาไทย ดังนั้นผู้วิจัยสามารถสื่อสารภาษาเขมรสุรินทร์ได้เห็นความสำคัญของภูมิปัญญาท้องถิ่น รวมทั้งชื่อชนิดพันธุ์ไม้เขมรสุรินทร์ที่นำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย มาจัดทำเป็นข้อมูลและรวบรวมเป็นองค์ความรู้ไว้เพื่อประโยชน์ต่อการศึกษาต่อไป ทั้งนี้จะศึกษาในส่วนของไม้ต้นก่อน ซึ่งเป็นไม้ที่มีความหนาแน่นและหลากหลายกว่าไม้ประเภทอื่น ดังวัตถุประสงค์ต่อไปนี้ 1) ศึกษาความหลากหลายชนิดของไม้ต้นในป่ายางชุม และป่าระหาร และ 2) เพื่อเปรียบเทียบความหลากหลายชนิดและความคล้ายคลึงของไม้ต้นระหว่างป่ายางชุมและป่าระหาร และ 3) ศึกษาการใช้ประโยชน์ไม้ต้นในท้องถิ่น โดยการศึกษาภูมิปัญญาท้องถิ่นและชุมชนในตำบล ทั้งนี้เพื่อให้ทราบถึงชนิดและจำนวนของพันธุ์ไม้ ความถี่ ความหนาแน่น ความเด่นและค่าดัชนีความสำคัญ รวมถึงการนำไม้ต้นไปใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นนั้นๆ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การวางแผนตัวอย่างและการเก็บข้อมูล

ทำการจัดวางแผนโดยการอนุมาณเลือกในพื้นที่คัดเลือกพื้นที่ศึกษาและวางแผนตัวอย่างในป่ายางชุม และป่าระหาร ป่าละ 1 แปลง โดยกำหนดแปลงตัวอย่าง 1,600 ตารางเมตร ขนาด 40x40 เมตร แบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 5x5 เมตร จำนวน 64 แปลงทำการบันทึกชนิดพันธุ์ไม้ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพียงอก (diameter at breast height) หรือ 130 เซนติเมตร ตั้งแต่ 4.50 เซนติเมตรขึ้นไป ติดแผ่นป้ายเขียนรหัสพันธุ์ไม้ นับจำนวน และเก็บข้อมูลการใช้ประโยชน์ของพันธุ์ไม้แต่ละชนิด

2. การศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล

2.1 การวิเคราะห์ห้ำงคัมพืช โดยประเมินค่าดัชนีความสำคัญของชนิดพันธุ์ (importance value index, IVI) ประกอบด้วย ความหนาแน่น (density; D) ความถี่ (frequency; F) ความเด่น (dominance; Do) ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (relative density; RD) ความถี่สัมพัทธ์ (relative frequency; RF) ความเด่นสัมพัทธ์ (relative dominance; RDo) (Kiritiprayun, 2013)

2.2 ค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ (species diversity) ของ Shannon-Weaver Index : H' มีสูตรการคำนวณดังนี้

$$H' = \frac{1}{\sum_{i=1}^S (P_i) (\ln P_i)}$$

โดย H' = ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์

P_i = สัดส่วนระหว่างจำนวนต้นไม้ชนิด i ต่อจำนวนต้นไม้ทั้งหมด

S = จำนวนชนิดพันธุ์ไม้ทั้งหมด

$\ln$ = ลอการิทึมธรรมชาติ

2.3 ค่าความสม่ำเสมอของชนิดพันธุ์ (evenness index : E) มีสูตรการคำนวณดังนี้

$$E = \frac{H'}{\ln(S)}$$

โดย H' = Shannon- Weaver Index

S = จำนวนชนิดพันธุ์ไม้ทั้งหมด

2.4 ค่าร้อยละของความเหมือน/ความแตกต่าง (percentage of similarity/dissimilarity) โดยมีสูตรในการคำนวณดังนี้ (Kiritiprayun, 2013)

1) ร้อยละของความเหมือน/ความคล้ายคลึงระหว่างหน่วยตัวอย่าง IS

$$\text{percentage of similarity}_{A-B} (PS: \%) = \frac{2W}{A+B} \times 100$$

เมื่อ W = ผลรวมของค่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างหน่วยตัวอย่าง A และ B ของทุกๆตัวแปร

A = ผลรวมของค่าต่างๆของหน่วยตัวอย่าง A

B = ผลรวมของค่าต่างๆของหน่วยตัวอย่าง B

2) ค่าความแตกต่าง percentage of dissimilarity ($PD: \%$) = $100-PS$

3. การศึกษาการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น

ศึกษาการนำไม้ต้นไปใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น โดยการลงพื้นที่สำรวจพันธุ์ไม้ร่วมกับชุมชนและสัมภาษณ์การใช้ประโยชน์ของไม้ต้นในป่ายางชุมจากชุมชนตำบลท่าสว่าง ไม้ต้นป่าระหารจากชุมชนตำบลเทนมียะและตำบลนอกเมืองอำเภอเมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ จำแนกการใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นได้ 9 ประเภท คือ 1) สมุนไพร 2) อาหาร 3) ก่อสร้างบ้านพักอาศัย 4) ไม้ย้อมสี 5) เครื่องมือเครื่องใช้ในบ้าน 6) เครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตร 7) เชื้อเพลิง 8) ไม้ประดับ และ 9) ด้านอื่นๆ และหาค่าร้อยละของการนำไปใช้

ประโยชน์ในท้องถิ่นประเภทต่างๆ รวมทั้งประโยชน์ของผืนป่าที่ส่งผลต่อพื้นที่การเกษตรโดยรอบ

ผลการวิจัย

ผลการสำรวจแปลงศึกษาป่ายางชุม พบไม้ต้น 434 ต้น มี 39 ชนิด 21 วงศ์ ดังนั้น วงศ์ที่มีความหลากหลายชนิดที่สุดคือ พืชวงศ์ Fabaceae จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ นางดำ ประดู่ป่า พะยูง พันซาด มะค่าแต้ และอะราง รองลงมาคือ วงศ์ยาง Dipterocarpaceae จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กระบาก พะยอม ยางกราด ยางเหียง และรัง วงศ์ Clusiaceae จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ชะมวง ตัวเกลี้ยง ตัวแดงและมังคุดป่า วงศ์ Annonaceae จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ กลัวย่น้อย กราย และลำตวน และวงศ์ที่มีจำนวน 2 ชนิด มี 4 วงศ์ คือ วงศ์ Anacardiaceae ได้แก่ รักขี้หนู และรักใหญ่ วงศ์ Euphobiaceae ได้แก่ ขันทองพยาบาท และคำมอกน้อย วงศ์ Myrtaceae ได้แก่ หว้าขี้นก และเสม็ด และวงศ์ Sapindaceae ได้แก่ คอแลน และมะหาดส่วนชนิดของไม้ต้นที่มีจำนวนมากที่สุด 10 อันดับแรก คือ กลัวย่น้อย จำนวน 84 ต้น รองลงมาคือ กราย 66 ต้น พอก 42 ต้น กระบาก 32 ต้น มะค่าแต้ 30 ต้น พะยอม 27 ต้น ยางกราด 26 ต้น ยางเหียงและหว้าขี้นก 17 ต้น และมังคุดป่า 13 ต้น

ผลการสำรวจแปลงศึกษาป่าระหาร พบไม้ต้น 536 ต้น มี 41 ชนิด 24 วงศ์ ดังนั้น วงศ์ที่มีความหลากหลายชนิดที่สุดคือพืชวงศ์ถั่ว Fabaceae จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ คาง ฌนวน ชงโค นางดำ ประดู่ป่า พะยูง และมะค่าแต้ รองลงมาคือวงศ์ Dipterocarpaceae จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เต็ง พะยอม ยางกราด ยางเหียงและรัง วงศ์ Annonaceae จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ กลัวย่น้อย กราย และลำตวน และวงศ์ Clusiaceae จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ตัวเกลี้ยง ตัวแดง และมังคุดป่า และวงศ์ที่มี 2 จำนวนชนิด มี 3 วงศ์ คือวงศ์ Rubiaceae ได้แก่ กระทุ่ม และคำมอกน้อย วงศ์ Anacardiaceae ได้แก่ มะม่วงป่าและรักใหญ่และ วงศ์ Celastraceae ได้แก่ กำแพงเจ็ดชั้น และมะหากาหนัง ตามลำดับ ส่วนชนิดของไม้ต้นที่มีจำนวนมากที่สุด 10 อันดับแรก คือ ลำตวน จำนวน 106 ต้น รองลงมาคือ ยางเหียง 56 ต้น พะยอม 53 ต้น พอก 46 ต้น เต็ง 45 ต้น มะกอกเลื่อม 34 ต้น เหมือดโลด 33 ต้น ตัวแดง และพะยูง 17 ต้น และมะหาด 14 ต้น ตามลำดับ

1. การวิเคราะห์ความหนาแน่นและความหนาแน่นสัมพัทธ์

ป่ายางชุมมีความหนาแน่นและความหนาแน่นสัมพัทธ์ 10 อันดับแรก คือ กลัวย่น้อย มีความหนาแน่นและความหนาแน่นสัมพัทธ์มากที่สุดเท่ากับ 0.0525 ต้น/ตร.ม., 19.35 ตามลำดับรองลงมาคือ กราย 0.0413 ต้น/ตร.ม., 15.20 พอก 0.0263 ต้น/ตร.ม., 9.68 กระบาก 0.0200 ต้น/ตร.ม., 7.37 มะค่าแต้ 0.0188 ต้น/ตร.ม., 6.91 พะยอม 0.0169 ต้น/ตร.ม., 6.22 ยางกราด 0.0163 ต้น/ตร.ม., 5.99 ยางเหียง และหว้าขี้นก 0.0106 ต้น/ตร.ม., 3.92 และมังคุดป่า 0.0081 ต้น/ตร.ม., 2.99 ตามลำดับ

ป่าระหารมีความหนาแน่นและความหนาแน่นสัมพัทธ์ของไม้ต้น 10 อันดับแรกคือ ลำตวน มีความหนาแน่นและความหนาแน่นสัมพัทธ์มากที่สุด เท่ากับ 0.0663 ต้น/ตร.ม., 19.78 ตามลำดับรองลงมาคือ ยางเหียง 0.0350 ต้น/ตร.ม., 10.45 พะยอม 0.0331 ต้น/ตร.ม., 9.89 พอก 0.0288 ต้น/ตร.ม., 8.58 เต็ง 0.0281 ต้น/ตร.ม., 8.40 มะกอกเลื่อม 0.0213 ต้น/ตร.ม., 6.34 เหมือดโลด 0.0206 ต้น/ตร.ม., 6.16 ตัวแดง 0.0106 ต้น/ตร.ม., 3.17 พะยูง 0.0106 ต้น/ตร.ม., 3.17 และมะหาด 0.0088 ต้น/ตร.ม., 2.61 ตามลำดับ

2. การวิเคราะห์ความถี่และความถี่สัมพัทธ์

ป่ายางชุมมีความถี่และความถี่สัมพัทธ์ของไม้ต้น 10 อันดับแรก คือ กลัวย่น้อย มีค่าความถี่และค่าความถี่สัมพัทธ์ 78.13, 17.86 ตามลำดับ รองลงมาคือ พอก 46.88, 10.71 กราย 45.31, 10.36 มะค่าแต้ 34.38, 7.86 กระบาก 31.25, 7.14 ยางกราด 29.69, 6.79 พะยอม 23.44, 5.36 ยางเหียง 21.88, 5.00 หว้าขี้นก 14.06, 3.21 และมังคุดป่า 9.38, 2.14 ตามลำดับ

ป่าระหารมีความถี่และความถี่สัมพัทธ์ของไม้ต้น 10 อันดับแรก คือ ลำตวน มีค่าความถี่และความถี่สัมพัทธ์ 65.63, 11.80 ตามลำดับ รองลงมาคือ ยางเหียง 59.38, 10.67 พะยอม และเหมือดโลด 48.44, 8.71 พอกและเต็ง 42.19, 7.58 มะกอกเลื่อม 35.94, 6.46 พะยูง 26.56, 4.78 ตัวแดง 18.75, 3.37 มะหาด มะหากาหนังและกระบก 15.63, 2.81 ตามลำดับ

3. การวิเคราะห์ความเด่น และความเด่นสัมพัทธ์

ป่ายางชุมมีความเด่น (ตร.ชม./ตร.ม.) และความเด่นสัมพัทธ์ของไม้ต้น 10 อันดับแรกคือ กระบาก มีค่าความเด่นและความเด่นสัมพัทธ์ 7.01, 24.22 ตามลำดับ รองลงมา

คือ กล้วยน้อย 3.50, 12.09 ยางกราด 3.07, 10.62 พะยอม 2.91, 10.05 ยางกราด 2.28, 7.87 พอก 2.26, 7.82 กราย 1.97, 6.81 มะค่าแต้ 1.36, 4.70 หว้าซึ้ง 0.52, 1.81 และ พะอู 0.43, 1.48 ตามลำดับ

ป่าระหามีความเด่นและความเด่นสัมพัทธ์ของไม้ต้น 10 อันดับแรก คือ ยางเหียง ที่มีพื้นที่หน้าตัด ตร.ซม./ตร.ม. โดยมีค่าความเด่นและความเด่นสัมพัทธ์ 6.37, 21.89 ตามลำดับ รองลงมาคือ พะยอม 4.90, 16.82 เติ้ง 4.14, 14.26 ลำดวน 2.17, 7.46 พอก 2.10, 7.20 มะกอกเลื้อม 1.82, 6.24 พะยูง 1.59, 5.47 กล้วยน้อย 1.08, 3.72 เหมือดโลด 0.73, 2.52 และมะหาด 0.40, 1.39 ตามลำดับ

4. การวิเคราะห์ค่าดัชนีความสำคัญ

จากตารางที่ 1 ป่ายางชุมมีค่าดัชนีความสำคัญ 10 อันดับแรก คือ กล้วยน้อย มีค่าความสำคัญ 49.30 รองลงมาคือ กระบาก 38.73 กราย 32.37 พอก 28.21 พะยอม 21.62 ยางกราด 20.64 ยางเหียง 19.53 มะค่าแต้ 19.47 หว้าซึ้ง 8.94 และมังคุดป่า 5.85 ตามลำดับ ส่วนไม้ต้นที่มีค่าดัชนีความสำคัญน้อยที่สุดคือ เสม็ด มีค่าความสำคัญ 0.63

ป่าระหามีค่าความสำคัญ 10 อันดับแรก คือ ยางเหียง มีค่าความสำคัญ 43.02 รองลงมาคือ ลำดวน 39.03 พะยอม 35.42 เติ้ง 30.46 พอก 23.37 มะกอกเลื้อม 19.05 เหมือดโลด 17.38 พะยูง 13.41 ตัวแดง 7.46 และกล้วยน้อย 7.36 ตามลำดับ ไม้ต้นที่มีค่าดัชนีความสำคัญน้อยที่สุดคือ ช้างน้าว มีค่าความสำคัญ 0.51

Table 1 Relative density (RD), Relative frequency (RF), Relative dominance (RDo) and important value index (IVI) of the 10 first priorities of tree species in Yang Choom and Rahan forest

No	Plant species	RD	RF	RDo	IVI
Yang Choom Forest					
1	Kluai noi (<i>Xylopia vielana</i> Pierre)	19.35	17.86	12.04	49.30
2	Krabak (<i>Anisoptera costata</i> Korth.)	7.37	7.14	24.22	38.73
3	Krai (<i>Xylopia malayana</i> Hook. f. & Thomson)	15.20	10.36	6.81	32.37
4	Phok (<i>Parinari anamensis</i> Hance)	9.68	10.71	7.82	28.21
5	Pha yom (<i>Shorea roxburghii</i> G. Don)	6.22	5.3	10.05	21.62
6	Yang krat (<i>Dipterocarpus intricatus</i> Dyer)	5.99	6.79	7.87	20.64
7	Yang hiang (<i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teijsm. ex Miq.)	3.92	5.00	10.62	19.53
8	Ma kha tae (<i>Sindora siamensis</i> Teijsm. ex Miq. var. <i>siamensis</i>)	6.91	7.86	4.70	19.47
9	Wa khi nok (<i>Syzygium ripicola</i> (Craib) Merr. & L. M. Perry)	3.92	3.21	1.81	8.94
10	Mang chut pa (<i>Garcinia costata</i> Hemsl. ex King)	2.99	2.14	0.72	8.85
Rahan Forest					
1	Yang hiang (<i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teijsm. ex Miq.)	10.45	10.67	21.89	43.02
2	Lam duan (<i>Melodorum fruticosum</i> Lour.)	19.78	11.80	7.46	39.03
3	Pha yom (<i>Shorea roxburghii</i> G. Don)	9.89	8.71	16.82	35.42
4	Teng (<i>Shorea obtusa</i> Wall. ex Blume)	8.40	7.58	14.21	30.19
5	Phok (<i>Parinari anamensis</i> Hance)	8.58	7.58	7.20	23.37
6	Ma kok lueam (<i>Canarium subulatum</i> Guillaumin)	6.34	6.46	6.24	19.05
7	Muead lot (<i>Aporosa villosa</i> (Wall. ex Lindl.) Baill.)	6.16	8.71	2.52	17.38
8	Pha yung (<i>Dalbergia cochinchinensis</i> Pierre)	3.17	4.78	5.47	13.41
9	Tio dang (<i>Cratogeomys formosum</i> (Jacq.) Benth. & Hook. f. ex Dyer subsp. <i>pruniflorum</i> (Kurz) Goegelein)	3.17	3.37	0.92	7.46
10	Kluai noi (<i>Xylopia vielana</i> Pierre)	1.68	1.97	3.72	7.36

Remark: Scientific name (Smitinand, 2014)

5. มีค่าดัชนีความสำคัญระดับวงศ์ 5 อันดับแรก

จากภาพที่ 3 ค่าดัชนีความสำคัญ (IVI) ระดับวงศ์ 5 อันดับแรกของป่ายางชุมพบว่า กลุ่มไม้ต้นวงศ์ Dipterocarpaceae มีค่าดัชนีความสำคัญมากที่สุดเท่ากับ 102.90 รองลงมาคือกลุ่มไม้ต้นวงศ์ Annonaceae Fabaceae Chrysobalanaceae และ Clusiaceae มีค่าดัชนีความสำคัญเท่ากับ 86.91, 33.25, 28.21 และ 11.50 ตามลำดับ และป่าระหารพบว่ากลุ่มไม้ต้นวงศ์ Dipterocarpaceae มีค่าดัชนีความสำคัญมากที่สุดเท่ากับ 110.15 รองลงมาคือกลุ่มไม้ต้นวงศ์ Annonaceae Fabaceae Burseraceae และ Phyllanthaceae มีค่าดัชนีความสำคัญเท่ากับ 48.99, 19.86, 19.05 และ 17.38 ตามลำดับ

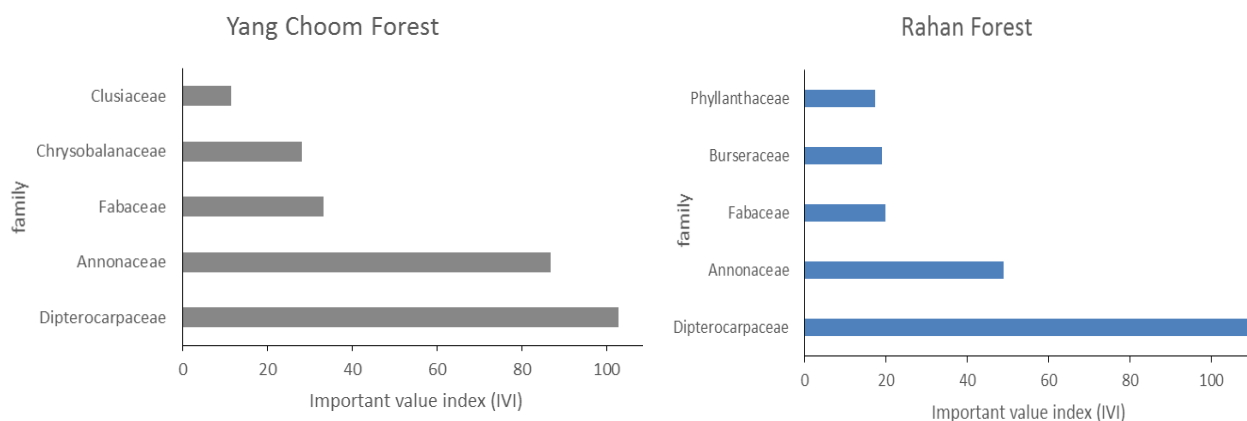


Fig. 3 Important value index (IVI) of the 5 first priorities of tree family in the study area

Table 2 Shannon and Weaver index (H'), Evenness index (E) in Yang Choom and Rahan forest

List	Yang Choom Forest	Rahan Forest
Species richness	39	41
Total abundance	434	536
Shannon and Weaver index (H')	2.78	2.87
Evenness index (E)	0.76	0.78

7. ค่าดัชนีความคล้ายคลึงระหว่างสังคม

เปรียบเทียบดัชนีความคล้ายคลึงระหว่างสังคม (index of similarity) ระหว่างป่ายางชุมและป่าระหาร อำเภอมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ พบว่ามีค่าดัชนี 36.16% มีจำนวนชนิดที่เหมือนกัน 24 ชนิดจากจำนวนรวม 56 ชนิด และมีความแตกต่าง (dissimilarity) 63.84 %

ปีที่ 13 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2559

8. การนำไปใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น

จากตารางที่ 3 และภาพที่ 4 จากการสัมภาษณ์ ชุมชนเรื่องการใช้อยู่อาศัยจากไม้ต้น พบว่าไม้ต้นทุกชนิด สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นได้ตามภูมิปัญญา โดย จำแนกได้ 9 ประเภท ดังนี้ 1) สมุนไพร เช่น แก้วโรคผัด ลำแดง แก้วชัย เป็นใช้ต่างๆ ยาช่วยให้คลอดบุตรง่าย ยา

วารสารเกษตรพระวรุณ 20

หลังคลอดบุตรเป็นส่วนผสมยาอายุไฟ ยาระบาย ยาแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ เป็นต้น 2) อาหาร เช่น รับประทานผลดิบและสุก ใช้เป็นผักหรือเครื่องเคียง 3) ก่อสร้างที่อยู่อาศัย เช่น ทำเสาบ่าน ผ้า เพดาน ประตู และหน้าต่าง 4) ไม้ย้อมสี เช่น ย้อมผ้า ย้อมไหม ย้อมเครื่องใช้ 5) เครื่องมือเครื่องใช้ในบ้าน เช่น ไม้กวาด ไม้ขัดหลังคา ไม้ถูชีโคล ตกแต่งบ้าน เฟอร์นิเจอร์ประดับบ้านต่างๆ 6) เครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตร เช่น สร้างคอกสัตว์ ทำด้ามจอบ ด้ามเสียม ทำไม้เทียมเกวียน ด้ามคันไถ ไม้ขนาดข้าว เป็นไม้ค้ำปลูกผักเครือ 7) เชื้อเพลิง เช่น ฟืน เผ่าถ่าน หรือซีไต้ 8) ไม้ประดับ ปลูกประดับที่อยู่อาศัย และ 9) ด้านอื่นๆ เช่น เครื่องเล่นเด็ก วัวเครื่องดนตรี กี๋ทอผ้า กระสวยทอผ้า ไบห่ออาหารและทำหมวก และยางเหนียว

โดยไม้ต้นปายางชุมถูกนำไปใช้ประโยชน์มากที่สุดในด้านสมุนไพร จำนวน 26 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 66.67 รองลงมาคือใช้ประโยชน์ด้านอาหารและการก่อสร้างที่อยู่อาศัย ประเภทละ 21 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 53.85 ใช้ประโยชน์ด้านเครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตรจำนวน 12 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 30.77 ใช้ประโยชน์ด้านเครื่องมือเครื่องใช้ในบ้านจำนวน 11 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 28.21 ใช้ประโยชน์ด้านเชื้อเพลิงและด้านอื่นๆ จำนวน 8 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 20.51 ใช้ประโยชน์ด้านไม้ย้อมสี จำนวน 7 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 17.95 และใช้ประโยชน์ด้านไม้ประดับ 6 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 15.38 ตามลำดับ

ส่วนไม้ต้นปาระหารถูกนำไปใช้ประโยชน์ด้านพืชสมุนไพร จำนวน 31 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 75.60 รองลงมาใช้ประโยชน์ด้านการก่อสร้างที่อยู่อาศัย จำนวน 19 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 46.34 ใช้ประโยชน์ด้านอาหาร จำนวน 18 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 43.90 ใช้ประโยชน์ด้านเครื่องมือเครื่องใช้ในบ้าน และใช้ประโยชน์ด้านเครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตร ประเภทละ 14 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 34.15 ใช้ประโยชน์ด้านไม้ย้อมสี จำนวน 13 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 31.70 ใช้ประโยชน์ด้านเชื้อเพลิง จำนวน 10 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 24.39 ใช้ประโยชน์ด้านอื่น จำนวน 10 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 24.39 และใช้เป็นไม้ประดับ จำนวน 8 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 19.51 ตามลำดับ

9. ประโยชน์ของป่าที่เอื้อต่ออาชีพการเกษตรของชุมชน

พบว่าไม้ต้นในป่าทั้ง 2 ป่า ชุมชนนำมาใช้ประโยชน์ด้านเครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตร เช่น การนำต้น กิ่ง ก้านไม้ มาทำเป็นด้ามจอบ ด้ามเสียม ด้ามคันไถ ไม้ขนาดข้าว คอกสัตว์ และนำมาทำเป็นไม้ค้ำปลูกผัก เช่น แตงกวา ถั่วฝักยาว บวบ ฟัก ฟักทอง ฟักข้าว และถั่วพู เป็นต้น ซึ่งเป็นผักพื้นบ้านที่ปลูกเพื่อรับประทานและสร้างรายได้ในครัวเรือน โดยไม้ต้นปายางชุมนำมาใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร ร้อยละ 30.77 และปาระหาร ร้อยละ 34.15 ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น

พื้นที่ป่าที่เอื้อประโยชน์ต่อพื้นที่การเกษตรของชุมชนโดยรอบ พบว่าปาระหารมีการเอื้อประโยชน์ต่อพื้นที่การเกษตรชุมชนมากกว่าปายางชุม เนื่องจากมีพื้นที่ขนาดใหญ่กว่า มีระบบนิเวศที่สมบูรณ์กว่า จำนวนต้นต่อแปลงและความหลากหลายชนิดมีมากกว่าปายางชุม รวมทั้งมีพื้นที่สำหรับอนุรักษ์พรรณไม้ป่าด้วย อีกทั้งยังมีแหล่งน้ำขนาดใหญ่เกือบ 100 ไร่ อยู่กลางป่า เพื่อเก็บกักน้ำให้ชุมชนได้อุปโภค บริโภค และนำไปใช้ในการเกษตร รวมทั้งการขุดคลองคูน้ำรอบป่าเพื่อการอนุรักษ์ป่าและคงความชุ่มชื้นแก่บริเวณขอบนอกของป่าและพื้นที่การเกษตรที่อยู่โดยรอบป่าอย่างไรก็ตามพื้นที่ป่าทั้ง 2 ป่า ได้เอื้อประโยชน์ต่อพื้นที่การเกษตรทั้งทางตรงและทางอ้อม ดังนี้

1) ป่าไม้ช่วยควบคุมสภาวะสมดุลทางธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ทำให้อากาศเย็นขึ้น อุณหภูมิลดลง ช่วยให้ฝนตกต้องตามฤดูกาล ลดปัญหาความแห้งแล้ง ส่งผลให้พื้นที่ชุมชนได้รับฝนธรรมชาติมากกว่าพื้นที่ที่ไม่มีป่า ซึ่งส่งผลต่อพื้นที่เพาะปลูกการเกษตรในบริเวณนั้น

2) ป่าไม้ช่วยดูดซับน้ำฝนที่ตกตามธรรมชาติไว้ ทำให้บริเวณพื้นที่เกษตรโดยรอบและพื้นดินคงความชุ่มชื้น ส่งผลต่อการปลูกพืชของเกษตรกร

3) แหล่งน้ำในป่า และคลองคูน้ำโดยรอบป่า เป็นแหล่งน้ำที่เกษตรกรสามารถนำมาใช้ในฤดูแล้งได้ เนื่องจากระบบนิเวศภายในป่ามีความชื้นสูงช่วยลดการระเหยของน้ำ และรากของต้นไม้จะช่วยเก็บกักน้ำ ทำให้มีน้ำใช้ตลอดปี

Table 3 Local utilization in Yang Choom forest and Rahan forest

Plant species	H	F	B	D	Ho	A	Fu	O	Etc.	Yang Choom	Rahan
A rang			✓				✓			✓	
Cha muang	✓	✓								✓	
Cha nuan					✓		✓	✓			✓
Chang nao	✓					✓	✓	✓			✓
Chiang phra nang ae		✓	✓							✓	
Chong kho	✓			✓				✓			✓
Kam phaeng chetchan	✓										✓
Kan krao					✓				✓	✓	
Kham mok noi	✓							✓		✓	✓
Khan thong phayabat	✓					✓				✓	✓
Khang	✓										✓
Kho laen		✓			✓					✓	
Kluai noi			✓			✓				✓	✓
Krabak			✓							✓	
Krabok	✓	✓		✓			✓			✓	✓
Krathum	✓										✓
Krai			✓			✓				✓	✓
Kruai pa	✓			✓							✓
Lam duan	✓	✓			✓		✓			✓	✓
Ma duk	✓	✓					✓			✓	
Ma hat	✓	✓	✓	✓		✓		✓	✓	✓	✓
Ma huat	✓	✓	✓				✓			✓	✓
Ma kha tae	✓	✓	✓						✓	✓	✓
Ma kok lueam	✓	✓		✓							✓
Ma kok nam	✓	✓								✓	
Ma muang pa		✓	✓	✓							✓
Ma mun	✓										✓
Maha ka nang	✓										✓
Mang chut pa		✓			✓					✓	✓
Mi men	✓		✓							✓	
Mok man	✓							✓		✓	
Muead lot	✓			✓		✓	✓				✓
Nang dam		✓	✓			✓				✓	✓
Ngio pa	✓				✓						✓
Pha yom	✓			✓		✓				✓	✓

Table 3 Local utilization in Yang Choom forest and Rahan forest (continue)

Plant species	H	F	B	D	Ho	A	Fu	O	Etc.	Yang Choom	Rahan
Pha yung	✓		✓		✓	✓				✓	✓
Pha ung		✓				✓				✓	
Phan chat	✓		✓							✓	
Phlap phla		✓				✓			✓		✓
Phlong mueat	✓	✓		✓		✓	✓		✓		✓
Phok	✓	✓	✓		✓					✓	✓
Pradu pa	✓		✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓
Rak khi mu	✓									✓	
Rak yai	✓		✓		✓				✓	✓	✓
Rang			✓		✓		✓			✓	✓
Sadao	✓	✓	✓							✓	
Sadao thiam	✓	✓	✓		✓				✓		✓
Samet		✓				✓				✓	
San yai	✓	✓	✓		✓			✓		✓	✓
Tako na	✓	✓	✓	✓			✓	✓		✓	✓
Teng			✓		✓						✓
Tio dang	✓	✓		✓						✓	✓
Tio klang	✓	✓		✓		✓			✓	✓	✓
Wa khi nok	✓	✓	✓							✓	✓
Yang hiang	✓		✓		✓				✓	✓	✓
Yang krat			✓		✓	✓	✓		✓	✓	✓

Remark: H = Herbs, F = Foods, B = Build a house, D = Dyeing plants, Ho = Home appliances,
A = Agricultural tools, Fu = Fuels, O = Ornamental plants and Etc. = Other

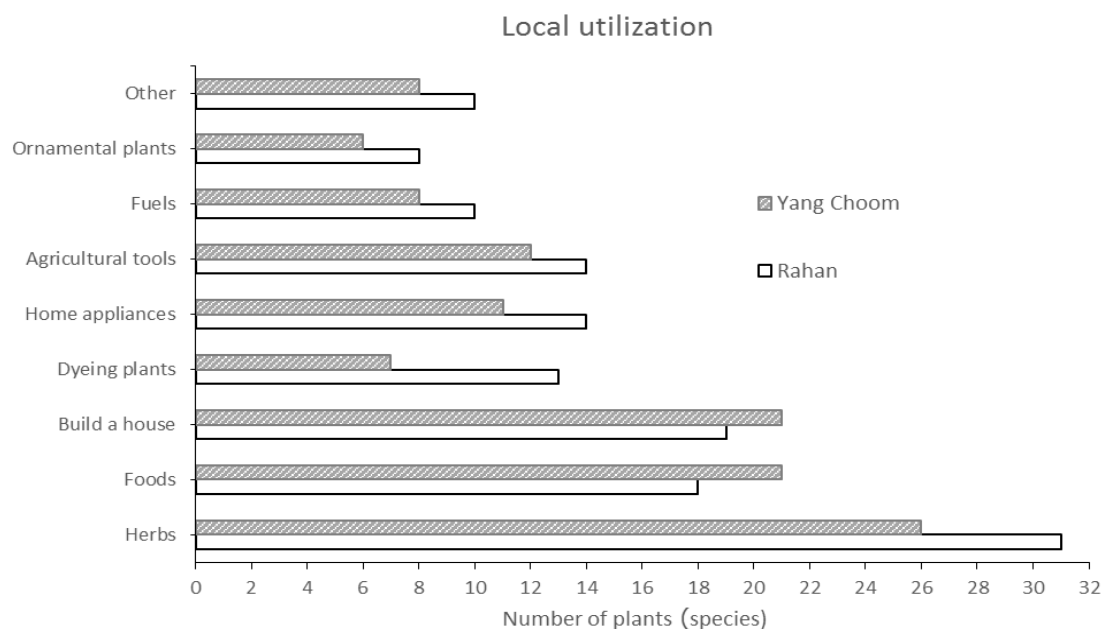


Fig. 4 Local utilization of trees in Yang Choom forest and Rahan forest

จากการศึกษาแปลงตัวอย่างทั้ง 2 ป่า พบว่าป่าระหาวมีจำนวนไม้ต้น 536 ต้น 41 ชนิด 24 วงศ์ มากกว่าป่ายางชุมที่มีไม้ต้น 434 ต้น 39 ชนิด 21 วงศ์ ซึ่งทั้ง 2 ป่า พบวงศ์ที่มีความหลากหลายชนิดมากที่สุด 2 อันดับแรกเหมือนกันคือ วงศ์ Fabaceae และ Dipterocarpaceae ส่วนชนิดพันธุ์ที่มีความหนาแน่น ความหนาแน่นสัมพัทธ์ ค่าความถี่ และความถี่สัมพัทธ์มากที่สุดของป่ายางชุมคือ กล้วยน้อย ส่วนป่าระหาว คือ ลำตวน ซึ่งทั้ง 2 ชนิดพันธุ์อยู่ในวงศ์ Annonaceae บ่งบอกว่ากลุ่มไม้วงศ์ดังกล่าวมีความเด่นด้านการกระจายตัวในสังคมป่ามากที่สุดของทั้ง 2 ป่า โดยป่าระหาวมีความหนาแน่น 0.335 ต้น/ตร.ม. ซึ่งมากกว่าป่ายางชุมที่มีค่าความหนาแน่น 0.271 ต้น/ตร.ม. ชนิดพันธุ์ที่มีความเด่นและความเด่นสัมพัทธ์มากที่สุดของป่ายางชุมคือ กระบาก ส่วนป่าระหาว คือ ยางเหียง ซึ่งทั้ง 2 ชนิดพันธุ์อยู่ในวงศ์ Dipterocarpaceae เหมือนกัน บ่งบอกว่าไม้วงศ์ดังกล่าวมีความเด่นด้านพื้นที่หน้าตัดมากที่สุดของทั้ง 2 ป่า โดยป่าระหาวมีค่าความเด่นของพันธุ์ไม้เท่ากับ 29.10 ตร.ชม./ตร.ม. ซึ่งมากกว่าป่ายางชุมที่มีค่าความเด่นของพันธุ์ไม้เท่ากับ 28.94 ตร.ชม./ตร.ม. ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของ Kulsirisitrakul *et al.* (2013) ได้ศึกษาความหลากหลายของชนิดพรรณไม้ในพื้นที่ป่าชุมชนบ้านท่าทองแดง ตำบลนาโบสถ์ อำเภอวังเจ้า จังหวัดตาก พรรณไม้ที่สำรวจพบมีจำนวน 54 วงศ์รวมทั้งสิ้น 107 ชนิดโดยสักรมีความหนาแน่นและความหนาแน่นสัมพัทธ์มากที่สุดรองลงมา คือ ไม้แดง และปอลาย ตามลำดับ มีความถี่และความถี่สัมพัทธ์มากที่สุด คือ ไม้แดง ปอลาย และกระเซาะ รองลงมา คือ สัก ตะคร้อ ประดู่ และจัวป่า ตามลำดับ

ส่วนค่าดัชนีความสำคัญระดับชนิดของป่ายางชุมพบว่า กล้วยน้อย มีค่าดัชนีความสำคัญมากที่สุด รองลงมาคือ กระบาก ส่วนป่าระหาวไม้ต้นที่มีค่าดัชนีความสำคัญมากที่สุด คือ ยางเหียง รองลงมาคือ ลำตวน ส่วนค่าดัชนีความสำคัญระดับวงศ์ของไม้ต้นในแปลงตัวอย่างทั้ง 2 ป่ามีกลุ่มวงศ์ที่มีค่าดัชนีความสำคัญ 3 อันดับแรกเหมือนกัน คือ Dipterocarpaceae, Annonaceae และ Fabaceae ส่วนค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์และค่าดัชนีความสม่ำเสมอในการกระจายตัวของทั้ง 2 ป่า อยู่ในระดับปานกลางและมีความใกล้เคียงกันมาก โดยป่าระหาวมีค่ามากกว่าเล็กน้อยคือ 2.87, 0.78 ป่ายางชุมมีค่าเท่ากับ 2.78,

0.76 ซึ่งทั้ง 2 ป่ามีค่าความคล้ายคลึงของสังคมอยู่ที่ 36.16% มีจำนวนชนิดที่เหมือนกัน 24 ชนิดจากจำนวนรวม 56 ชนิดเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับงานของ Kamsanor *et al.*, (2013) ได้เปรียบเทียบความหลากหลายของชนิดพันธุ์ (H') ระหว่างป่าปลูก ป่าดิบแล้งทุติยภูมิและป่าดิบแล้งธรรมชาติในพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติปามวกเหล็ก-ทับทิมผาแดง 2 จังหวัดสระบุรี พบว่าป่าดิบแล้งธรรมชาติมีความค่ามากที่สุด 3.91 รองลงมาคือ ป่าปลูกและป่าดิบแล้งทุติยภูมิ มีค่า 2.44 และ 1.68 ตามลำดับ เห็นได้ว่าป่ายางชุมและป่าระหาว มีความหลากหลายของชนิดพันธุ์น้อยกว่าป่าดิบแล้งธรรมชาติ แต่มีความหลากหลายของชนิดพันธุ์มากกว่าป่าปลูกและป่าดิบแล้งทุติยภูมิ เนื่องจากพื้นที่ส่วนใหญ่ของทั้ง 2 ป่า เป็นป่าผสมผลัดใบและเป็นป่าชุมชนที่ได้รับการอนุรักษ์ไว้เป็นอย่างดี

การใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นพบว่าทั้ง 2 ป่า ไม้ต้นทั้ง 56 ชนิด เป็นไม้ที่มีคุณค่าต่อชุมชนและทุกชนิดถูกนำไปใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นตามภูมิปัญญา โดยนำไปใช้ประโยชน์ด้านสมุนไพรมากที่สุดร้อยละ 69.64 รองลงมาคือ ด้านอาหาร ด้านการก่อสร้างที่อยู่อาศัย ด้านเครื่องมือเครื่องใช้ในบ้านด้านเครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตร ด้านไม้ย้อมสี ด้านเชื้อเพลิง ด้านประโยชน์อื่นๆ และด้านไม้ประดับ คิดเป็นร้อยละ 46.43, 44.64, 44.64, 28.57, 23.51, 21.43, 19.64 และ 16.07 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยเรื่องความหลากหลายของชนิดและการใช้ประโยชน์ของพรรณไม้: ป่าชุมชนบ้านท่าทองแดง ตำบลนาโบสถ์ อำเภอวังเจ้า จังหวัดตากพบพรรณไม้ทั้ง 107 ชนิดใช้เป็นสมุนไพรมากที่สุด รองลงมาใช้เป็นไม้ใช้สอยและใช้เป็นอาหารตามลำดับโดยใช้เป็นยาสมุนไพรจำนวน 94 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 87.85 ใช้เป็นไม้ใช้สอยจำนวน 62 ชนิดคิดเป็นร้อยละ 57.94 และใช้เป็นอาหารจำนวน 47 ชนิดคิดเป็นร้อยละ 43.93 (Kulsirisitrakul *et al.*, 2013)

เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยเรื่องความหลากหลายของพรรณไม้และชนิดพรรณไม้เด่นในเขตสวนรุกขชาติภูแปก อำเภอกูเรือ จังหวัดเลย (Zumstein *et al.*, 2012) พบค่าดัชนีความหลากหลายชนิด 2.81 ค่าความสม่ำเสมอของชนิดพันธุ์ 0.92 พบไม้ต้น 21 ชนิด ไม้ต้นที่มีค่าดัชนีความสำคัญมากที่สุดคือ สนสองใบ รองลงมาคือ ก่อนนกสารภีป่า และก่อหิน พบการนำไม้ต้นไปใช้ประโยชน์ดังนี้ ใช้สร้างที่อยู่อาศัย ใช้เป็นอาหารคน ใช้เป็นอาหารสัตว์ ใช้เป็นยาสมุนไพร ใช้เป็นเชื้อเพลิง และใช้เป็นไม้ประดับ พบว่ามี

ค่าดัชนีความหลากหลายชนิด และค่าความสม่ำเสมอของชนิดพันธุ์ใกล้เคียงกัน มีความแตกต่างด้านชนิดพันธุ์ไม้จากลักษณะของเขตภูมิศาสตร์พันธุ์ไม้ที่แตกต่างกัน ส่วนเรื่องการใช้ประโยชน์ตามภูมิปัญญาของไม้ต้นนั้น มีการแบ่งประเภทที่ใกล้เคียงกันแต่ต่างกันที่รายละเอียดของการนำไปใช้ประโยชน์และวิถีของชุมชน

นอกจากการประโยชน์ในท้องถิ่นแล้ว ป่าทั้ง 2 ป่ายังเอื้อประโยชน์ต่อพื้นที่การเกษตรของชุมชนโดยรอบทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น การนำต้นไม้มากใช้ทำเครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตร ป่าช่วยรักษาความชุ่มชื้นของอากาศ ทำให้ฝนตกต้องตามฤดูกาล ลดปัญหาความแห้งแล้ง ส่งผลให้พื้นที่ชุมชนได้รับฝนธรรมชาติมากขึ้น ป่าไม้ช่วยดูดซับน้ำฝนทำให้บริเวณพื้นที่การเกษตรโดยรอบและพื้นดินคงความชุ่มชื้น และมีแหล่งน้ำในป่า คลองคูน้ำโดยรอบป่าที่

เกษตรกรสามารถนำมาใช้ได้ส่งผลดีต่อพื้นที่การเกษตรของชุมชน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณชุมชนและภูมิปัญญาท้องถิ่นตำบลท่าสว่าง ตำบลเทนมีย์ และตำบลนอกเมือง อำเภอเมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ ที่มีส่วนร่วมในการสำรวจป่าชุมชนและป่าระหารให้ความรู้ชื่อพันธุ์ไม้ภาษาเขมรสุรินทร์การใช้ประโยชน์ในท้องถิ่น และประโยชน์ด้านการเกษตร ขอขอบคุณทีมงานสำรวจป่าสาขาวิชาเทคโนโลยีภูมิทัศน์ทุกท่านที่ช่วยให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Kiratiprayun, S. 2013. Forestry ecology: acquisition of data and preliminary data analysis. Department of Environmental Science, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit centre, Pathum Thani. (mimeographed).
- Kulsirisritrakul, N., Vinairuangrit, P., Chooprayoon, P. and Deeto, S. 2013. The Diversity of Species and Utilization of Plants at the Baan Tah Tongdeang Community Forest, Nabot ,Wangchao District, Tak Province. RMUTP Research Journal Special Issue: Energy and Environment. J. 98-105.
- Smitinand, T. 2014. Thai plant names. The forest herbarium, Department of National Parks, Wildlife And plant conservation, Bangkok.
- Surin Governor's Office. 2012. Data aggregate of Surin province, 2012. Report of data aggregate: Department of Information and Communications, Surin Governor's Office, Surin.
- Soontornwong, S. 2014. Community forest and society Thailand [online]. [Accessed August 30, 2014]. Available from: URL: <http://www.recoftc.org/country/thailand/basic-page>.
- Zumstein, W., Tanmueangpak, K., Jinaporn, C., Sripho, S., Rakmanee, J. and Choopan, T. 2012. Plant diversity and dominant species in Phu Peak Arboretum at Phu-Rua District, Loei Province. Loei Rajabhat University, Loei.

ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในการควบคุมโรคราสนิมขาวของผักบุ้ง ที่เกิดจากเชื้อรา *Albugo ipomoeae-aquaticae*

ครองใจ โสมรักษ์* และ อังคณา เทียนกล้า

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร อ. เมือง จ. สกลนคร 47000

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในการควบคุมโรคราสนิมขาวของผักบุ้ง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ จำนวน 4 ทรีตเมนต์ๆ ละ 4 ซ้ำ ได้แก่ ทรีตเมนต์ที่ 1 คลุกเมล็ดผักบุ้งด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ทรีตเมนต์ที่ 2 หว่านปุ๋ยหมักผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ทรีตเมนต์ที่ 3 พ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก และทรีตเมนต์ที่ 4 ไม่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (ควบคุม) ผลการทดลองพบว่า การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดสามารถควบคุมโรคราสนิมขาวในผักบุ้งได้ โดยพบร้อยละการเกิดโรคราสนิมขาว ร้อยละ 5.00 ในแปลงที่ปลูกโดยการใส่ปุ๋ยหมักผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ส่วนแปลงที่ไม่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (ควบคุม) พบร้อยละการเกิดโรคราสนิมขาวมากที่สุด คือ ร้อยละ 16.25 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) นอกจากนี้การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาทุกวิธีมีผลต่อความสูงและผลผลิตของผักบุ้ง เมื่อครบ 35 วันหลังปลูก พบว่าการพ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มาช่วยให้ต้นผักบุ้งมีความสูงที่สุด คือ 31.9 เซนติเมตร โดยผักบุ้งที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ให้ผลผลิตระหว่าง 2.47-2.67 กิโลกรัม/ตารางเมตร ส่วนทรีตเมนต์ที่ไม่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาให้ผลผลิต 2.37 กิโลกรัม/ตารางเมตร

คำสำคัญ: ผักบุ้ง, เชื้อราไตรโคเดอร์มา และ โรคราสนิมขาว

*ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: jeeji12@yahoo.com

Efficacy of *Trichoderma harzianum* for biological control of white rust disease caused by *Albugo ipomoeae-aquaticae* in swamp morning glory

Krongjai Somrug* and Angkana Teanglum

Department of Plant Science, Faculty of Agricultural Technology, Sakon Nakhon Rajabhat University,
Sakon Nakhon, 47000, Thailand

Abstract

The objective of this research was to use *Trichoderma harzianum* for the control of white rust disease of swamp morning glory. The experiment was set as randomized complete block design (RCBD) with four treatments and four replications per treatment at Department of Plant Science, Faculty of Agricultural Technology, Sakon Nakhon Rajabhat University during October to December, 2013. Four treatments comprised of 1) seed dressing with *T. harzianum* 2) soil broadcasting with *Trichoderma*-compost mix 3) plant spray with *T. harzianum* and 4) *Trichoderma*-untreated control. The results revealed the *T. harzianum* effectively controlled white rust of swamp morning glory. Only 5% of white rust was found on plant in the field treated with *Trichoderma*-compost mix. This disease incidence was significantly lower ($P < 0.01$) when compared with the untreated control (16.25%). All *Trichoderma* treatments increased height and yield of swamp morning glory. At 35 days after planting, the highest plant growth with 31.9 cm. in height was found in the *Trichoderma* spray treatment. The yield fresh weight from *Trichoderma* treatments were 2.47-2.67 kg/m², while 2.37 kg/m² of fresh weight was found in the untreated control.

Keywords: Swamp Morning Glory, *Trichoderma harzianum* and White Rust Disease

* Corresponding author: E-mail: jeeji12@yahoo.com

ผักบุ้งเป็นไม้เถาเนื้ออ่อน เลื้อยทอดไปบนพื้นดิน หรือบริเวณผิวน้ำ เถาเป็นปล้องภายในกลวง ทั้งต้นมีน้ำยางขาว ผักบุ้งเป็นพืชออกยอดตลอดปี มีการปลูกและการจำหน่ายในท้องตลาดอย่างแพร่หลายในทุกฤดูกาล ผักบุ้งเป็นผักที่นิยมนำมาประกอบอาหารทั่วทุกภาคของประเทศไทยและสามารถนำมาปรุงเป็นอาหารได้หลายชนิดรับประทานยอดอ่อนเป็นผักสดหรืออาจนึ่ง ลวก และราดกะทิแก้มกับน้ำพริกรับประทานเป็นผักสดกับส้มตำ ลาบ ก้อย ยำ นำไปทำแกง เช่น แกงส้มแกงคั่ว และนำยอดอ่อนและใบอ่อนไปปรุงเป็นอาหาร นอกจากนี้ผักบุ้งยังมีสรรพคุณในการถอนพิษเบื่อเมา ช่วยให้เจริญอาหาร บำรุงธาตุและบำรุงสายตา จึงทำให้ผักบุ้งนิยมปลูกเป็นการค้าอย่างแพร่หลาย ทั้งการปลูกเพื่อบริโภคสด และการผลิตเมล็ดพันธุ์จำหน่ายทั้งในประเทศและพัฒนาเป็นพืชผักส่งออกที่มีความสำคัญ แต่ปัญหาที่พบในการปลูกผักบุ้งคือ โรคราสนิมขาว (White Rust Disease) (วิจัย, 2546) ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Albugo ipomoeae-aquaticae* (สมศิริและชลิตา, 2552) ลักษณะอาการของโรค คือ บนใบมีจุดกลมสีเหลืองกระจายทั่วไปและขยายไม่ได้ (สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง, 2555) โดยเริ่มแรกเชื้อราจะเข้าทำลายเกิดจุดสีเหลืองขนาดเล็ก บริเวณส่วนบนของใบและจะค่อยๆ ขยายใหญ่ขึ้น ถึงเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร ส่วนใต้ใบที่ตำแหน่งเดียวกันจะเห็นจุดสีขาวนวลและจะขยายใหญ่ขึ้นเป็นจุดกลมออกสีชมพู และเปลี่ยนเป็นสีขาว เมื่อเจริญเต็มที่ ระบาดมากจะทำให้ใบมีสีเหลือง และลามแห้งไปทั่วทั้งใบ ดอกและไหม้แห้งจากปลายกลีบดอกเข้ามา ช่วงที่มีการระบาดมาก คือ ช่วงฤดูฝน หรือช่วงที่แปลงปลูกมีความชื้น ลักษณะอาการ จะเกิดเป็นจุดหรือตุ่มนูนๆ สีขาวอยู่ใต้ใบ ถ้าเป็นมากๆ จะพบตุ่มนูนขาวที่ใบเต็มไปหมด และหลังใบจะเป็นจุดสีเหลือง ทำให้ผักบุ้งจีนชะงักการเจริญเติบโตและไม่น่ารับประทาน การป้องกันกำจัด คือ การคลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารเคมีและฉีดพ่นเมื่อพบมีการระบาดของโรคราสนิมขาว (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2555)

การป้องกันหรือการกำจัดโดยใช้สารเคมี ต้องฉีดพ่นทุกสัปดาห์ ถ้าใช้ไปนานๆ อาจเกิดการดื้อยาและอาจ

ส่งผลอันตรายต่อผู้ใช้และผู้บริโภค ดังนั้นเพื่อลดการใช้สารเคมี ลดสารพิษตกค้างในพืช ในสภาพแวดล้อม และควบคุมโรคราสนิมขาว การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประโยชน์ ขยายพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ จะเป็นเส้นใยและสปอร์สีเขียว นำมาใช้ควบคุม ทำลาย หรือยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคในดินที่ก่อให้เกิดอาการโรครากเน่าโคนเน่ากับพืช ทั้งในพืชผัก พืชไร่ และไม้ผล (กณิษฐา, 2555) ซึ่งคุณสมบัติของเชื้อราไตรโคเดอร์มา คือ เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมเชื้อราที่เป็นเชื้อสาเหตุก่อให้เกิดโรคพืชได้ โดยเชื้อราไตรโคเดอร์มาจะเข้าทำลายเส้นใยเชื้อราก่อโรคโดยการพันและแทงเข้าไปทำลาย ทำให้เส้นใยเหี่ยวแฟบและสลายไป หรือแข่งขันการใช้อาหารและปัจจัยต่างๆ ของเชื้อโรค ส่งผลให้เชื้อราก่อโรคสลายและตายไปในที่สุด (จิระเดช, 2546) โดยวันหนีย (2550) พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดสามารถรักษาโรครากเน่า โคนเน่าในทุเรียนได้ และงานวิจัยของ สุมิสาและวีระศักดิ์ (2556) พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีประสิทธิภาพในการชักนำให้แตงเทศมีความต้านทานต่อโรคต้นแตกยางไหลที่เกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* และงานวิจัยของวิพรพรรณและคณะ (2557) ได้นำเชื้อราไตรโคเดอร์มาป้องกันหลุมก่อนปลูกแคนตาลูป พบว่าไม่มีการเกิดโรคน้ำค้ำและโรคเหี่ยว ขณะที่แปลงที่ไม่ได้ใส่เชื้อราไตรโคเดอร์มาพบการเกิดโรคน้ำค้ำและโรคเหี่ยว ด้วยคุณสมบัติที่โดดเด่นและจากรายงานวิจัยที่ประสบผลสำเร็จจากการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาดังกล่าว ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในการควบคุมโรคราสนิมขาวของผักบุ้ง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การวางแผนการทดลองและการทดลอง

ดำเนินการทดลอง ณ แปลงปฏิบัติการพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ระหว่างเดือนตุลาคม 2556 ถึง ธันวาคม 2556 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design; RCBD จำนวน 4 ทรีตเมนต์ๆ ละ 4 ซ้ำ โดยใช้เชื้อรา

Trichoderma harzianum ถูกนำมาเลี้ยงในข้าวสุก ตามวิธีของจิระเดช (2546) ได้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดแล้วนำไปทดลอง ดังนี้ ทริตเมนต์ที่ 1 (T1) คลุกเมล็ดผักกาดก่อนปลูกด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา โดยการนำเชื้อราสดที่อยู่ในข้าวจำนวน 10 กรัม คลุกกับเมล็ดผักกาดจำนวน 1 กิโลกรัม ทริตเมนต์ที่ 2 (T2) หวานปุ๋ยหมักผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก โดยการนำเชื้อราสดที่อยู่ในข้าวผสมกับรำข้าว ในอัตรา 1: 4 โดยน้ำหนัก แล้วนำไปผสมกับปุ๋ยหมักอัตรา 100 ส่วน คลุกเคล้าให้เข้ากัน ปิดพลาสติกคลุม (ไม่ต้องปิดสนิท) นาน 3 วัน แล้วนำไปหว่านในแปลงอัตรา 2 กิโลกรัม/ตารางเมตร ทริตเมนต์ที่ 3 (T3) พ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก โดยการนำเชื้อราสดที่อยู่ในข้าวจำนวน 100 กรัม ผสมน้ำ 20 ลิตร พ่นที่แปลงปลูกอัตรา 1 ลิตร/ 10 ตารางเมตร (จิระเดช, 2547) และ ทริตเมนต์ที่ 4 (T4) ไม่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (ควบคุม)

2. การเตรียมแปลงปลูกและการดูแลรักษา

เริ่มจากการไถตะ พังไผ่ 7 วัน แล้วไถพรวนและยกแปลงขนาด 1x3 เมตร ปลูกผักกาดโดยการหว่านในแปลงปลูก เพื่อให้เกิดโรคราสนิมขาวในผักกาด หลังจากนั้นทำการไถกลบและพรวนดินเพื่อปลูกผักกาดใน ระยะ 5x5 เซนติเมตร ในแปลงเดิมที่มีการเกิดโรคราสนิมขาว โดยใส่ปุ๋ยหมักรองพื้นในอัตรา 2 กิโลกรัมต่อตารางเมตรทุกแปลง และใส่เชื้อราไตรโคเดอร์มาตามทริตเมนต์ที่กำหนดไว้ก่อนปลูกผักกาด รดน้ำทุกวันๆ ละ 2 ครั้ง คือ เช้า และเย็น และ ใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 2 กิโลกรัมต่อตารางเมตรทุกแปลง หลังจากปลูกผักกาด 10, 20 และ 30 วัน ตามลำดับ

3. การบันทึกข้อมูล

1. เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของผักกาดโดยการวัดความสูงของต้นจำนวน 20 ต้นต่อแปลง ครั้งที่ 1 เมื่อผักกาดมีอายุ 10 วัน หลังจากนั้นเก็บข้อมูลทุกๆ 5 วัน จนถึงอายุการเก็บเกี่ยว คือ 35 วัน และเก็บข้อมูลด้านผลผลิต โดยการชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาด

2. เก็บข้อมูลการเกิดโรคราสนิมขาวจากต้นผักกาด โดยนับจำนวนต้นที่เกิดโรคจากจำนวน 20 ต้นต่อแปลง นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมขาวในผักกาดดังสมการ

$$\text{การเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{จำนวนต้นของผักกาดที่เป็นโรค}}{\text{จำนวนต้นของผักกาดทั้งหมด}} \times 100$$

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละทริตเมนต์ในทุกการทดลอง โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ คือ โปรแกรม SAS version 9.1

ผลการวิจัย

ผลของการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในการควบคุมโรคราสนิมขาวของผักกาด โดยมีวิธีการที่ต่างกัน คือ คลุกเมล็ดผักกาดด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก หวานปุ๋ยหมักที่ผสมกับเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ผ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก และไม่ใส่เชื้อราไตรโคเดอร์มา (ควบคุม) ได้ผลดังนี้

1. ร้อยละการเกิดโรคราสนิมขาว

จากการนับจำนวนต้นผักกาดที่เกิดโรคราสนิมขาวต่อแปลง จำนวน 20 ต้นต่อแปลง พบลักษณะการเกิดโรคเป็นจุดสีเหลืองบริเวณส่วนบนของใบของผักกาด (figure 1) แล้วนำผลจากการนับต้นที่เกิดโรคมาคำนวณร้อยละการเกิดโรค พบว่าผักกาดที่มีร้อยละการเกิดโรคราสนิมขาวมากที่สุดหลังจากปลูก 35 วัน คือผักกาดที่ไม่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา พบโรคราสนิมขาวร้อยละ 16.25 รองลงมาคือ ผักกาดที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา ผักกาดที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก และผักกาดที่หว่านด้วยปุ๋ยหมักผสมกับเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก ตามลำดับ คือมีร้อยละการเกิดโรคราสนิมขาว 10.00, 7.50 และ 5.00 ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ดัง Table 1



Figure 1 ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. ipomoeae-aquaticae*

จาก figure 1 แสดงลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. ipomoeae-aquaticae* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคราสนิมขาวของผักบุ้ง และเป็นลักษณะการเข้าทำลายเริ่มแรก จะเกิดจุดสีเหลืองขนาดเล็กบริเวณส่วนบนของใบ และจะค่อยๆ ขยายใหญ่ขึ้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2555)

Table 1 Disease incidences of white rust on swamp morning glory (n=80)

Treatment	Day/Disease incidence (%)	
	30	35
seed dressing with <i>T. harzianum</i>	7.50±2.88 ^{ab}	10.00±4.08 ^b
<i>T. harzianum</i> –compost mix	3.75±2.50 ^b	5.00±0.00 ^b
<i>T. harzianum</i> spray	3.75±2.50 ^b	7.50±2.88 ^b
<i>T. harzianum</i> untreated control	11.25±4.78 ^a	16.25±4.78 ^a
p-value	0.002	0.005

Remark: Means (±SD) with a column followed by the different letter are significantly different at (P<0.01) by DMRT

2. การเจริญเติบโตด้านความสูง

ความสูงของผักบุ้งหลังจากปลูก 35 วัน พบว่าผักบุ้งที่พ่นด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มามาก่อนปลูกมีความสูงมากที่สุด คือ 31.9 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ผักบุ้งที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา และผักบุ้งที่หว่านด้วยปุ๋ยหมักผสม

เชื้อราไตรโคเดอร์มามาก่อนปลูก มีความสูง 31.5 เซนติเมตร และ 31.1 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนผักบุ้งที่ไม่ได้ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาจะมีความสูงน้อยที่สุด คือ 30.6 เซนติเมตร เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ดัง Table 2

Table 2 Plant heights (mean±SD) of swamp morning glory grown in field and treated or non-treated with *Trichoderma harzianum* (n=80)

Treatment	Day / Plant height (cm.)					
	10	15	20	25	30	35
seed dressing with <i>T. harzianum</i>	8.3±0.59	13.1±1.77	17.8±3.03	22.7±3.04	28.8±2.96	31.5±4.20
<i>T. harzianum</i> - compost mix	8.3±1.20	12.6±2.47	17.8±3.35	21.8±2.92	28.1±3.15	31.1±3.88
<i>T. harzianum</i> spray	8.3±0.71	12.3±0.79	16.7±1.55	21.0±1.25	28.0±2.226	31.9±3.01
<i>T. harzianum</i> untreated control	7.9±0.46	12.0±2.15	16.3±3.17	20.4±3.48	26.7±3.40	30.6±4.42
p-value	0.726	0.743	0.617	0.520	0.245	0.774

Remark: Non- significant difference was found in each column at (P>0.05) by DMRT

3. ผลผลิตของผักบุ้ง

ผลผลิตของผักบุ้ง หลังจากปลูก 35 วัน (Figure 2) นำมาชั่งน้ำหนักสดรวมราก พบว่าผักบุ้งที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาให้ผลผลิตมากที่สุด คือ 2.67 กิโลกรัม/ตารางเมตร รองลงมาคือผักบุ้งที่หว่านด้วยปุ๋ยหมักผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก และผักบุ้งที่พ่นด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาก่อนปลูก น้ำหนักสดเท่ากับ 2.52 กิโลกรัม/ตารางเมตร และ 2.47 กิโลกรัม/ตารางเมตร ตามลำดับ ส่วน

ผักบุ้งที่ไม่ได้ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาให้ผลผลิตต่ำที่สุด คือ 2.37 กิโลกรัม/ตารางเมตร น้ำหนักแห้งให้ผลเช่นเดียวกัน คือ 0.35 กิโลกรัม 0.33 กิโลกรัม 0.32 กิโลกรัม และ 0.31 กิโลกรัม ตามลำดับ โดยผักบุ้งที่ไม่ได้ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาให้ผลผลิตต่ำที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) ดัง Table 3



Figure 2 Yields of Swamp morning glory at 35 days after planting: T1 (seed dressing with *T. harzianum*), T2 (*T. harzianum*-compost mix), T3 (*T. harzianum* spray), and T4 (*T. harzianum* untreated control)

Table 3 Yield (means $\pm$ SD) of Swamp morning glory grown in field and treated or non-treated with *Trichoderma harzianum*

Treatment	Fresh weight (kg/m ²)	Dry weight (kg/m ²)
seed dressing with <i>T. harzianum</i>	2.67 $\pm$ 0.39	0.35 $\pm$ 0.06
<i>T. harzianum</i> -compost mix	2.52 $\pm$ 0.56	0.33 $\pm$ 0.08
<i>T. harzianum</i> spray	2.47 $\pm$ 0.37	0.32 $\pm$ 0.08
<i>T. harzianum</i> untreated control	2.37 $\pm$ 0.22	0.31 $\pm$ 0.02
p-value	0.735	0.634

Remark: Non- significant difference was found in each column at ($P>0.05$) by DMRT

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในควบคุมโรคราสนิมขาวของผักบุ้ง พบว่าสามารถใช้ได้ทุกวิธี ทั้งการพ่นในแปลงก่อนปลูก การคลุกเมล็ดก่อนปลูก หรือ

การทำปุ๋ยหมักที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มาแล้วหว่านลงในแปลงก่อนปลูกผักบุ้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสะดวกของผู้ใช้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวิพรพรรณและคณะ (2557) ได้นำเชื้อราไตรโคเดอร์มารองกันหลุมก่อนปลูกแคนตาลูป พบว่าไม่มีการเกิดโรคราน้ำค้างและโรคเหี่ยว ขณะที่แปลงที่ไม่ได้ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาพบการเกิดโรคราน้ำค้างและโรค

เหี่ยวร้อยละ 26.70 และร้อยละ 80.00 ตามลำดับ และงานวิจัยของสุมิสาและวีระศักดิ์ (2556) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้แตงเทศมีความต้านทานต่อโรคต้นแตกยางไหล (gummy stem blight disease) ของแตงเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae* โดยนำมาผสมกับดินสำหรับปลูกแตงเทศ พบว่าต้นแตงเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T10 มีขนาดความยาวเฉลี่ยของแผลบนใบเล็กที่สุดในสภาพเรือนทดลองและแปลงปลูกขนาดเล็กคือ 3.17 และ 2.25 มิลลิเมตร ลดการเกิดโรคได้มากถึง 80.36 และ 88.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นแตงเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T25 มีขนาดความยาวเฉลี่ยของแผลบนลำต้นน้อยที่สุดในสภาพเรือนทดลองและสภาพแปลงปลูก คือ 7.73 และ 9.12 มิลลิเมตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง 60.87 และ 35.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ในการกระตุ้นให้ต้นแตงเทศสามารถต้านทานโรคต้นแตกยางไหลและทำให้การเกิดโรคลดลงได้ รวมทั้งงานวิจัยของขวัญเนตรและคณะ (2550) นำเชื้อราไตรโคเดอร์มา (*T. harzianum* สายพันธุ์ T10) นำไปรดวัสดุปลูกกับมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ทุกสัปดาห์ พบว่าสามารถลดการเกิดโรคราดำของใบมะเขือเทศได้ตั้งแต่ 21.16-65.97 % และมีประสิทธิภาพของการควบคุมโรคราใบดำ (*Pseudocercopora fuligena*) เทียบเท่ากับการพ่นสารเคมี mancozeb นอกจากนี้การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา *T. harzianum* เพื่อป้องกันโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อราไฟทอปธอรา (*Phytophthora palmivola*) ในสวนทุเรียนของจังหวัดจันทบุรี สามารถใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (อลงกต, 2557) และวันทนิย์ (2550) ได้นำเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดรักษาโรครากเน่า โคนเน่าสามารถใช้ได้ 2 กรณี คือ กรณีพืชยังไม่แสดงอาการเกิดโรคควรใช้ 3 ครั้ง ดังนี้ ครั้งที่ 1 ระหว่างเดือนมิถุนายน – กรกฎาคม เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสด 1 กิโลกรัมต่อไร่ละเอียด 4 กิโลกรัม ต่อปุ๋ยอินทรีย์ 100 กิโลกรัม ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำไปหว่านให้ทั่วทรงพุ่ม ครั้งที่ 2 ระหว่างเดือนกันยายน – ตุลาคม เป็นช่วงเตรียมความพร้อมเพื่อการออกดอก ใช้เชื้อราชนิดสด 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 200 ลิตร พ่นบริเวณใต้ทรงพุ่ม ครั้งที่ 3 ระหว่างเดือนธันวาคม – มกราคม เป็นช่วงที่ทุเรียนเริ่มออก

ดอกถึงช่วงติดผล ให้ฉีดพ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดหรือให้ไปกับระบบน้ำตามอัตราส่วนเช่นเดียวกับครั้งที่ 2 กรณีรักษาส่วนที่เกิดโรค ให้ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสด 1 กิโลกรัมต่อไร่ละเอียด 4 กิโลกรัม ต่อปุ๋ยอินทรีย์ 100 กิโลกรัม ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันหว่านใต้ทรงพุ่มหรือใช้เชื้อรา 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 200 ลิตร ฉีดพ่นใต้ทรงพุ่ม กรณีเกิดโรคที่กิ่ง ผล ใบ ให้ใช้เชื้อราชนิดสด 2 กิโลกรัมต่อน้ำ 200 ลิตร กรณีเกิดโรคที่ลำต้น ให้ทำการถากบริเวณแผลที่เป็นโรครอกให้หมด ทำความสะอาดบาดแผล แล้วใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสด 250 กรัม ผสมกับฝุ่นแดง ผสมกับน้ำ 1 ลิตร แล้วใช้แปรงทาสีทาที่บริเวณแผลให้ทั่ว

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดในการควบคุมโรคราสนิมขาวของผักบุ้ง สามารถสรุปได้ ดังนี้ ร้อยละการเกิดโรคราสนิมขาวในผักบุ้งที่ไม่ได้ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาพบการเกิดโรครามากที่สุด ส่วนการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ทั้งการพ่นในแปลงก่อนปลูก การคลุกเมล็ดก่อนปลูก และการปุ๋ยหมักผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มาแล้วหว่านลงในแปลงก่อนปลูกผักบุ้ง พบการเกิดโรคน้อยกว่าไม่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ดังนั้น เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดสามารถควบคุมโรคราสนิมขาวของผักบุ้งได้และสามารถใช้ได้ทุกวิธี นอกจากนี้ ยังพบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มายังมีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความสูงของผักบุ้ง คือ ผักบุ้งมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าไม่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา รวมทั้งผลผลิตของผักบุ้งที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มามีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากกว่าผักบุ้งที่ไม่ได้ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาเช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยและคณะขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กณิษฐา สังค์หะ. 2555. เชื้อราไตรโคเดอร์มาในรูปหัวเชื้อสด. แหล่งข้อมูล. <http://www.clgc.rdi.ku.ac.th/index.php/clgc-products/trichoderma>. ค้นเมื่อ 30 กรกฎาคม 2555.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2555. การผลิตเมล็ดพันธุ์ผักกาดจีน. แหล่งข้อมูล. http://www.thaiagro.com/index_library_count.php?show=781. ค้นเมื่อ 25 กันยายน 2555.
- ขวัญเนตร หินอ่อน วรณวิไล อินทนู จิระเดช แจ่มสว่างและวิษุพร จันทรศรี. 2550. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ T50 ชักนำความต้านทานต่อโรคราใบดำของมะเขือเทศซึ่ง เกิดจากเชื้อรา *Pseudocercospora fligena*. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 38 (5): 449-456.
- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2546. การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. โครงการเกษตรสู่ชาติโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีชีวภาพและชีวภัณฑ์ในการจัดการศัตรูพืช เพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน. 194 หน้า
- จิระเดช แจ่มสว่าง.. 2547. การควบคุมโรคผักโดยชีววิธี. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี ในการปลูกผักแบบไม่ใช้ดิน และภายในโรงเรือน จัดโดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (ชุดโครงการ-การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน) และคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2547 ณ อาคารเจ้าคุณทหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. 2555. โรคราสนิมขาว. แหล่งข้อมูล. <http://www.lartc.rmutl.ac.th>. ค้นเมื่อ 25 กันยายน 2555.
- สุมิสา อรุณโนและวีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. 2556. การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการกระตุ้นความต้านทานโรคต้นแตงกวางไหลในแตงเทศ. แก่นเกษตร 41(2): 135-142.
- วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาพื้นฐาน. พิมพ์ที่ จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 351 หน้า.
- วิพรพรรณ เนืองเม็ก, ประสิทธิ์ ผาผ่องและมนัส ทิตยวรรณ. 2557. ผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มาต่อการเจริญเติบโต และควบคุมโรคแคนตาอูบในแปลงปลูก. วารสารแก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ (3): 680-685.
- วันทนีย์ ชุ่มจิตต์. 2550. การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาเพื่อควบคุมโรคพืช. พิมพ์ครั้งที่ 4. จันทบุรี. 64 หน้า.
- สมศิริ แสงโชติ และชลิดา เล็กสมบูรณ์. 2552. คู่มือการวินิจฉัยโรคพืช: โรคพืชที่พบบ่อย. พิมพ์ที่เพชรเกษมการพิมพ์, นครปฐม. 174 หน้า.
- อลงกต อุทัยนภิก. 2557. การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma harzianum*) เพื่อป้องกันโรครากเน่า โคนเน่าที่เกิดจากเชื้อราไฟทอปธอรา (*Phytophthora palmivora*) ในสวนทุเรียนจังหวัดจันทบุรี. อนุสารเกษตรราไพพรรณี 11: 24-27.

ผลการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ในโคเนื้อลูกผสมอินดูบราซิลที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด เพื่อจัดรอบการเป็นสัดในจังหวัดมหาสารคาม

โสภณ ลครพล^{1*}, ศิริรัตน์ พรหมจารีต¹ และ ธาณินทร์ สิงกันยา²

¹ สาขาวิชาการพยาบาลสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

² สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ในโคเนื้อพันธุ์ลูกผสมอินดูบราซิลเพื่อจัดรอบการเป็นสัด โดยใช้กลุ่มตัวอย่างสำหรับการศึกษา คือ โคเนื้อพันธุ์ลูกผสมอินดูบราซิลที่มีปัญหาไม่แสดงอาการเป็นสัดในเขตอำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 20 ตัว ผลการวิจัยพบว่าจากโคที่มีปัญหาไม่แสดงอาการเป็นสัดจำนวน 20 ตัวเมื่อทำการล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ทางทวารหนัก มีโค 14 ตัว ตรวจพบคอร์ปัสลูเตียม (corpus luteum) คิดเป็น 70% (14/20) ส่วนอีก 6 ตัวตรวจไม่พบคิดเป็น 30% (6/20) โคที่ตรวจพบคอร์ปัสลูเตียมจะได้รับการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ปรากฏว่า 12 ตัว แสดงอาการเป็นสัด หลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมนคิดเป็น 85.71% (12/14) อีก 2 ตัวไม่แสดงอาการเป็นสัดคิดเป็น 14.29% (2/14) การนำฮอร์โมน PGF2 α มาใช้กับโคที่มีปัญหาไม่แสดงอาการเป็นสัดในกรณีที่ตรวจพบคอร์ปัสลูเตียมสามารถทำให้โคกลับมาแสดงอาการเป็นสัดได้มากกว่าโคไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ร้อยละ 71.43

คำสำคัญ: รอบการเป็นสัด, PGF2 α และ โคเนื้อพันธุ์ลูกผสมอินดูบราซิล

* ผู้เขียนให้ติดต่อ : E-mail: soponmarine36@hotmail.com

Effective of Injection PGF2 α Hormone for Treatment Abnormal Estrus Cycle in Indu brazil Cross Breed Beef Cattle in Maha Sarakham Province

Sopon Lakornpol¹, Sirirat Phomjareet¹ and Thanin Singkanya²

¹ Program in Animal nurse Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakam University, Maha Sarakam 44000, Thailand

² Program in Veterinary Technology Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakam University, Maha Sarakam 44000, Thailand

Abstract

The objective of this research was study injection PGF2 α hormone for treatment abnormal estrus cycle in Indubrazil cross breed beef cattle in Maha Sarakham province. The sample subjects were 20 abnormal estrus cycle Indubrazil cross breed beef cattle. Results of the study found that in the group of 20 cows had abnormal estrus cycle performance. The 14 cows had corpus luteum (average 70% (14/20)) when the bovine veterinary practitioner used rectal palpation method detection. The 6 cows did not have corpus luteum (average 30% (6/14)). The 14 cows in corpus luteum group were received injection PGF2 α hormone. After that about 3-5 days found that the 12 cows in this group into heat performance (average 85.71% (12/14)). The 2 cows did not into heat performance (average 14.29% (2/14)). In this research, PGF2 α hormone can solution abnormal estrus cycle problem cow that have corpus luteum on ovary more than 71.43%.

Keywords: Estrus cycle, PGF2 α and Indubrazil cross breed beef cattle

* Corresponding author : E-mail: soponmarine36@hotmail.com

จังหวัดมหาสารคามเป็นจังหวัดที่มีประชาชนประกอบอาชีพการเกษตรอยู่หลายแขนง ทั้งการปลูกพืชและเลี้ยงสัตว์ อาชีพการเลี้ยงโคเนื้อซึ่งเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงไว้ควบคู่กับการทำเกษตรกรรมอื่นๆ ตั้งแต่สมัยก่อนๆ ตามวิถีชาวบ้านเพื่อที่จะใช้แรงงานพลอยได้จากมูลโคทำเป็นปุ๋ยคอกและยังเป็นธนาคารที่มีชีวิต โดยเฉพาะโคเนื้อพันธุ์ผสมอินดูบราซิลซึ่งมีราคาสูงกว่าโคเนื้อพันธุ์อื่นๆ จึงส่งผลให้มีการเลี้ยงโคพันธุ์นี้มากขึ้น (จากการสอบถามเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ในพื้นที่) มีธุรกิจการจำหน่ายน้ำเชื้อแพร่กระจายในหลายพื้นที่ทั่วประเทศ เขตที่มีการเลี้ยงโคพันธุ์นี้ของจังหวัดมหาสารคามมากที่สุดได้แก่ อำเภอมือเือง อำเภอกุสุมาลย์ อำเภอกันทรวิชัย และอำเภอยางชุมน้อย โดยเฉพาะเขตอำเภอมือเืองมีการเลี้ยงแทบทุกหมู่บ้านเนื่องจากโคพันธุ์นี้มีลักษณะที่สวยงาม ใบหูยาวหยิก ใบหน้าโหนกนูนรับกับใบหู โครงสร้างลำตัวที่สูงใหญ่ จึงได้รับความนิยมจากผู้คนหลายสาขาอาชีพมากมาย ทำให้โคพันธุ์นี้มีราคาสูงกว่าโคเนื้อพันธุ์อื่นๆ มาก แต่ในปัจจุบันประชากรโคเนื้อในประเทศไทยได้ลดจำนวนลงมาก จำนวนโคเนื้อ ณ วันที่ 1 มกราคม 2554 รวมทั้งประเทศ 6.428 ล้านตัว ลดลงจากปี 2553 อยู่ 70,044 ตัว หรือ 1.08% (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) เนื่องจากการผลิตไม่พอเพียงต่อความต้องการของผู้บริโภคปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือ แม่โคไม่สามารถให้กำเนิดลูกโคได้ตามที่ตั้งเป้าหมายให้ลูก 1 ตัวต่อปี มีแม่โคจำนวนมากที่หลังจากคลอดแล้วไม่แสดงอาการการเป็นสัดให้เห็นเนื่องจากเป็นสัดเงียบ (สมพร, 2538) หรือมีการคงค้างของคอร์ปัสลูเตียมบนรังไข่ (ปราจีน, 2530) จึงทำให้แม่โคเหล่านั้นไม่สามารถให้ลูกได้ทั้งๆ ที่มีลักษณะภายนอกทางพันธุกรรมที่ดีเยี่ยมเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเหล่านี้ก็จะขายให้กับโรงฆ่าในพื้นที่และนี่คือสาเหตุหลักที่ทำให้ประชากรโคเนื้อในประเทศลดลงเป็นจำนวนมากอย่างรวดเร็ว

ในสภาวะการณ์ปัจจุบันเพื่อแก้ปัญหาจำนวนประชากรโคเนื้อที่ลดลง ผู้วิจัยเล็งเห็นว่าการทำให้แม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดกลับมาแสดงอาการเป็นสัดและสามารถผสมพันธุ์ได้จึงน่าจะช่วยลดปัญหาลงได้และน่าจะเพิ่มสมรรถภาพการผลิตโคเนื้อของประเทศ ลดการนำเข้าเนื้อโคจากต่างประเทศได้นอกจากนี้ยังน่าจะทำให้ชีวิตความเป็นอยู่ของเกษตรกรดีขึ้นอย่างยั่งยืน

1. ผู้ทำการวิจัยได้เข้าไปติดต่อขอข้อมูลจากทางคลินิกสัตว์ที่มีฐานข้อมูลลูกค้าในกรณีโคเนื้อพันธุ์ลูกผสมอินดูบราซิลที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดในเขตอำเภอมือเือง จังหวัดมหาสารคาม

2. ติดต่อสอบถามข้อมูลจากเกษตรกรตามฐานลูกค้าของคลินิกสัตว์ โดยให้เกษตรกรเป็นผู้กรอกรายละเอียดข้อมูลเองและข้อมูลบางส่วนผู้ทำการวิจัยจะต้องกรอกพร้อมกับสำรวจภายในบริเวณรอบๆ ฟาร์มของแต่ละฟาร์ม

3. จัดบันทึกประวัติของโคที่พบปัญหาทำการล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ของโคทางทวารหนัก โดยสัตวแพทย์ที่มีความชำนาญเพื่อจะได้ทราบสภาพภายในบนรังไข่ของโคเนื้อพันธุ์ผสมอินดูบราซิลที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดแต่ละตัว

4. สัตวแพทย์ทำการฉีดฮอร์โมน PGF2 α เข้ากล้ามเนื้อบริเวณส่วนคอให้กับแม่โคเนื้อพันธุ์ผสมอินดูบราซิลที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดที่ตรวจพบว่ามีคอร์ปัสลูเตียม โดยใช้ฮอร์โมน PGF2 α ขนาด 500 ไมโครกรัม/ครั้งทันทีหลังตรวจพบส่วนโคเนื้อพันธุ์ผสมอินดูบราซิลที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดที่ตรวจไม่พบคอร์ปัสลูเตียมจะไม่ทำการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ให้

5. ทำการเก็บข้อมูลเกี่ยวกับการแสดงอาการเป็นสัดของโคเนื้อพันธุ์ลูกผสมอินดูบราซิลที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมน PGF2 α

6. การวิเคราะห์ข้อมูลจะใช้สถิติร้อยละ โดยเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างแม่โคที่แสดงอาการเป็นสัดกับแม่โคไม่แสดงอาการเป็นสัด หลังจากฉีดฮอร์โมน PGF2 α

ผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จากการรวบรวมข้อมูลในระยะเวลาที่กำหนดโดยใช้แบบสอบถามและแบบบันทึกที่ครบสมบูรณ์ตามกรอบแนวคิดวิจัย จากกลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อลูกผสมอินดูบราซิล จำนวน 20 ฟาร์ม ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับการฉีดฮอร์โมนให้กับแม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดในฟาร์มของเกษตรกรแม่โคที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ส่วนใหญ่จะแสดงอาการเป็นสัดในช่วงวันที่ 3-5 หลังจากวันที่ฉีด

ตารางที่ 1 แสดงผลการฉีดฮอร์โมนให้กับแม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดในฟาร์มของเกษตรกร จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 20 ฟาร์ม ในปี พ.ศ. 2556 โดยใช้ฮอร์โมน PGF2 α ขนาด 500 ไมโครกรัม/ครั้ง ฉีดหลังจากที่ล้างตรวจพบก้อนเนื้อเหลืองทันที

ฟาร์มที่	จำนวนโคทั้งหมด (ตัว)	จำนวนโคไม่ เป็นสัด (ตัว)	จำนวนโคไม่ เป็นสัดและมี ก้อนเนื้อเหลือง (ตัว)	จำนวนโคไม่ เป็นสัดไม่มี ก้อนเนื้อ เหลือง(ตัว)	จำนวนโคที่ ได้รับการฉีด ฮอร์โมน(ตัว)	จำนวนโคที่ แสดงอาการสัด หลังฉีดฮอร์โมน (ตัว)	จำนวนโคที่ไม่แสดง อาการสัดหลังฉีด ฮอร์โมน(ตัว)
1	4	1	1	0	1	1	0
2	2	1	0	1	0	0	0
3	8	1	1	0	1	1	0
4	5	1	1	0	1	1	0
5	5	1	1	0	1	1	0
6	2	1	1	0	1	0	1
7	6	1	0	1	0	0	0
8	3	1	0	1	0	0	0
9	2	1	0	1	0	0	0
10	7	1	1	0	1	1	0
11	3	1	1	0	1	0	1
12	3	1	1	0	1	1	0
13	4	1	0	1	0	0	0
14	3	1	0	1	0	0	0
15	5	1	1	0	1	1	0
16	6	1	1	0	1	1	0
17	3	1	1	0	1	1	0
18	4	1	1	0	1	1	0
19	2	1	1	0	1	1	0
20	3	1	1	0	1	1	0
รวม	80	20	14	6	14	12	2
เฉลี่ย(x)	4	1	0.70 ^a	0.30 ^a		0.86 ^b	0.14 ^b
ร้อยละ (%)	100	25	70 ^a	30 ^a		85.71 ^b	14.29 ^b

หมายเหตุ a คัดจากกลุ่มจำนวนโคไม่ เป็นสัด

b คัดจากกลุ่มจำนวนโคที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน

ข้อสังเกตในการวิจัย

จากตารางแสดงผลการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ให้กับแม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดในฟาร์มของเกษตรกร จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 20 ฟาร์มในปี พ.ศ. 2556 พบว่าโคที่มีปัญหาไม่แสดงอาการเป็นสัด 20 ตัว โคที่มี ปัญหาไม่แสดงอาการเป็นสัดและตรวจพบคอร์ปัสลูเทียม

14 ตัว โคที่มีปัญหาไม่แสดงอาการเป็นสัดและตรวจไม่พบ คอร์ปัสลูเทียม 6 ตัว ทำการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ให้กับโค ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดและตรวจพบคอร์ปัสลูเทียม ทั้งหมด 14 ตัว พบว่ามีโคแสดงอาการเป็นสัดหลังได้รับ การฉีดฮอร์โมน PGF2 α 12 ตัว มีโคไม่แสดงอาการเป็น สัดหลังได้รับการฉีดฮอร์โมน 2 ตัว คิดเป็นร้อยละได้ ดังนี้

โคที่มีปัญหาไม่แสดงอาการเป็นสัดและตรวจพบคอร์ปัสลูเตียมร้อยละ 70 โคที่มีปัญหาไม่แสดงอาการเป็นสัดและตรวจไม่พบคอร์ปัสลูเตียมร้อยละ 30 โคแสดงอาการเป็นสัดหลังได้รับการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ร้อยละ 85.71 โคไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังได้รับการฉีดฮอร์โมนร้อยละ 14.29 และเมื่อนำผลร้อยละมาเปรียบเทียบกับระหว่างโคแสดงอาการเป็นสัดหลังได้รับการฉีดฮอร์โมนกับโคไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังได้รับการฉีดฮอร์โมนพบว่าโคแสดงอาการเป็นสัดหลังได้รับการฉีดฮอร์โมนมีค่าเฉลี่ยที่มากกว่าโคไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังได้รับการฉีดฮอร์โมนร้อยละ 71.43

วิจารณ์ผลการวิจัย

เนื่องจากเกษตรกรที่เลี้ยงโคส่วนใหญ่จะไม่มีการจดบันทึกการจัดการฟาร์มแต่จะมีเพียงการจดบันทึกการผสมพันธุ์ ซึ่งไม่ค่อยละเอียดเท่าที่ควร ข้อมูลส่วนใหญ่จึงมาจากความจำมากกว่า แต่จากข้อมูลหลายฟาร์มที่ตอบข้อซักถามพบว่าให้ข้อมูลได้ใกล้เคียงกันซึ่งวิเคราะห์ได้ว่าแม่โคหลังจากที่คลอดลูกแล้วจะไม่แสดงอาการเป็นสัดให้เห็นการที่แม่โคไม่แสดงอาการเป็นสัดมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องเช่น อาหาร การจัดการ สุขภาพของแม่โค ฮอร์โมน เป็นต้น การคงค้างของคอร์ปัสลูเตียมบนรังไข่ทำให้แม่โคไม่แสดงอาการเป็นสัด สอดคล้องกับสมพร (2538) และวิโรจน์ (2540) ที่ว่าการมีคอร์ปัสลูเตียมคงค้างอยู่จะผลิตฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ฮอร์โมนนี้มีบทบาท คือ ช่วยดูแลการตั้งท้องโดยการลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกช่วยให้ต่อมต่างๆ ในมดลูกเจริญเติบโตเพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอ ช่วยกระตุ้นการเจริญพัฒนาของกระเพาะสร้างน้ำนมและยับยั้งการหลั่ง GnRH กดไม่ให้หลังฮอร์โมนที่มีฤทธิ์แสดงอาการเป็นสัดออกมา ส่วนแม่โคที่ไม่พบคอร์ปัสลูเตียมน่าจะมียาระดับของฮอร์โมนที่มีฤทธิ์แสดงอาการเป็นสัดต่ำจึงทำให้ไม่แสดงพฤติกรรมอาการเป็นสัดให้เห็นและเมื่อทดลองฉีดฮอร์โมน PGF2 α ขนาด 500 ไมโครกรัม/ครั้ง ให้แม่โคที่มีคอร์ปัสลูเตียมพบว่าสามารถทำให้แม่โคแสดงอาการเป็นสัดได้ ดังนั้นการที่นำฮอร์โมน PGF2 α มาช่วยจัดวงจรรอบการเป็นสัดน่าจะมีประสิทธิภาพสอดคล้องกับการทดลองของพรรณพิไลและไกรวรรณ (2548) และ สุภาพรรณ (2543) สามารถเหนี่ยวนำให้โคนมเป็นสัดโดยใช้สาร PGF2 α ซึ่งเป็นฮอร์โมนระบบสืบพันธุ์ที่มีฤทธิ์ต่อคอร์ปัสลูเตียมเพื่อ

พร้อมรับการผสมครั้งต่อไปสอดคล้องกับการทดลองของสุณิรัตน์ และคณะ (2538) โคสาวลูกผสมถูกเหนี่ยวนำให้เป็นสัดโดย PGF2 α มีโคที่ตอบสนองคิดเป็น 53% แสดงอาการเป็นสัดและสอดคล้องกับการทดลองของ วีระศักดิ์ (2543) การใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่พร้อมกันในโคนมโดยใช้ฮอร์โมน PGF2 α สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโคนมช่วงหลังคลอดภายใน 90 วัน นอกจากนี้การทดลองของรักตภา และคณะ (2555) ยังอธิบายว่าการใช้ฮอร์โมน Altrenogest ซึ่งอยู่ในกลุ่มของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ก่อให้เกิดผลเหมือนโปรเจสเตอโรนสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัดในแม่ม้าไทยพื้นเมืองหลังจากที่ให้กินติดต่อกัน 15 วันแล้วหยุด

สรุปผลการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้เพื่อการศึกษาผลของการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ในโคเนื้อพันธุ์ผสมฮินดูบราซิลเพื่อจัดรอบการเป็นสัดในจังหวัดมหาสารคามโดยเปรียบเทียบผลจากร้อยละแม่โคที่แสดงอาการเป็นสัดหลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมน PGF2 α กับแม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมน PGF2 α พบว่าโคแสดงอาการเป็นสัดหลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมน PGF2 α มีค่าเฉลี่ยที่มากกว่าโคไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมนร้อยละ 71.43 และจากการดูประวัติการผสมพันธุ์ของแม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังจากที่คลอดลูกเมื่อทำการสังเกตวงจรระบบสืบพันธุ์พบว่าในจำนวนแม่โคที่มีปัญหาทั้งหมด 20 ตัว แม่โค 14 ตัวมีการคงค้างของคอร์ปัสลูเตียม ส่วนอีก 6 ตัว ไม่พบคอร์ปัสลูเตียมเมื่อทำการฉีดฮอร์โมน PGF2 α ให้ทั้ง 14 ตัว ปรากฏว่ามีแม่โค 12 ตัว สามารถแสดงอาการเป็นสัดคิดเป็น 85.71% ดังนั้นหากแม่โคไม่แสดงอาการเป็นสัดที่ตรวจพบคอร์ปัสลูเตียมจึงควรจัดวงจรรอบการเป็นสัดให้โดยการฉีดฮอร์โมน PGF2 α สอดคล้องกับการทดลองของพรรณพิไลและไกรวรรณ (2548) และการทดลองของ สุภาพรรณ (2551) สามารถเหนี่ยวนำให้โคนมเป็นสัดโดยใช้สารพรอสตาแกลนดิน ซึ่งเป็นฮอร์โมน PGF2 α ที่มีฤทธิ์ต่อคอร์ปัสลูเตียมเพื่อพร้อมรับการผสมครั้งต่อไปสอดคล้องกับปราจีน (2520) ที่ว่าสาร PGF2 α มีประสิทธิภาพในการทำให้คอร์ปัสลูเตียมฝ่อตัวลงระหว่างวันที่ 5-6 และ 18 ของรอบการเป็นสัดปกติ ในโคหลังจากฉีดสารนี้ในระยะเวลาดังกล่าวพบว่าระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะลดลงอย่าง

รวดเร็วภายใน 12 ชม. และลดต่ำสุดใน 24 ชม. และโคจะแสดงอาการเป็นสัด (estrus) ประมาณ 72 ชม. และสอดคล้องกับธรรมชาติ (2537) ที่ว่าการเหนี่ยวนำให้คอร์ปัสลูเทียมในวงจรการเป็นสัดนั้นปล่อยเร็วกว่าปกติทำให้เป็นสัดเร็วขึ้นและพร้อมกัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สามารถสำเร็จลงได้ด้วยดี โดยได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

- ธัญญาพร ไชยคุณ. 2551. ประสิทธิภาพของโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในกระบือปลักในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พรรณพิไล เสกสิทธิ์ และ ไกรวรรณ หงษ์ยंत्रชัย. 2548. การผสมไม่ติดในโคนมที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยพรอสตาแกลนดินและโคนมที่เป็นสัดตามปกติ. สัตวแพทยสาร 56(1): 16-24.
- ปราจีน วีรกุล. 2520. การเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัดพร้อมกันในปศุสัตว์. การอบรมวิชาการสรีรวิทยา-พยาธิวิทยา ครั้งที่ 4. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 43-50 น.
- ปราจีน วีรกุล. 2530. เหนือเวชวิทยา. ภาควิชาสัตวศาสตร์เหนือเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- รักตากา ไบสีจวง, ธนากร พจน์ประสาท, นิติพล ศรีอ่อนรอด, คมเปล่ง วิจิตร, วีรภัทร พิณสุวรรณ, สุปรีดา พันธหอม และ อติญา จินตสมธ. 2555. ประสิทธิภาพการประยุกต์ใช้ของฮอร์โมน Altrenogest (Regumate porcine ®) ต่อวงจรการเป็นสัดในแม่ม้าไทยพื้นเมือง. สัตวแพทยมหาสารคาม 7(2): 71-75.
- วิโรจน์ จันทรัตน์. 2540. กายวิภาคและสรีรวิทยาของสัตว์เลี้ยง. พิมพ์ครั้งที่ 2. หน้า 791-848.
- วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา. 2543. การเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์โดยใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่พร้อมกันในโคนม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุนิรัตน์ เอี่ยมละมัย, โชคชัย ชัยมงคล, ถาวร ถมมาลี, โกวิท นิธิชัย และ อันส์ คินดอลล์. 2538. ศึกษาระดับฮอร์โมนและการเปลี่ยนแปลงของระบบสืบพันธุ์ในการเหนี่ยวนำให้เป็นสัดในโคสาวโดยสารโปรสตาแกลนดินเอพทูอัลฟา. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33. 30 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ 2538. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 412-415 น.
- สุภาพรณ บุตรเจริญ. 2543. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนมโดยวิธีฉีดพรอสตาแกลนดินเอพทูอัลฟาเข้ามดลูก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สมพร ดวนใหญ่. 2538. การผสมเทียมโค. คณะเกษตรและอุตสาหกรรม สถาบันราชภัฏอุบลราชธานี. อุบลราชธานี.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร. (สืบค้นเมื่อ 17 สิงหาคม 2556) Available from: URL: http://www.moac.go.th/ewt_news.php?nid=13577
- อรรณพ คุณวาทย์กฤต. 2537. วิทยาการสืบพันธุ์สุกร. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 43-58.

Cell Viability and Cytotoxic Testing of Seventeen Asian Plant Extracts toward MARC-145 Cells by MTT Assay

Kraijak Kaewprom^{1,3,*}, Chao-Nan Lin^{1,2}, Ming-Tang Chiou^{1,2}

¹Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan

²Animal Disease Diagnostic Center, College of Veterinary Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan

³Program of Veterinary Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham, Thailand

Abstract

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is characterized by reproductive failure of sows and respiratory problems of nursery and growing pigs. Present management strategies mainly focus on the prevention of infection using vaccination but are not sufficient to prevention. Previous studies have discovered a few natural compounds and compositions that have antiviral activities on PRRSV. Therefore, the aim of this study is to evaluate the cell cytotoxicity effect of 17 Asian plant extracts on MARC-145 cells using a 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay before application to the anti-PRRSV evaluation *in vitro*. The maximum non-cytotoxic concentration (MNCT) was used to determine the 90% cell viability detection. The results showed that cytotoxicity of tested compounds were different compounds on the same cell varied remarkably. Three compounds were *Houttuynia cordata*, *Artemisia argyi* and *Pogostemon cablin* had a low toxicity with MNCT of 2^{-2} dilution. Eleven compounds were presented a moderate toxicity with MNCT ranged from 2^{-3} - 2^{-6} dilution. While three compounds were *Curcuma longa*, *Acorus macrospadiceus* (stem) and *Acorus macrospadiceus* (leaf) had a high toxicity with MNCT of $\geq 2^{-11}$ dilution. This study indicates that some compounds had not cytotoxicity on MARC-145 cells and may be useful for future application to the anti-PRRSV evaluation *in vitro*.

Keywords: Plant extracts, MTT assay and cytotoxicity

*Corresponding author: E-mail: kkraijak@yahoo.com

การทดสอบความเป็นพิษของพืชสมุนไพร 17 ชนิดของเอเชียต่อเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด MARC-145 cells ด้วยวิธี MTT Assay

ไกรจักร แก้วพรหม^{1,3,*}, ฉาว นาน หลิน^{1,2}, หมิง ตัง โฉว^{1,2}

¹ภาควิชาสัตวแพทยศาสตร์ วิทยาลัยสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติผิงตุง ผิงตุง
ประเทศไต้หวัน

²ศูนย์ชั้นสูงและวิจัยโรคสัตว์ วิทยาลัยสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติผิงตุง ผิงตุง
ประเทศไต้หวัน

³สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม มหาสารคาม ประเทศไทย

บทคัดย่อ

โรค PRRS ในสุกรเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความล้มเหลวของระบบสืบพันธุ์ในแม่สุกรและก่อให้เกิดความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจของลูกสุกรในระยะอนุบาลและกำลังเจริญเติบโต ปัจจุบันแนวทางการในการจัดการส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่การป้องกันการติดเชื้อโดยการฉีดวัคซีนแต่ไม่สามารถที่จะกำจัดไวรัสและกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกายสุกรได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ได้ค้นพบว่ามีสารสกัดจากธรรมชาติและองค์ประกอบของสารบางชนิดมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัส PRRSV ได้ ดังนั้นจุดมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ คือ ประเมินความเป็นพิษของพืชสมุนไพรจากธรรมชาติที่พบในเอเชีย จำนวน 17 ชนิด ต่อเซลล์เพาะเลี้ยง MARC-145 ด้วยวิธี MTT assay ก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการต้านเชื้อไวรัส PRRSV ต่อไป โดยประเมินระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง (MNCT) ที่ระดับการมีชีวิตของเซลล์ 90% ผลการศึกษาพบว่าความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชสมุนไพรมีความแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยพืชสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ *Houttuyniacordata*, *Artemisia argyi* และ *Pogostemoncablin* มีความเป็นพิษต่ำที่ระดับความเข้มข้น 2^{-2} . พืชสมุนไพรจำนวน 11 ชนิด มีความเป็นพิษปานกลางที่ระดับความเข้มข้น 2^{-3} - 2^{-6} ในขณะที่พืชสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ *Curcuma longa*, *Acorusmacrospadiceus* (stem) และ *Acorusmacrospadiceus* (leaf) มีระดับความเป็นพิษสูงที่ระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 2^{-11} ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด MARC-145 และจำเป็นต้องมีการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมในการทดสอบความสามารถในการป้องกันโรค PRRSV ในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป

คำสำคัญ: สารสกัดพืชสมุนไพร, วิธีทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ และ ความเป็นพิษต่อเซลล์

* ผู้เขียนที่ติดต่อ: E-mail:kkrajak@yahoo.com

Introduction

Medicinal plants have a great potential for producing new drugs for human benefit. According to a report of World Health Organization, more than 80% of world's populations depend on traditional medicine for their primary health care needs (Duraipandiyan *et al.*, 2006). In general, natural compounds constitute a major source of effective pharmacological agents including, artemisinin, antitumor, alkaloids, opiates, salicylates, etc. (Rajbhandari *et al.*, 2009; Mishra and Tiwari, 2011). Hence, cytotoxic level of medicinal plants must also be evaluated against host cells. The safety of plants as a potential therapeutically agents must be ascertained and the side effects should be acceptable to the host (Morobe *et al.*, 2012). Therefore a determination of the cytotoxicity level of any medicinal plant will reveal its safety as a potential therapeutic agent. Bioactive compounds with no or less toxic effect to the host are the good candidates for formulation of drugs. *In vitro* cytotoxicity screening models provide important preliminary data to help select plant extracts with potential antiviral properties for future work. Currently, the non-radioactive, calorimetric assay system using MTT assay has been widely used for evaluating cell viability *in vitro*. The assay measures the conversion of MTT into purple-colored MTT formazan by living cells and decrease in cellular MTT reduction could be an index of cell damage (Abe and Matsuki, 2000). Previous studies have discovered a few natural compounds and compositions that have antiviral activities swine disease (Cheng *et al.*, 2013). Consequently this study determined the cytotoxic activities of aqueous extracts of seventeen Asian natural herb extracts on MARC-145 cells by MTT assay in order

to gauge their usefulness as potential candidates for application to the anti-PRRSV evaluation *in vitro*.

Methodology

1. Reagents

Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Sigma, USA) supplemented with 10% or 5% heat-inactivated fetal calf serum (FCS; Hyclone, USA), 100 IU/ml Penicillin G and 50 µg/ml Streptomycin was used for cell growth or maintenance medium. A 0.25% trypsin (Amresco, USA) was prepared in pH 7.2 PBS. A 0.5% 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Amresco) was prepared in PBS (pH 7.4). These solutions were sterilized by a 0.22 µm Millipore membrane filter and aliquots made for future use. Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Avator, USA), methanol (Merck KGaA, Germany), acetone (Merck KGaA, Germany), fluorescein goat anti-mouse IgG (H+L) (Sigma, USA), anti-mouse IgG (whole molecule)-FITC, product in Goat, Affinity isolated antibody (Sigma, USA). The DMEM, fluorescein goat anti-mouse IgG (H+L) and anti-mouse IgG (whole molecule)-FITC were stored at 4°C, whereas MTT and trypsin were stored at -20°C. DMSO, methanol and acetone were stored at room temperature.

2. Preparation of the natural plant extracts

The seventeen herbs (Table 1) were cultivated in experimental field of Taichung District Agricultural Research and Extension Station. Aerial part of plants was harvested at maturity then subjected to distillation immediately. Hydrosol was collected using an Essential Oil Distiller (Kou-Chou Instrument Co.). In brief, 10 kg of fresh leaves was distilled with 30 L of water; the vapor was

condensed to collected hydrosol until the volume of hydrosol reached 2 L. Subsequently, the plant extracts aliquot, stored at the room temperature and prevent sunlight exposure.

3. MARC-145 cells culture

African green monkey kidney (MARC-145) cells were cryopreserved at -196°C in DMEM supplemented with a 10% fetal calf serum (FBS), and 10% DMSO. Prior to use, MARC-145 cells were suspended at concentrations of 5×10^3 cell/well in 96-well plates for MTT assay and IFA assay and 1×10^5 cell/ml 48-well plates for antiviral assay, maintained in DMEM supplemented with a 10% FBS, penicillin (100 U/ml) and streptomycin (50 µg/ml), were incubated 24 hours at 37°C with 5%CO₂ before added each compound to MARC-145 cells.

4. Cell viability and Cytotoxicity assay

Cell viability and cytotoxicity of 17 natural compounds was investigated using a MTT assay (Cheng *et al.*, 2013). Briefly, each compound was made by a 2-fold serially dilution. The MARC-145 cells were suspended in 100 µl of 5% DMEM in 96-well plates. After 24 hours of incubation, 200 µl of medium containing different concentrations of each compounds was added to the each well, followed by incubation for 72 hours. Medium without any compound was used as a control. To evaluate cell viability, 100 µl of MTT solution (5mg/mL in NaCl) was added to the each well, then incubated for 4 h at 37°C in a humidified atmosphere containing 5% CO₂. Subsequently, the supernatant was removed and 100 µl of DMSO was added to each well in order to dissolve the formazan crystals. After gently shaking the plates for 30 min, the absorbance was read on an ELISA reader which is proportional to the number of

viable cells, was measured at 570 nm using a ELISA reader. The maximum non-cytotoxic concentration (MNTC) was calculated as the concentration required to retain cell viability by 90% (Chen *et al.*, 2010). The percentage of viability was calculated as the following formula: % cell viability = (OD of drug-treated sample/OD of untreated sample) X 100. Four replicates were carried for each compound.

Result and discussion

1. Morphological changes

MTT method monitored using microscopy were used to determine the MNTC of hydrosol compounds in MARC-145 cells treated with different concentrations of hydrosol compounds 72 hours. As shown in Figure 1, the cytotoxicity to MARC-145 cells was closely related with the concentrations of hydrosol compounds. Specifically, compared with cell only control of *C. longa*, *A. macrospadiceus* (stem) and *A. macrospadiceus* (leaf) compound striated MARC-145 cells displayed remarkable high toxicity by morphological changes such as detachment of monolayer, cell disruption, particularly vacuolization, granulation, lyses, pyknosis, condensation, darkening of cell boundaries, and cell detachment, similar Cheng *et al.*, (2013) study on *In vitro* screening for compounds derived from traditional Chinese medicines with antiviral activities against porcine reproductive and respiratory syndrome virus.

However, we found that *H. cordata*, *A. argyi* and *P. cablin* compounds were showed a low toxicity with MNTC from appeared a little morphological change and high cell viability. In addition, we found that some compound promoted the high cell viability more than 100%

such as *C. sinensis*, *M. spicata* (Fig. 2). These compounds have chemical contents to exhibited excellent antioxidant activity (Govindarajan *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2010).

2. Cytotoxicity effect

Cytotoxicity assays are essential for the initial phases of antiviral drug development. The maximum non-cytotoxic concentration (MNTC) was calculated as the concentration required to retained cell viability by 90%. In this study, we found that *H. cordata*, *A. argyi* and *P. cablin* were showed a low toxicity with MNTC of 2^{-2} dilution. Eleven compounds were *C. sinensis*, *A. officinarum*, *N. cataria*, *M. spicata*, *C. cassia*, *P. frutescens*, *V. negundo*, *A. gramineus* (Stem), *A. gramineus* (Leaf), *M. arvensis* and *A. galangal*, were presented a moderate toxicity with MNTC ranged from 2^{-3} - 2^{-6} dilution. In addition, some extracts of many dilutions had the % cell viability > 90 (Table 1 and Figure 2).

While *A. macrospadiceus* (stem), *A. macrospadiceus* (leaf) and *C. longa* were showed a high toxicity with MNTC of $\geq 2^{-11}$ dilution. The *C. longa* is cultivated in tropical and subtropical regions. Depending on its origin and the soil conditions where it is grown, turmeric contains 2%–9% curcuminoids indicates a group of compounds such as curcumin, demethoxycurcumin, cyclic curcumin and bis-demethoxycurcumin. Out of these, curcumin is the major component, and cyclic curcumin is the minor component (Priyadarsini, 2014). The volatiles from the leaves and rhizomes of *Acorus spp.* found that methylchavicol (54.01%) is the major constituent of *A. macrospadiceus* essential oil and Nootkatone (15.92%) is the major ketone in this essential oil (Huang *et al.*, 2012). However, the other chemical components in this essential oil were different from those of the other

Acorus spp. (Du *et al.*, 2008). In this results, we suggested that the *A. macrospadiceus* and *C. longa* compounds not suitable for MARC-145 cells culture.

The cytotoxicity of hydrosol compounds were found to be in a dose-dependent manner with the concentrations employed (Figure 2). Increasing concentrations of compounds will decrease the cell viability. However, when decreasing concentrations of some hydrosol compounds will high increase the cell viability such as *C. sinensis* and *M. spicata*. *C. sinensis* contain up to 14% of total polyphenols and 7% of flavonoids (Rana *et al.*, 2015), constituents have stronger antioxidant and antibacterial properties (Chen *et al.*, 2011), and also *M. spicata* had good total phenolic and flavonoid contents. It exhibited excellent antioxidant activity (Kanett *et al.*, 2007; Snoussi *et al.*, 2015; Govindarajan *et al.*, 2012). We know that an antioxidant is a molecule that inhibits the oxidation of other molecules. Oxidation is a chemical reaction that can produce free radicals, leading to chain reactions that may damage cells (Aruoma *et al.*, 1999; Adiguzei *et al.*, 2009).

Conclusion

This study indicates that the 3 compounds showed strong toxicity while the 14 compounds had a low - moderate toxicity on MARC-145 cells. We suggested that the compound showed high toxicity not suitable for MARC-145 cells culture but low-moderate toxicity compounds will be used to application on anti-PRRSV in the future research. In addition, also some compounds promoted cell viability.

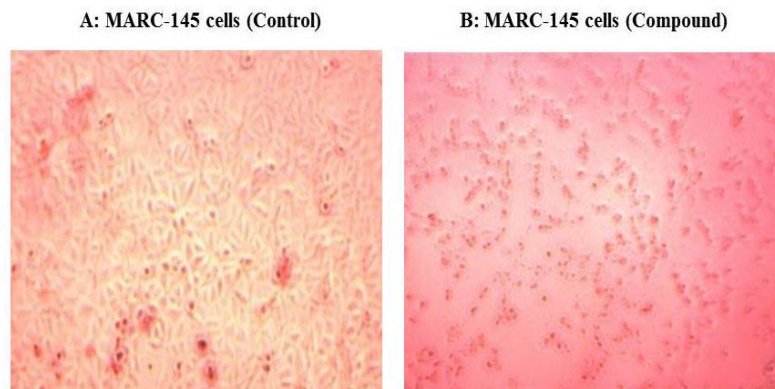


Fig. 1 Cytotoxicity tested of extracts on MARC-145 cells; the cytotoxicity of compounds on Marc-145 cells was in a dose-dependent manner. MARC-145 morphological changes were observed daily and were photographed using a microscope at a magnification of 100x. A: control group; MARC-145 cells normal morphological shape and B: compound group; MARC-145 cells underwent more morphological changes such as lyses, granulation, pyknosis, condensation, vacuolization in the cytoplasm, darkening of cell boundaries and cell detachment

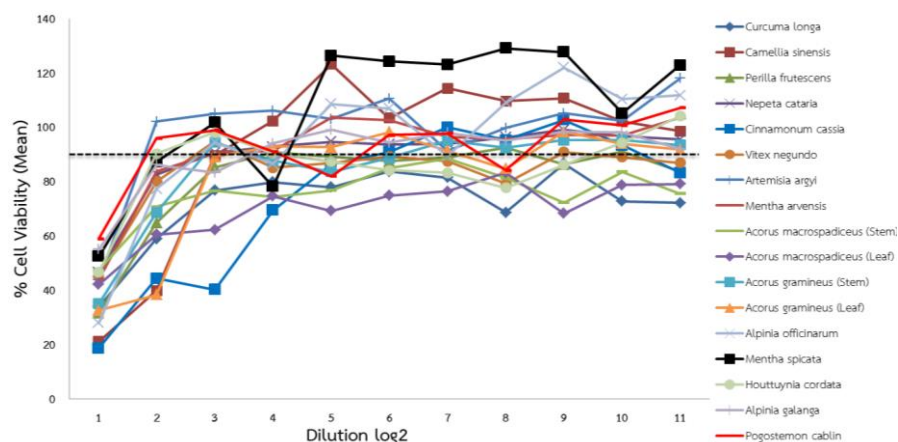


Fig. 2 Effect of 17 Asian plant extracts on the viability of MARC-145 cells based on MTT assay. The % cell viability of Marc-145 cells was calculated as the concentration required to retained cell viability by 90% in a dose-dependent manner which clearly indicated that the cytotoxicity of different compounds on the same cell varied remarkably. The results represent mean $\pm$ SEM, n = 4

Table 1 The cytotoxicity results of 17 Asian herb extracts at 2 fold serially dilution in MARC-145 cells after 72 hours of incubation.

No.	Herbs	Maximum non-cytotoxicity concentration (Dilution log2)
1	<i>Camellia sinensis</i>	2^{-4}
2	<i>Curcuma longa</i>	$>2^{-11}$
3	<i>Alpiniaofficinarum</i>	2^{-3}
4	<i>Nepetacataria</i>	2^{-3}
5	<i>Menthaspicata</i>	2^{-3}
6	<i>Cinnamomum cassia</i>	2^{-6}
7	<i>Perillafrutescens</i>	2^{-4}
8	<i>Vitexnegundo</i>	2^{-3}
9	<i>Acorusmacrospadiceus</i> (Stem)	$>2^{-11}$
10	<i>Acorusmacrospadiceus</i> (Leaf)	$>2^{-11}$
11	<i>Acorusgramineus</i> (Stem)	2^{-3}
12	<i>Acorusgramineus</i> (Leaf)	2^{-4}
13	<i>Houttuyniacordata</i>	2^{-2}
14	<i>Artemisia argyi</i>	2^{-2}
15	<i>Menthaarvensis</i>	2^{-3}
16	<i>Alpiniagalanga</i>	2^{-4}
17	<i>Pogostemoncablin</i>	2^{-2}

References

- Abe, K. and Matsuki, N. 2000. Measurement of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol -2-y-l)-2,5-diphenyltetrazolium (MTT). *Neurosci Res* 38: 325-329.
- Adiguzei, A., Ozer, H., Sokmen, M., Gulluce, M., Sokmen, A., Kilic, H., Sahin, F. and Baris, O. 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Nepeta cataria*. *Pol J Microbiol* 58: 69-76.
- Aruomaa, O.I., Spencerb, J.P.E. and Mahmoodc, N. 1999. Protection against oxidative damage and cell death by the natural antioxidant ergothioneine. *Food Chem Toxicol* 37 (11):1043-1053.
- Chan, W.C.E., Soh, Y.E., Tie, P.P. and Law, P.Y. 2011. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Res.* 3(4):266-272.
- Chen, M.Z., Xie, H.G., Yang, L.W., Liao, Z.H. and Yu, J. 2010. In vitro anti-influenza virus activities of sulfated polysaccharide fractions from *Gracilaria lemaneiformis*. *Virol Sin*25: 341-351.
- Cheng, J., Sun, N., Zhao, X., Niu, L., Song, M., Sun, Y., Jiang, J., Guo, J., Bai, Y., He, J. and Li, H. 2013. *In vitro* screening for compounds derived from traditional chinese medicines with antiviral activities against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Microbiol Biotechnol* 23: 1076-1083.
- Du, Z., Clery, R.A. and Hammond, C.J. 2008. Volatiles from leaves and rhizomes of fragrant *Acorus spp.* (Acoraceae). *Chem Biodivers* 5(6): 887-895.
- Duraipandiyan, V., Ayyanar, M. and Ignacimuthu, S. 2006. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *BMC Complement Altern Med* 6: 35.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswari, M. and Yogalakshmi, K. 2012. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. *Parasitol Res* 110(5): 2023-2032.
- Huang, H.C., Wang, H.F., Yih, K.H., Chang, L.Z. and Chang, T.M. 2012. The dual antimelanogenic and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of *Acorus macrospadiceus* (Yamamoto) F. N. Wei et Y. K. Li. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012: 10 p.
- Mishra, B.B. and Tiwari, V.K., 2011. Natural products: an evolving role in future drug discovery. *Eur J Med Chem* 46: 4769-4807.
- Morobe, I.C., Mthethwa, N.S., Bisi-Johnson, M.A., Vasaikar, S.D., Obi, C.L., Oyedeji, A.O., Kambizi, L, Eloff, J.N. and Hattori, T. 2012. Cytotoxic effects and safety profiles of extracts of active medicinal plants from South Africa. *Afr J Microbiol Res* 2(6): 176-182.
- Priyadarsini, K.I. 2014. The chemistry of Curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules* 19: 20091-20112.
- Kanatt, R.S., Chander, R. and Sharma, A. 2007. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chem* 100 (2): 451-458.

- Rajbhandari, M., Mentel, R., Jha, P.K., Chaudhary, R.P., Bhattarai, S., Gewali, M.B., Karmacharya, N., Hipper, M. and Lindequist, U., 2009. Antiviral activity of some plants used in Nepalese traditional medicine. *Evid Based Complement Alternat Med* 6: 517-522.
- Rana, A., Singh, P.H. and Gulati, A. 2015. Investigation of major phenolic antioxidants from *Camellia sinensis* fruits. *Cogent Chemistry* 1(1):1-8.
- Snoussi, M., Noumi, E., Trabelsi, N., Flamini, G., Papetti, A. and De Feo, V. 2015. *Mentha spicata* Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Planktonic and Biofilm Cultures of *Vibrio* spp. Strains. *Molecules* 20(8):14402-24.

Effects of Supplementation of Exogenous Fibrolytic Enzyme Enhances on Gas Production, Digestibility and Rumen Fermentation of Rice Straw by Using *In vitro* Gas Production Technique

Chantira Wongnen, Chalong Wachirapakorn* and Naphongphot Suphrap

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

Abstract

This study was conducted by using an *in vitro* gas production technique to study the level of enzyme supplements. Dietary treatments were total mixed ration without (control) and with exogenous fibrolytic enzyme (EFE) supplementation at 250, 500 and 750 mg/kg DM, respectively. The *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD), *In vitro* organic matter digestibility (IVOMD), metabolizable energy (ME), ammonia nitrogen (NH₃-N), total digestible nutrient (TDN), the partitioning factor of incubation (PF) and microbial crude protein (MCP) at 24 h. after incubation of EFE supplementation at 500mg/kg DM diets was higher than control group and EFE supplementation at 250 and 750mg/kg. This result confirmed that EFE supplementation at 500 mg/kg DM was the suitable level to enhance fiber degradation and improve energy density and end product of fermentation of TMR with 50% rice straw and 50% concentrate.

Keywords: Exogenous fibrolytic enzyme, Rice straw and *In vitro* gas production technique

* Corresponding author: C. Wachirapakorn, E-mail: chal_wch@kku.ac.th

ผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากภายนอกเพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตแก๊ส
ประสิทธิภาพการย่อยได้และกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนของฟางข้าว
โดยเทคนิค *in vitro* gas production technique

จันทิรา วงศ์เณร, ฉลอง วชิราภากร* และ ณพพงษ์พนธ์ สุภาพ

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ดำเนินการโดยใช้เทคนิค *in vitro* gas production technique เพื่อศึกษาระดับเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากภายนอกโดยอาหารทดลองเป็นอาหารผสมสำเร็จที่ไม่มีการเสริม (ควบคุม) และเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากภายนอก (EFE) ที่ระดับ 250, 500 และ 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอินทรีย์วัตถุ พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (ME) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH₃-N) โภชนะที่ย่อยได้รวม (TDN) การใช้ประโยชน์อาหารจากการบ่ม (PF) และจุลินทรีย์โปรตีน (MCP) ณ เวลา 24 ชั่วโมง หลังการบ่มของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากภายนอกที่ระดับ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร สูงกว่ากลุ่มควบคุมและอาหารเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากภายนอกที่ระดับ 250 และ 750 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ซึ่งยืนยันว่าการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากภายนอกที่ระดับ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร เป็นระดับที่เหมาะสมในการเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายเยื่อใยและเพิ่มความหนาแน่นของพลังงานและผลผลิตจากระบวนการหมักของอาหารผสมสำเร็จที่ประกอบด้วยฟางข้าวและอาหารข้นในสัดส่วน 50:50

คำสำคัญ: เอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากภายนอก ฟางข้าว และ *in vitro* gas production technique

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: chal_wch@kku.ac.th

Introduction

Tropical feed resources, predominantly low-quality roughages and agricultural crop-residues are of major importance for ruminants. These feedstuffs show significant relationships with rumen microbial ecology and rumen fermentation arrangements (Wora-anu *et al.*, 2007). Animal feed ingredients could deep impact on ruminal fermentation, specifically the roughage sources, their physical form and relevance of microbial end-product (Wanapat *et al.*, 2000). Rice straw is main roughage source for ruminants in Thailand. Generally, rice straw is low in protein, energy and low digestibility. Structural carbohydrates are those that are resistant to the ruminant's digestive enzymes. Neutral detergent fiber (NDF) is fewer digestible than non-fiber carbohydrates (Safari *et al.*, 2011); therefore, NDF content in animal feeds or diets is strongly negatively correlated on the release rate of nutrients. Due to low digestibility of NDF by ruminants, amount of forage intake have been limited by NDF content in roughage. Concentrate were used to full fill the energy requirement in ruminants. However, presently, energy sources (cassava chip and corn) were used by another industry, ethanol, together and costs of energy sources were higher. Increasing the proficiency with which the ruminal micro biota degrades roughage significance to increase energy available and decrease feed cost.

Several previous studies showed that exogenous fibrolytic enzymes have been used to improve the nutritive value of fiber-rich diets

and the performance of cattle (Kung *et al.*, 2000; Elwakeel *et al.*, 2007), sheep (Cruywagen and van Zyl, 2008), and goats (Titi, 2003). Moreover, supplementation of exogenous fibrolytic enzymes (cellulase and xylanase) resulting to increase voluntary feed intake, digestibility of nutrient content, ruminal fermentation and animal production performance in ruminants. Therefore, the objectives of this trial will be investigated the use of exogenous fibrolytic enzyme (EFE) to improve feed efficiency of rice straw in ruminants.

Methodology

This experiment was operated by using an *in vitro* gas technique at several incubation times. The experimental design was conducted by using Completely Randomized Design (CRD). Basal diet was 50:50 rice straw and concentrate for total mixed ration (TMR) fed. Four dietary treatments were diets without exogenous fibrolytic enzyme supplementation (control) and with exogenous fibrolytic enzyme supplementation at 250, 500 and 750 g/1,000 kg DM, respectively.

The feed samples (200 mg) were incubated in 40 ml serum bottles essentially by the procedure of Makkar *et al.* (1995). The feedstuffs with and without exogenous fibrolytic enzymes agents were incubated in triplicate. The rumen fluid and particulate matter were collected before the morning feed from two dairy cattle fed on a roughage diet, homogenized, strained and filtered through four layers of cheese cloth. The glassware used

was kept at approximately 39°C and flushed with CO₂ before use. The rumen fluid (660 ml) was added to warm (about 39°C) and reduced medium consisting of 1095 ml distilled water, 730 ml rumen buffer solution (35.0 g NaHCO₃ and 4 g NH₄HCO₃ made up to 1 litre with distilled water), 365 ml macro-mineral solution (6.2 g KH₂PO₄, 5.7 g Na₂HPO₄, 2.22 g NaCl and 0.6 g MgSO₄ · 7H₂O made up to 1 litre with distilled water), 0.23 ml micro-mineral solution (10.0 g MnCl₂ · 4H₂O, 13.2 g CaCl₂ · 2H₂O, 1 g CoCl₂ · 6H₂O, 8.0 g FeCl₂ · 6H₂O and made up to 100 ml with distilled water), 1 ml resazurine (0.1 g made up to 100 ml with distilled water) and 60 ml freshly prepared reduction solution containing 580 mg Na₂S · 9H₂O and 3.7 ml 1 M-NaOH. The mixture was kept stirred under CO₂ at 39°C using a magnetic stirrer fitted with a hot plate. A portion (40 ml) of the rumen-fluid medium was transferred into each syringe and incubated in incubator at 39°C.

Dietary treatments were analyzed for DM and Ash using the procedure of AOAC (1997), NDF and ADF according to Van Soest *et al.* (1991).

The gas production was recorded at 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48, 72 and 96 h of incubation. Cumulative gas production data were fitted to the model of Ørskov and McDonald (1979) as follow

$$Y = a + b (1 - e^{-ct})$$

where a = the gas production from the immediately soluble fraction, b = the gas production from the insoluble fraction, c = the gas production rate constant for the insoluble

fraction (b), t = incubation time, (a+b) = the potential extent of gas production, y = gas production at time 't'. At 24 and 48 h post inoculation a set of sample was determined *in vitro* true digestibility according to Van Soest and Robertson (1985). The true digestibility was used to calculate microbial mass according to the method of Blummel *et al.* (1997)

Metabolizable energy (ME, MCal/kg DM), the partitioning factor of incubation (PF), gas yield (GY₂₄), short chain fatty acid concentrations (SCFA) and microbial crude protein (MCP) biomass production were mentioned in Salem *et al.* (2015). Metabolizable energy (ME, MJ/kg DM) and *in vitro* organic matter digestibility (IVOMD, g/kg OM) were estimated according to Menke *et al.* (1979) as: ME=2.20+0.136GP (mL/0.5 g DM) + 0.057CP (g/kg DM), where, GP is net GP in mL from 200 mg of dry sample after 24 h of incubation.

The partitioning factor of incubation (PF; a measure of fermentation efficiency) was calculated as the ratio of DM degradability *in vitro* (DMD, mg) to the volume (mL) of GP at 72 h according to Blümmel *et al.* (1997). Gas yield (GP₂₄) was calculated as the volume of gas (mL/g DM) produced after 24 h of incubation divided by the amount of DMD (g) as: Gas yield (GY₂₄) = Gas (mL/g DM)/DMD (g)

Short chain fatty acid concentrations (SCFA) were calculated according to Getachew *et al.* (2002) as: SCFA (mmol/200 mg DM) = 0.0222GP-0.00425, where, GP is the 24 h net gas production (mL/200 mg DM).

Microbial CP biomass production was calculated according to Blümmel *et al.* (1997) as : MCP (mg/g DM) = DMD (mg) – Gas (mL)×2.2 (mg/mL), where, 2.2 (mg/mL) is a stoichiometric factor which expresses mg of C, H and O required for production of SCFA gas associated with production of 1 mL of gas.

Statistical analysis

All data were analyzed as a Completely Randomize Design using the general linear procedure in PROC GLM of SAS (1996). The significant group differences were compared by Duncan's New Multiple Range Test and orthogonal polynomial contrast (Steel and Torrie, 1980)

Results and Discussion

The chemical composition

The chemical compositions of dietary treatments are shown in Table 1. Results of the proximate analysis showed the crude protein content in rice straw is 3.0%, 93.9% OM and 1.2% EE of dry matter basis. This results similarly reported by Napasirth *et al.* (2012) who reported the untreated rice straw contain 3.8% CP of dry matter basis. Moreover, forage fiber analysis for rice straw in this experiment are showed that the rice straw contained 80.7% NDF, 53.0 %ADF and 5.7 ADL. According to Togtokhbayar *et al.* (2015) who found that wheat straw contain more than 70% NDF on a dry matter (DM) basis, with less than 40% total digestive tract digestibility of the NDF, even under ideal feeding conditions (NRC, 2001).

Table 1 The chemical composition of dietary treatments

	DM, %	Chemical composition, % of DM basis						
		OM	Ash	CP	EE	NDF	ADF	ADL
Concentrate	96.3	93.4	6.7	11.0	1.1	33.2	11.4	3.6
Rice straw	93.8	93.9	6.1	3.0	1.2	80.7	53.0	5.7

DM = Dry Matter, OM = Organic Matter, CP = Crude Protein, EE = Ether Extract

NDF = Neutral Detergent Fiber, ADF = Acid Detergent Fiber, ADL = Acid Detergent Lignin

Gas production and gas characteristic

There were no effect ($P>0.05$) of EFE supplementation at doses of 0, 250, 500 and 750 mg/kg diets on the fermentation of the soluble fraction (a) (3.84, 2.95, 3.14 and 2.72 mL/0.2 gDM), the fermentation of the insoluble fraction (b) (50.4, 50.4, 49.7 and 51.1 mL/0.2

gDM), rates of gas production (c) (0.06, 0.057, 0.055 and 0.057 mL/h), potential of gas production (54.5, 53.4, 52.8 and 53.9 mL/0.2 gDM) and gas production at different incubation times (GP2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72 and 96) (Table 2, Fig. 1). These results agree with Salem *et al.*, 2015) who reported that treatment with

exogenous fibrolytic enzymes had no effect neither on parameters of GP nor on *in vitro* degradation and pattern of fermentation and no effect of dietary enzyme supplementation

on ruminal fermentation parameters was also noted in other studies (Beauchemin *et al.*,1999).

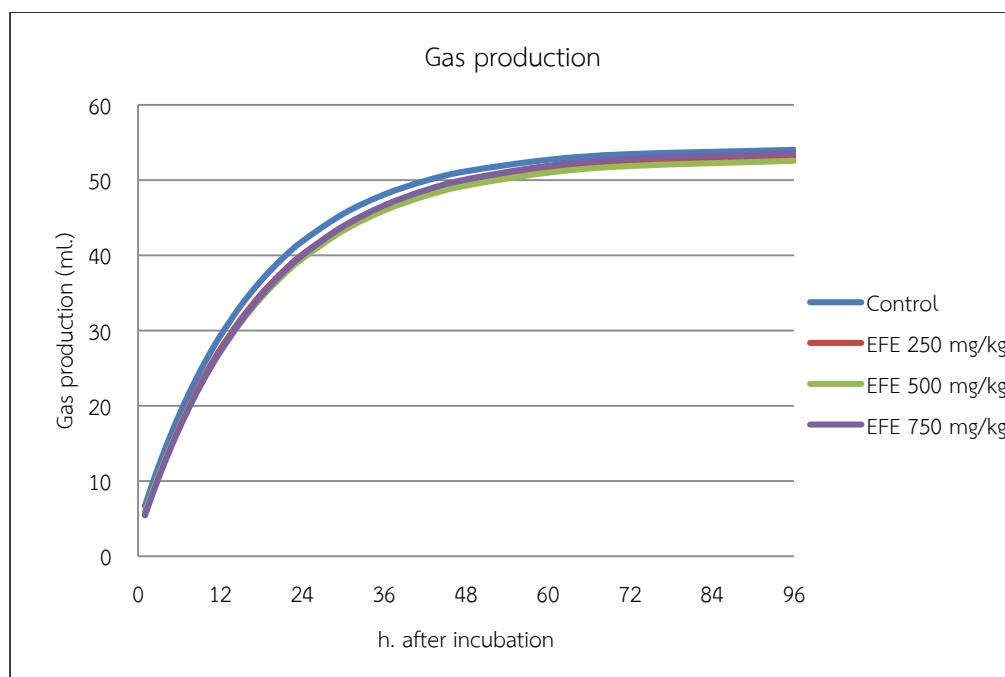


Fig. 1 Effect of exogenous fibrolytic enzymes (EFE) on gas accumulation of dietary treatments

However, GP6 ($P<0.05$) was cubically decrease ($P<0.01$) and GP4 was linearly decrease ($P<0.05$) with increasing level of EFE supplementation. Cumulative gas production volume at 4 and 6 h. after incubation was decreased by supplementing EFE, this result suggests that EFE supplementation was released more reducing sugars from forage (Colombatto *et al.*, 2003) and can promote a greater flow of carbon for volatile fatty acids and/or microbial protein synthesis (Mendoza *et al.*, 2014).

***In vitro* degradability and rumen metabolites**

The *in vitro* fermentation profiles are presented in Table 3. There were significantly

different of EFE supplementation for *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD, $P<0.01$), *in vitro* organic matter digestibility (IVOMD, $P<0.05$), metabolizable energy (ME, $P<0.05$), total digestible energy (TDN, $P<0.05$), the partitioning factor of incubation (PF, $P<0.05$), the gas yield (GY, $P<0.05$) and microbial crude protein production (MCP, $P<0.05$) at 24 h. after incubation, with no effect on ammonia-nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) and short chain fatty acid concentration (SCFA, $P>0.05$). Moreover, there were no effect ($P>0.05$) of treatments on all parameter measured at 48 h. after incubation.

Table 2 Effects of exogenous fibrolytic enzymes supplementation on *in vitro* gas production of dietary treatments

	EFE (mg/kg)				SEM	P-value	Contrast		
	0	250	500	750			Linear	Quadratic	Cubic
Gas production characteristics									
a	3.84	2.95	3.14	2.72	0.65	0.49	0.19	0.65	0.48
b	50.4	50.4	49.7	51.1	0.91	0.59	0.63	0.35	0.39
c	0.06	0.057	0.055	0.057	0.00	0.31	0.17	0.19	0.84
Potential GP, (mL/0.2g)									
	54.5	53.4	52.8	53.9	1.15	0.65	0.59	0.26	0.81
Gas production, (mL/0.2g)									
GP2	8.34	7.27	7.41	7.39	0.54	0.48	0.27	0.33	0.57
GP4	14.3	12.7	13.5	11.9	0.65	0.09	0.02	0.44	0.51
GP6	19.5 ^a	17.9 ^{ab}	17.5 ^{ab}	16.9 ^b	0.07	0.01	0.43	0.64	<0.01
GP8	23.9	22.2	21.8	21.6	0.72	0.13	0.03	0.30	0.70
GP10	27.2	25.3	25.3	25.4	0.76	0.24	0.12	0.21	0.61
GP12	30.1	28.4	28.4	28.2	0.78	0.34	0.16	0.25	0.77
GP24	40.6	38.9	38.3	28.9	0.89	0.32	0.17	0.30	0.99
GP36	46.8	45.4	44.5	45.2	0.95	0.42	0.19	0.30	0.81
GP48	50.6	49.3	48.4	49.1	0.98	0.49	0.25	0.32	0.82
GP72	54.2	53.1	52.7	53.6	1.01	0.77	0.66	0.34	0.90
GP96	56.0	54.9	54.4	55.5	1.02	0.70	0.65	0.28	0.85

^{ab} Means in the same row with different superscript differ (P<0.05)

a = the gas production from the immediately soluble fraction, b = the gas production from the insoluble fraction, c = the gas production rate constant for the insoluble fraction, d = the potential extent of gas production, EP = $a + [bc/(k + c)]$ where k = 0.05 (Ørskov and McDonald, 1979)

These results confirmed with results from Newbold (1997) and Togtokhbayar *et al.* (2015) who noted that most enzymes function within a few hours of feeding before being degraded by the proteolytic activity of rumen microbes. These results suggest that the treatment with EFE stimulated the feed degradation only during the initial phases, but the effects were reduced as incubation time progressed.

The 500 mg/kg of EFE doses recorded as the highest IVDMD (cubic effect, $P < 0.01$), IVOMD (cubic effect, $P < 0.01$), ME (cubic effect, $P < 0.01$), ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$; cubic effect, $P < 0.05$), TDN (cubic effect, $P < 0.01$), PF (cubic effect, $P < 0.05$) and MCP (cubic effect, $P < 0.01$). These results agree with Llewellyn *et al.* (2010) who studied in wheat straw and showed that IVDMD enhanced by EFE compared to the control group. Similarly, Elwakeel *et al.* (2007) who pointed that there is evidence that exogenous enzymes increase microbial protein synthesis, an indicator that the bacterial population of the rumen is increased. Moreover, Alvarez *et al.* (2009) exposed enzymes tended to increase particle outflow rate from the rumen associated with a reduction in rumen liquid viscosity. However, increasing level of EFE resulted in cubic trend of IVDMD, IVOMD and ME. This result was established by Togtokhbayar *et al.* (2015) who showed that the optimal dose for the degradability of wheat straw was intermediate dosage compared with the low or high levels of enzyme addition. The more impact of moderate amounts of EFE than higher amounts

approves with the reported by Beauchemin *et al.* (2000), in which larger amounts of enzyme preparations did not develop DM digestibility when compared with lower amounts of enzymes. Moreover, Colombatto *et al.* (2003) determined that the rate and extent of GP were increased by increasing the level of enzyme from 1 time to 5 times, but levels of 10 times were ineffective and this observed was also supported by Lewis *et al.* (1999) and Nsereko *et al.* (2002) who have shown that it is possible to over-supplement. Increased dose of fibrolytic enzymes may have prohibited binding of enzymes to receptors of substrate, which reduced comparative attachment by fibrolytic microorganisms to fiber (Treacher and Hunt 1996). Beauchemin *et al.* (2003) also speculated that excessive enzymes supplemented to the feed may bind to fiber sites used by ruminal microorganism and make them unavailable, creating a barrier against microbial colonization.

Conclusions

The present study found that the sum of the gas production did not differ among treatments but increasing the supplementing of EFE in the diet decreased the gas accumulation at 4 and 6 h after incubation. In addition, the 500 mg/kg of EFE doses recorded the highest IVDMD, IVOMD, ME, $\text{NH}_3\text{-N}$, TDN, PF and MCP. Therefore, this study suggested that EFE supplementation at 500 mg/kg DM was the suitable level to enhance fiber degradation and improve energy density of TMR with 50% rice straw and 50% concentrate.

Table 3 Effects of exogenous fibrolytic enzymes supplementation on *in vitro* fermentation profile

	EFE (mg/kg)				SEM	P-value	Contrast		
	0	250	500	750			Linear	Quadratic	Cubic
<i>In vitro</i> dry matter digestibility, IVDMD (%)									
24 h	52.0 ^b	43.2 ^c	58.2 ^a	53.0 ^b	0.55	<0.01	0.01	0.07	<0.01
48 h	56.0	60.6	62.9	55.7	4.67	0.88	0.96	0.48	0.85
<i>In vitro</i> organic matter digestibility, IVOMD									
24 h	58.7 ^{ab}	53.2 ^c	62.3 ^a	57.9 ^b	0.73	0.01	0.21	0.62	<0.01
48 h	60.7	66.1	67.3	60.5	4.43	0.85	0.98	0.44	0.91
Metabolizable energy, ME (Mcal/kg DM)									
24 h	2.24 ^{ab}	2.03 ^c	2.38 ^a	2.21 ^b	0.03	0.01	0.19	0.62	<0.01
48 h	2.32	2.53	2.57	2.31	0.17	0.85	0.99	0.45	0.92
Ammonia nitrogen, NH ₃ -N									
24 h	13.9	13.0	15.1	14.2	0.34	0.13	0.22	1.00	0.04
48 h	23.0	20.6	20.6	20.9	0.89	0.52	0.32	0.33	0.72
Total digestible energy, TDN									
24 h	61.7 ^{ab}	55.9 ^c	65.5 ^a	60.8 ^b	0.76	0.01	0.21	0.62	<0.01
48 h	63.7	69.4	70.6	63.5	4.65	0.85	0.98	0.44	0.91
The partitioning factor, PF									
24 h	3.16 ^b	3.00 ^b	3.72 ^a	3.44 ^{ab}	0.08	0.03	0.03	0.64	0.02
48 h	2.49	2.85	2.98	2.6	0.22	0.76	0.76	0.36	0.87
Gas yield, GY24									
24 h	316.0 ^a	334.5 ^a	268.8 ^b	290.5 ^{ab}	7.91	0.04	0.04	0.89	0.02
48 h	419.5	350.8	335.2	385.2	36.74	0.75	0.65	0.38	0.96
Short chain fatty acid concentrations, SCFA									
24 h	3.36	2.95	3.20	3.15	0.06	0.10	0.37	0.09	0.06
48 h	4.61	4.35	4.32	4.37	0.06	0.24	0.13	0.18	0.77
Microbial CP biomass production, MCP									
24 h	146.2 ^{bc}	105.6 ^c	219.4 ^a	176.8 ^{ab}	8.54	0.01	0.01	0.93	<0.01
48 h	59.0	127.5	152.5	79.9	45.30	0.79	0.78	0.39	0.88

Acknowledgements

The authors would like to express their most sincere gratitude and appreciation to The

Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. Program and KhonKaen University for financial assistance to carry out the research and the use of research facilities.

References

- AOAC. 1997. Official Method of Analysis. 16th Ed., Association of Official Agriculture Chemicals, Washington, DC. USA.
- Alvarez, G., Pinos-Rodriguez, J.M., Herrera, J.G., Garcia, J.C., Gonzalez, S.S. and Barcena, R. 2009. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal digestibility in steers fed high fiber rations. *Livest. Sci.* 121: 150–154.
- Beauchemin, K.A., Colombatto, D., Morgavi, D.P. and Yang, W.Z. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 81: E37–47E.
- Beauchemin, K.A., Rode, L.M., Maekawa, M., Morgavi, D.P. and Kampen, R. 2000. Evaluation of a non-starch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. *J. Dairy Sci.* 83:543–553.
- Beauchemin, K.A., Yang, W.Z. and Rode, L.M. 1999. Effect of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 378–390.
- Blummel, M., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 1997. In vitro gas production: a technique revisited. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 77: 24–34.
- Colombatto, D., Mould, F.L., Bhat, M.K., Morgavi, D.P., Beauchemin, K.A. and Owen E. 2003. Influence of fibrolytic enzymes on the hydrolysis and fermentation of pure cellulose and xylan by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. *J. Anim. Sci.* 81: 1040–1050.
- Cruywagen, C.W. and van Zyl, W.H. 2008. Effects of a fungal enzyme cocktail treatment of high and low forage diets on lamb growth. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145: 151–158.
- Elwakeel, E.A., Titgemeyer, E.C., Johnson, B.J., Armendariz, C.K. and Shirley, J.E. 2007. Fibrolytic Enzymes to Increase the Nutritive Value of Dairy Feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 90: 5226–5236.
- Getachew, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2002. Tropical browses: Contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *J. Agric. Sci.* 139: 341–352.
- Kung, L.Jr., Treacher, R.J., Nauman, G.A., Smagala, A.M., Endres, K.M. and Cohen, M.A. 2000. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 115–122.

- Lewis, G.E., Sanchez, W.K., Hunt, C.W., Guy, M.A., Pritchard, G.T., Swanson, B.I. and Treacher, R.J. 1999. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 611–617.
- Llewellyn, D.A., Marston, T.T., Teutemacher, K.L., Higgins, J.J. and Melgarejo, T. 2010. Evaluation of low molecular weight fractions and crude enzyme preparation from a *Trichoderma* cellulase complex as a treatment for fibrous feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 160: 39–48.
- Makkar, H.P.S., Blummel, M. and Becker, K. 1995. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in *in vitro* techniques. *Br. J. Nutr.* 73: 897–913.
- Mendoza, G.D., Loera-Corral, O., Plata-Pérez, F.X., Hernández-García, P.A. and Ramírez-Mella, M. 2014. Considerations on the Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Forage Utilization. *Sci. World J.* p. 247437.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agric. Sci.* 93: 217–222.
- Napasirith, V., Wanapat, M. and Berg, J. 2012. Assessment of urea and/or lime treatment on rice straw quality using *in vitro* gas fermentation technique. *J. Anim. Vet. Adv.* 11: 295–299.
- Newbold, J. 1997. Proposed mechanisms for enzymes as modifiers of ruminal fermentation. *Proc. 8th Annual Florida Ruminant Nutrition Symp.* Gainesville, FL, USA. pp. 146–159.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th Revised edn. National Academy Press, Washington, DC.
- Nsereko, V.L., Beauchemin, K.A., Morgavi, D.P., Rode, L.M., Furtado, A.F., McAllister, T.A., Iwaasa, A.D., Yang, W.Z. and Wang, Y. 2002. Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. *Canadian J. Microbiol.* 48: 14–20.
- Ørskov, E.R. and McDonald, I. 1979. The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Incubation Measurements Weighted According to Rate of Passage. *J. Agri. Sci.* 92: 499–503.
- Safari, J.G., Mushi, D.E., Mtenga, L.A., Kifaro, G.C. and Eik, L.O. 2011. Growth, carcass yield and meat quality attributes of Red Maasai sheep fed wheat straw-based diets. *Trop. Anim. Health Prod.* 43: 89–97.
- Salem, A.Z.M., Buendía-Rodríguez, G., Elghandour, M.M.Y., Berasain, M.A.M., Jiménez, F.J.P., Pliego, A.P., Chagoyán, J.C.V., Cerrillo, M.A. and Rodríguez, M.A. 2015. Effects of cellulase and xylanase enzymes mixed with increasing doses of *Salix babylonica* extract on *in vitro*

- rumen gas production kinetics of a mixture of corn silage with concentrate. J. Integrative Agriculture 14:131-139.
- SAS. 1996. SAS/STAT User's Guide: Statistics, Version 6.12. Edition. SAS Inc., Cary, NC: USA.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principles and Procedures of Statistics. McGraw Hill Book Co., New York: USA.
- Titi., H.H. 2003. Replacing soybean meal with sunflower meal with or without fibrolytic enzymes in fattening diets of goat kids. Small Rumin. Res. 48: 45-50.
- Togtokhbayar, N., Cerrillo, M.A., Rodríguez, G.B., Elghandour, M.M.M.Y., Salem, A.Z.M., Urankhaich, C., Jigjidpurev, S., Odongo, N.E. and Kholif, A.E. 2015. Effect of exogenous xylanase on rumen *in vitro* gas production and degradability of wheat straw. Anim. Sci. J. 86: 765-771.
- Treacher, R.J. and Hunt, C.W. 1996. Recent developments in feed enzymes for ruminant rations. In: Proceedings of Pacific Northwest Animal Nutrition Conference, Seattle, WA, USA. pp. 37-54.
- Van Soest, P.J. and Robertson, J.B. 1985. Analysis of forages and fibrous foods. A Laboratory Manual for Animal Science. Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY: USA.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.
- Wanapat, M., Chumpawadee, S. and Paengkoum, P. 2000. Utilization of urea-treated rice straw and whole sugar cane crop as roughage sources for dairy cattle during the dry season. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 13: 474-477.
- Wora-anu, S., Wanapat, M., Wachirapakorn, C. and Nontaso, N. 2007. Effects of roughage source on cellulolytic bacteria and rumen ecology of beef cattle. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 20:1705-1712.

สถานะที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์โดย *Rhodotorula rubra* ร่วมกับสารเสริมชีวนะ
จากเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในฟุนข้าวโพดอาหารสัตว์

ณัฐพร จันทร์ฉาย*

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ อ. ร้องกวาง จ. แพร่ 54140

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันมีการเพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพิ่มมากขึ้นทุกๆ ปีทำให้ในแต่ละปีมีส่วนเหลือทิ้งจากการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะเปลือก ชัง ต้น และเมล็ดที่แตกหัก และส่วนที่เป็นฟุนผงหลังจากสีเมล็ดออกซึ่งทั้งหมดมีเหลือเป็นจำนวนมากและเกษตรกรนิยมเผาทำลายซึ่งเป็นผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สำหรับอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์สามารถนำเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ในการผลิตอาหารสัตว์ แต่ฟุนข้าวโพดที่นำมาทำอาหารสัตว์ต้องทำการฆ่าเชื้อซึ่งมีความยุ่งยาก อาจมีค่าใช้จ่ายสูงและสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์โดยการผลิตตรงควัสดุแคโรทีนอยด์จากเชื้อยีสต์ *Rhodotorula rubra* จากฟุนข้าวโพดภายหลังหมักร่วมกับสารเสริมชีวนะโดย *Lactobacillus acidophilus* ที่สถานะเป็นกรดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้น 3.5×10^5 CFU/g จากเชื้อเริ่มต้นที่ 2.02×10^5 CFU/g สามารถป้องกันจุลินทรีย์อื่นๆ ปนเปื้อนในฟุนข้าวโพดได้ พร้อมศึกษาสถานะที่เหมาะสม เช่น ระยะเวลาในการเจริญเติบโตความเข้มข้นคาร์บอน ไนโตรเจน และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์และการอยู่รอดของเชื้อ *R. rubra* จากการศึกษาพบว่าที่ระยะเวลาที่ 48 ชั่วโมงโดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 60 เปอร์เซ็นต์ปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลต่อน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 20 ที่ปริมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ร่วมกับไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟต เท่ากับ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และ Yeast Extract เท่ากับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ภายหลังหมักร่วมกับสารเสริมชีวนะให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุด เท่ากับ 62.63 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักฟุนข้าวโพดแห้ง

คำสำคัญ: แคโรทีนอยด์, ฟุนข้าวโพด, โปรไบโอติก, *Rhodotorula rubra* และ *Lactobacillus acidophilus*

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: nuttapornchanchay@gmail.com

Optimal Condition for Carotenoid Production by *Rhodotorula rubra* in Conjunction with Probiotic from *Lactobacillus acidophilus* by Using Corn Dust as Substrates

Nuttaporn Chanchay*

Program in Biotechnology, Maejo University Phrae Campus, Phrae 54140, Thailand

Abstract

Current with the cultivation of maize increasing every other year. Each year, the waste from harvesting the bark, straw, stalks and seeds decisive and dust. Farmers burn a significant impact on the environment. Industrial animal farming, agricultural waste materials can be utilized in the production of animal feed but dust corn used to make animal feed, which must be disinfected with frustration. And may be costly and can be used as raw material in the production of animal feed to produce pigment carotenoids from yeast *Rhodotorula rubra* from corn dust. After fermentation with probiotics by *Lactobacillus acidophilus* that acidic conditions for 48 hours of infection with *L. acidophilus* increased from 2.02×10^5 CFU/g to 3.5×10^5 CFU/g can prevent other microbes in dust contaminated corn. And study the conditions necessary for such a period of growth, moisture, carbon, nitrogen and compounds promote growth. The study found that as that a period 48 hours. Moisture starting at 60 percent, the amount of carbon source from molasses dissolved in water (1:20) is 15 percent (w/w), nitrogen source from ammonium sulfate was 1.0 percent (w/w), and substances promote growth from yeast extract 1.5 percent (w/w). After marinated with probiotics volume carotenoid high of 62.63 micrograms per gram weight dried corn dust.

Keywords: Carotenoid, Corn dust, Probiotics, *Rhodotorula rubra* and *Lactobacillus acidophilus*

* Corresponding author: E-mail: nuttapornchanchay@gmail.com

อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยเฉพาะอาหารปลา สวายงาม และอาหารสัตว์ปีกในปัจจุบันจำเป็นต้องทำให้คุณภาพของผลผลิตตรงกับความต้องการของผู้บริโภค โดยในอุตสาหกรรมไก่ไข่จำเป็นต้องให้ความสำคัญกับสีของไข่แดง ซึ่งผู้บริโภคนิยม และพอใจสีไข่แดงที่มีสีเหลืองอมส้ม ส่วนปลา สวายงามที่มีสีสดใสนั้นจำเป็นต้องให้ความสำคัญกับสีของไข่แดง ซึ่งผู้ผลิตแก้ปัญหาโดยใช้สารสีสังเคราะห์ และวัตถุดิบอาหารบาง ชนิดเสริมลงในอาหาร เพื่อให้สีสวยสดตรงตามลักษณะตาม ความต้องการของผู้บริโภค และต้องนำเข้าสารสีสังเคราะห์จาก ต่างประเทศก็จะมีราคาแพงทำให้เป็นการสูญเสียเงินตราให้ ภายนอกประเทศเป็นจำนวนมากต่อเนื่องกันทุกปี

อาหารสัตว์เป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตสัตว์โดยเป็น แหล่งโภชนาการที่สัตว์จะนำไปใช้เพื่อเป็นพลังงาน การ เจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และให้ผลผลิต เช่น เนื้อ นม ไข่ และ ขนสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันการผลิตสัตว์และ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์เพื่อการบริโภคมีลักษณะเป็นอุตสาหกรรม การเกษตรการเพิ่มสารสีหรือวัตถุที่เติมลงในอาหารสัตว์เพื่อให้ การเจริญเติบโตของสัตว์เป็นไปตามความต้องการของลักษณะ สายพันธุ์ ช่วงอายุ และสภาวะการเลี้ยงดูต่างๆ เช่น การตั้งท้อง ช่วง ให้นม ช่วงออกไข่ เพื่อให้ได้การเจริญเติบโตที่ดี มีผลผลิตที่ เพิ่มขึ้น (ณัฐสิทธิ์, 2555)

ด้วยเหตุนี้จึงเห็นความสำคัญถึงปัจจัยการเพิ่มสารสี ให้กับอาหารสัตว์ โดยเป็นแหล่งโภชนาการที่สัตว์สามารถ นำไปใช้เพื่อเป็นพลังงานได้ และยังทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ดูเป็นที่ น่าสนใจ น่ากินสำหรับสัตว์ และส่งเสริมสุขภาพสัตว์ โดยเฉพาะสารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์ อีกทั้งยังเป็นการลดการ นำเข้าแคโรทีนอยด์สังเคราะห์จากต่างประเทศซึ่งมีมูลค่าสูง โดยแคโรทีนอยด์ที่ได้จากธรรมชาติจึงมีความสำคัญและกำลัง ได้รับความต้องการในปริมาณที่สูง โดยเฉพาะแคโรทีนอยด์ที่ ผลิตได้จากจุลินทรีย์ และนำไปสู่การแก้ไขปัญหาเพื่อสามารถ นำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในระดับอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ใน อนาคตได้

ณัฐพร (2556) นำยีสต์ *Rhodotorula rubra* มาทำ การจำแนกชนิดของแคโรทีนอยด์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า รังควัตถุแคโรทีนอยด์ที่พบมากที่สุดเป็น *R. rubra* คือ

lycopene รองลงมา คือ astaxanthin, lutein และ β -carotene ตามลำดับ

การปลูกข้าวโพดเพื่อใช้ผลิตอาหารเลี้ยงสัตว์เพิ่มมา กขึ้นทุกๆ ปี ทำให้ในแต่ละปีมีส่วนเหลือทิ้งจากการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะเปลือก ชัง ต้น และเมล็ดที่แตกหัก และส่วนที่เป็น ฝัองหลังจากสีเมล็ดออกซึ่งทั้งหมดมีเหลือเป็นจำนวนมาก และเกษตรกรนิยมเผาทำลายซึ่งเป็นผลกระทบต่อ สิ่งแวดล้อม สำหรับอุตสาหกรรมอาหารเลี้ยงสัตว์สามารถนำเศษ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ในการ ผลิตอาหารสัตว์ แต่ฝัองข้าวโพดที่นำมาทำอาหารสัตว์ต้องทำ การฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนก่อนซึ่งมีความยุ่งยาก และอาจมี ค่าใช้จ่ายสูง แต่สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหาร สัตว์โดยหมักด้วย *Lactobacillus acidophilus* ที่สภาวะเป็น กรดเพื่อลดหรือกำจัดจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ปนเปื้อนได้

ดังนั้นการศึกษารังนี้มุ่งเน้นการผลิตสารสี แคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. rubra* จากการหมักกับฝัองข้าวโพด แบบอาหารแข็งร่วมกับสารเสริมชีวนะโดย *L. acidophilus* เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในฝัองข้าวโพดและเพื่อสร้าง กรดแลกติกในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาสู่ ระดับอุตสาหกรรม และใช้เป็นอาหารในการผลิตแคโรทีนอยด์ จาก *R. rubra* พัฒนาเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ต่อไป พร้อม ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม เช่น ระยะเวลาในการเจริญเติบโต ความชื้น แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และสารส่งเสริมการ เจริญเติบโตในการผลิตแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. rubra* เพื่อ ทำลายเชื้ออื่นๆ ที่ปนเปื้อนในฝัองข้าวโพดและสามารถใช้เป็น อาหารสัตว์ได้ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. จุลินทรีย์

R. rubra จากห้องปฏิบัติการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ

L. acidophilus จากบริษัท โปรไบโอเทคฟีด จำกัด

2. ขั้นตอนการทดลอง

2.1 ทำการหมักเชื้อ *L. acidophilus* ร่วมกับฝัอง ข้าวโพด จากนั้นทำการวิเคราะห์ ปริมาณแคโรทีนอยด์เริ่มต้น

และตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่เหลืออยู่ หลังทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (รัฐสรณ์ และบรรศักดิ์, 2556)

2.2 ทำการฆ่าเชื้อ *L. acidophilus* ภายหลังการหมัก 48 ชั่วโมง โดยการเปิดให้อากาศเข้า และตรวจสอบจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ

2.3 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ *R. rubra* ภายหลังหมักร่วมกับฝุ่นข้าวโพดเพื่อฆ่าเชื้อปนเปื้อนอื่นๆ จากการทดลองที่ 2.2 โดยเติมแหล่งคาร์บอนจากกากน้ำตาล 10 กรัม แหล่งไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัม และปริมาณสารส่งเสริมการเจริญเติบโตจาก yeast extract 1 กรัม (ณัฐพร, 2551) ทำการเลี้ยงและเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์และเลือกชั่วโมงที่ดีที่สุดจากนั้นศึกษาต่อเกี่ยวกับความชื้นที่เหมาะสมทำการหมักแคโรทีนอยด์

2.4 ศึกษาสภาวะความชื้นที่เหมาะสมในการหมักเชื้อ *R. rubra* ร่วมกับฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อ *L. acidophilus* จากข้อ 2.2 โดยการเติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อในฝุ่นข้าวโพดให้มีความชื้น 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมหัวเชื้อ *R. rubra* ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w) เลี้ยงในชั่วโมงที่เหมาะสมจากการศึกษาในข้อที่ 2.3 และเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์และเลือกความชื้นที่ดีที่สุด จากนั้นทำการศึกษาต่อในเรื่องปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ต่อไป

2.5 ศึกษาปริมาณคาร์บอนที่เหมาะสมในการหมัก *R. rubra* ร่วมกับฝุ่นข้าวโพดจากสภาวะในข้อ 2.2 ในสภาวะความชื้นที่ดีที่สุดข้อ 2.4 โดยศึกษาปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลต่อน้ำที่อัตราส่วน 1:20 (ณัฐพร, 2547) ที่ 0, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ดีที่สุดข้อ 2.3 เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์และเลือกปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลที่ดีที่สุดเพื่อนำมาศึกษาต่อในเรื่องปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

2.6 ศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมในการหมัก *R. rubra* ร่วมกับฝุ่นข้าวโพดจากข้อ 2.2 ในสภาวะความชื้นที่ดีที่สุดข้อ 2.4 และปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลที่ดีที่สุดข้อ 2.5 โดยศึกษาปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตที่ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ดี

ที่สุดในข้อ 2.3 เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์และเลือกปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตที่ดีที่สุดเพื่อนำมาศึกษาต่อถึงระดับ yeast extract ที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

2.7 ศึกษาปริมาณ yeast extract ที่เหมาะสมในการหมัก *R. rubra* ร่วมกับฝุ่นข้าวโพดจากข้อ 2.2 ในสภาวะความชื้นที่ดีที่สุดข้อ 2.4 และปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลที่ดีที่สุดข้อ 2.5 และปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตที่ดีที่สุดข้อ 2.6 โดยศึกษาปริมาณ yeast extract ที่ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ดีที่สุดข้อ 2.3 เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์และสรุปผลการศึกษา

3. วิธีการวิเคราะห์

3.1 วิเคราะห์การเจริญเติบโต

วิเคราะห์จำนวนเซลล์จากวิธีการ Total plate count บนอาหารวุ้น Plate Count Agar (PCA)

3.2 วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (Total carotenoid) โดยดัดแปลงจาก Foss *et al.* (1984)

เก็บตัวอย่างซึ่งน้ำหนัก 0.5 กรัม เติมน้ำ Acetone ปริมาณ 30 มิลลิลิตร ในขวดสีชาขนาด 50 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนเป็นครั้งคราว (ปิดภาชนะป้องกันการระเหยของ Acetone) เป็นเวลานาน 30 นาที กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองนำสารละลายที่ได้ (Acetone extract) มา 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดสีชาขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำ Ethyl acetate 2 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ใส่หลอดทดลองนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) โดยใช้ Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นของแสง 472 นาโนเมตร จากนั้นนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของปริมาณแคโรทีนอยด์ ดังนี้

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1,900$$

1. Absorbance–10% of Absorbance(a)

2. $\frac{(a) \times 10,000}{1,900}$ (b)

3. $\frac{(b) \times (\text{Acetone extract } 5 \text{ ml}) + (\text{Distilled water } 1 \text{ ml}) + (\text{Ethyl acetate } 2 \text{ ml}) \times (\text{Acetone } 30 \text{ ml})}{(\text{sample } 5 \text{ g}) \times (\text{Acetone extract } 5 \text{ ml}) \times 1,000,000}$ (c)

4. (c) = Carotenoid contents (µg/g dry weight)

1. การหมักเชื้อ *L. acidophilus* ร่วมกับฝุ่นข้าวโพด

ทำการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์เริ่มต้น และตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่เหลืออยู่หลังทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากการศึกษพบว่าฝุ่นข้าวโพดภายหลังหมักร่วมกับเชื้อ *L. acidophilus* เป็นเวลา 48 ชั่วโมงมีจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้น 3.50×10^5 CFU/g จากเชื้อเริ่มต้นที่ 2.02×10^5 CFU/g และมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 9.549 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้ง ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของเรวดี (2557) ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ปนเปื้อนในกากถั่วเหลืองภายหลังการหมักด้วยเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 กากถั่วเหลืองที่ 48 ชั่วโมงมีจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 เพิ่มขึ้นเท่ากับ 8.22×10^9 CFU/g จากเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1.19×10^6 CFU/g และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 36.0379 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักกากถั่วเหลืองแห้ง

2. การฆ่าเชื้อ *L. acidophilus* ภายหลังการหมัก 48 ชั่วโมง

หลังจากทำการหมักฝุ่นข้าวโพดกับเชื้อ *L. acidophilus* นาน 48 ชั่วโมงที่สภาวะไร้อากาศเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ปนเปื้อนหลังจากนั้นทำการฆ่าเชื้อ *L. acidophilus* โดยการเปิดให้อากาศเข้า เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อฆ่า *L. acidophilus* บางส่วนและตรวจสอบจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ด้วยอาหาร Plate count agar (PCA) จากการศึกษเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ไม่พบการรอดชีวิต แต่ยังคงเหลือเชื้อ *L. acidophilus* เล็กน้อยเท่ากับ 1.02×10^5 CFU/g ที่ pH เท่ากับ 4.46 สอดคล้องกับเรวดี (2557) พบการเหลือรอดของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1388 ภายหลังการฆ่าเชื้อหลังจากทำการหมักกากถั่วเหลืองกับเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 นาน 48 ชั่วโมง ไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1388 มีปริมาณของแคโรทีนอยด์เท่ากับ 36.0379 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักกากถั่วเหลืองแห้ง และ *L. acidophilus* สร้างสารที่มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ (การันย์, 2553)

3. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. rubra* ภายหลังหมักฝุ่นข้าวโพดด้วย *L. acidophilus*

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. rubra* ภายหลังหมักฝุ่นข้าวโพดด้วย *L. acidophilus* ตามผลการทดลองจากข้อ 1 และ 2 เก็บตัวอย่างทุก 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ และตรวจสอบการอยู่รอดเชื้อ *R. rubra* ด้วยอาหาร Plate count agar (PCA) ผลดังตารางที่ 1

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์และการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. rubra* ดังตารางที่ 1 พบว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง *R. rubra* มีความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุด เท่ากับ 40.76 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้ง รองลงมาคือที่ 24 และ 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 37.59 และ 24.35 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้ง ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และพบว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงมีจำนวนเชื้อ *R. rubra* สูงสุดเท่ากับ 1.15×10^6 CFU/g รองลงมาคือที่ 24 และ 72 ชั่วโมงมีจำนวนเชื้อ *R. rubra* เท่ากับ 8.28×10^5 CFU/g และ 5.56×10^5 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับเรวดี (2557) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์ในกากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมักกับเชื้อ *L. acidophilus* TISTR1338 ที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมงพบว่ามีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 36.1168 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักกากถั่วเหลืองแห้ง และมีจำนวนเชื้อเท่ากับ 9.12×10^6 CFU/g

Table 1 Optimum time for carotenoid production after fermentation with *L. acidophilus* by using corn dust as substrates

Time (Hour)	Colonies (CFU/g)	Carotenoid Content (µg/g dry weight)
0	7.89×10^4	23.36 ± 0.001^c
24	8.28×10^5	37.59 ± 0.002^b
48	1.15×10^6	40.76 ± 0.002^a
72	5.56×10^5	24.35 ± 0.003^c
control	-	9.549 ± 0.000^d

หมายเหตุ: ตัวควบคุมคือฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้เติมเชื้อ *R. rubra*

4. ศึกษาความชื้นที่เหมาะสมสำหรับผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. rubra* ภายหลังหมักฝุ่นข้าวโพดด้วย *L. acidophilus*

จากการศึกษาปริมาณความชื้นสำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. rubra* ภายหลังหมักฝุ่นข้าวโพดด้วย *L. acidophilus* ตามผลการทดลองจากข้อที่ 1, 2 และ 3 เก็บตัวอย่างที่ความชื้น 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์และตรวจสอบการยู่รอดเชื้อ *R. rubra* ด้วยอาหาร Plate count agar (PCA) แสดงผลดังตารางที่ 2

จากการศึกษาความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์และการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. rubra* ดังตารางที่ 2 พบว่าที่ความชื้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลทำให้ *R. rubra* มีความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุดเท่ากับ 30.78 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้ง รองลงมาคือที่ความชื้นประมาณ 50 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 18.40 และ 12.27 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้งตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้พบว่าที่ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเชื้อสูงสุดเท่ากับ 1.28×10^6 CFU/g รองลงมาคือที่ 50 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเชื้อ *R. rubra* เท่ากับ 7.84×10^5 และ 3.38×10^5 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับมนัสนันท์ และคณะ (2550) ทำการผลิตแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. glutinis* DM28 บนรำข้าวแบบการหมักแห้ง ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 70 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อ เท่ากับ 88.2 มิลลิกรัมต่อกรัม และปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 2.12 ไมโครกรัมต่อกรัมรำข้าว แต่แตกต่างจากเรวดี (2557) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์ในกากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมักกับเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่ความชื้นประมาณ 40-45 เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 9.12×10^6 CFU/g และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 36.0758 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักกากถั่วเหลืองแห้ง

5. ศึกษาปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. rubra* ภายหลังหมักฝุ่นข้าวโพดด้วย *L. acidophilus*

จากการศึกษาปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลที่ปริมาณ 0, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ที่ความชื้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมัก 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์และตรวจสอบการยู่รอดเชื้อ

R. rubra ด้วยอาหาร Plate count agar (PCA) แสดงผลดังตารางที่ 3

Table 2 Optimum moisture content for carotenoid production after fermentation with *L. acidophilus* using corn dust as substrates

Moisture (%)	Colonies (CFU/g)	Carotenoid Content ($\mu\text{g/g}$ dry weight)
Control	-	9.549 ± 0.000^d
40	3.38×10^5	12.27 ± 0.008^c
50	7.84×10^5	18.40 ± 0.001^b
60	1.28×10^6	30.78 ± 0.000^a

หมายเหตุ: ตัวควบคุมคือฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้เติมเชื้อ *R. rubra*

จากการศึกษาปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์และการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. rubra* ดังตารางที่ 3 พบว่ากากน้ำตาลที่ปริมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ทำให้เชื้อ *R. rubra* มีความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุด เท่ากับ 41.97 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้งรองลงมาคือที่ประมาณ 20, 10 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 31.30, 30.94 และ 30.78 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักฝุ่นข้าวโพด ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และพบว่าที่ปริมาณกากน้ำตาลที่ 15 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อ *R. rubra* สูงสุดเท่ากับ 3.97×10^6 CFU/g รองลงมาคือที่ 20, 10 และ 0 เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเชื้อ *R. rubra* เท่ากับ 2.25×10^6 , 1.29×10^6 และ 1.28×10^6 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับ Latha *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเพื่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *R. rubra* DFR-PDY พบว่าที่ปริมาณแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างกับเรวดี (2557) ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเพื่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *R. rubra* พบว่าที่แหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคสมีความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ที่สูงสุดเท่ากับ 36.0853 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักกากถั่วเหลืองแห้ง มีจำนวนเชื้อสูงสุดเท่ากับ 9.93×10^6 CFU/g และขณะที่

ณัฐพร (2547) ศึกษา *R. rubra* เพาะเลี้ยงในอาหาร yeast malt extract medium ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงถึง 164.540 ไมโครกรัม ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งมีปริมาณเซลล์เท่ากับ 0.1964 กรัมต่อ ลิตร

Table 3 Optimum carbon content from molasses for carotenoid production after fermentation with *L. acidophilus* by using corn dust as substrates

Carbon content (%)	Colonies (CFU/g)	Carotenoid Content (µg/g dry weight)
Control	1.28×10 ⁶	30.78±0.000 ^c
10	1.29×10 ⁶	30.94±0.005 ^b
15	3.97×10 ⁶	41.97±0.003 ^a
20	2.25×10 ⁶	31.30±0.002 ^b

หมายเหตุ: ตัวควบคุมคือฝุ่นข้าวโพดหมักด้วยเชื้อ *R. rubra* แต่ไม่มีการเติมแหล่งคาร์บอน

6. การศึกษาปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. rubra* ภายหลังหมักฝุ่นข้าวโพดด้วย *L. acidophilus*

จากการศึกษาปริมาณแหล่งไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตที่ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแหล่งคาร์บอนจากกากน้ำตาล 15 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักเลี้ยง 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ และตรวจสอบการอยู่รอดเชื้อ *R. rubra* ด้วยอาหาร Plate count agar (PCA) แสดงผลดังตารางที่ 4

จากการศึกษาปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์และการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. rubra* ดังตารางที่ 4 พบว่าไนโตรเจนที่ปริมาณ 1.0 เปอร์เซ็นต์ทำให้ *R. rubra* มีความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุดเท่ากับ 47.92 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักฝุ่นข้าวโพดรองลงมา คือ ที่ประมาณ 0, 1.5 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 41.97, 35.65 และ 35.48 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้งตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันที่ ($P \leq 0.05$) และพบว่าที่

ปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟต 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อสูงสุดเท่ากับ 1.04×10^7 CFU/g รองลงมาคือที่ 0, 1.5 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อ *R. rubra* เท่ากับ 3.97×10^6 , 2.78×10^6 และ 2.67×10^6 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากของเรวดี (2557) ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเพื่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *R. rubra* พบว่าที่แหล่งไนโตรเจนจากยูเรียมีความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุดเท่ากับ 36.1168 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักกากถั่วเหลืองแห้งมีจำนวนเชื้อ 1.85×10^5 CFU/g

Table 4 Optimum nitrogen content from ammonium sulfate for carotenoid production after fermentation with *L. acidophilus* by using corn dust as substrates

Nitrogen (%)	Colonies (CFU/g)	Carotenoid Content (µg/g dry weight)
Control	3.97×10 ⁶	41.97±0.003 ^b
0.5	2.67×10 ⁶	35.48±0.002 ^c
1.0	1.04×10 ⁷	47.92±0.009 ^a
1.5	2.78×10 ⁶	35.65±0.002 ^c

หมายเหตุ: ตัวควบคุมคือฝุ่นข้าวโพดหมักด้วยเชื้อ *R. rubra* แต่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

Latha *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเพื่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *R. rubra* DFR-PDY พบว่าที่แหล่งปริมาณแหล่งไนโตรเจนจากยูเรียสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.2 มิลลิกรัมต่อลิตรและแหล่งไนโตรเจนที่ได้จากโซเดียมไนเตรตสามารถผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดถึง 3.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และของณัฐพร (2551) ศึกษา *R. rubra* เพาะเลี้ยงในอาหาร yeast malt extract medium ศึกษาคาร์บอนต่อไนโตรเจน เท่ากับ 2:1 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.6287 กรัมต่อกรัมของกากมะเขือเทศสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ถึง 165.5416 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักเซลล์แห้ง ยังจะพบว่าแหล่งไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟต ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *R. rubra* มีความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุดเท่ากับ 17.12 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักฝุ่นข้าวโพด ซึ่งมีปริมาณแคโรทีนอยด์น้อยกว่าการหาสภาวะที่เหมาะสมจาก

แหล่งคาร์บอนที่มีปริมาณ เท่ากับ 40.66 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักฝุ่นข้าวโพด

7. การศึกษาปริมาณ yeast extract ที่เหมาะสมสำหรับผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. rubra* ภายหลังหมักฝุ่นข้าวโพดด้วย *L. acidophilus*

จากการศึกษาปริมาณ yeast extract ที่ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแหล่งคาร์บอนจากกากน้ำตาล 15 เปอร์เซ็นต์ และแหล่งไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟต 1.0 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักเลี้ยง 48 ชั่วโมงเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ และตรวจสอบการอยู่รอดเชื้อ *R. rubra* ด้วยอาหาร Plate count agar (PCA) แสดงผลดังตารางที่ 5

Table 5 Optimum yeast extract content for carotenoid production after fermentation with *L. acidophilus* by using corn dust as substrates

Yeast Extract (%)	Colonies (CFU/g)	Carotenoid Content (µg/g dry weight)
Control	1.04×10^7	47.92 ± 0.009^d
0.5	3.40×10^7	52.26 ± 0.001^c
1.0	3.17×10^7	58.26 ± 0.005^b
1.5	5.83×10^7	62.63 ± 0.002^a

หมายเหตุ: ตัวควบคุมคือฝุ่นข้าวโพดหมักด้วยเชื้อ *R. rubra* แต่ไม่มีการเติม yeast extract

จากการศึกษาปริมาณ yeast extract ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์และการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. rubra* ดังตารางที่ 5 พบว่าที่ yeast extract ปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ *R. rubra* มีความสามารถในการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุดเท่ากับ 62.63 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้งรองลงมาคือที่ประมาณ 1.0, 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 58.26, 52.26 และ 47.92 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้ง ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ นอกจากนี้ยังพบว่าที่ปริมาณ yeast extract 1.5

เปอร์เซ็นต์มีจำนวนเชื้อสูงสุดเท่ากับ 5.83×10^7 CFU/g รองลงมาคือที่ 0.5, 1.0 และ 0 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเชื้อ *R. rubra* เท่ากับ 3.40×10^7 , 3.17×10^7 และ 1.04×10^7 CFU/g ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Latha *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเพื่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *R. rubra* DFR-PDY พบว่าการเสริม yeast extract สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และณัฐพร (2556) ได้ศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *R. rubra* พบว่าการเสริม yeast extract สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้เท่ากับ 30.39 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาระบวนการหมักฝุ่นข้าวโพดอาหารสัตว์และการใช้ประโยชน์จากฝุ่นข้าวโพดอาหารสัตว์ให้เกิดประโยชน์เพื่อลดปัญหาหมอกควัน จึงนำมาเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *L. acidophilus* เพื่อเพิ่มความเป็นกรดในฝุ่นข้าวโพด เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถกำจัดจุลินทรีย์ที่เป็นพิษในฝุ่นข้าวโพดได้ และสามารถนำมาหมักร่วมกับ *R. rubra* โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 60 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณคาร์บอนจากกากน้ำตาลเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟต เท่ากับ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และ yeast extract เท่ากับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ภายหลังหมักร่วมกับสารเสริมชีวนะให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 62.63 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักฝุ่นข้าวโพดแห้งเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นสารสี และใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะอาจารย์เทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ที่ได้ให้ความสะดวกและสนับสนุนการทดลอง ตลอดจนห้องปฏิบัติการทางชีวภาพ งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จได้ด้วยดี ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- การันย์ พรหมเทพ. 2553. การเหลือรอดของ *Lactobacillus acidophilus* และ *L. casei* ในเครื่องดื่มโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ณัฐพร จันทรฉาย. 2547. ผลของรงควัตถุแคโรทีนอยด์ที่ได้จากใบกระถินต่อการเปลี่ยนสีของปลาแพนซีคาร์พ. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 4. เชียงใหม่. 387-387 น.
- ณัฐพร จันทรฉาย. 2551. สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตรงควัตถุแคโรทีนอยด์และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของยีสต์ *Rhodotorula rubra* โดยใช้กากมะเขือเทศเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ. การประชุมสัมมนาทางวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัย ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่เฉลิมพระเกียรติ. จังหวัดแพร่.
- ณัฐพร จันทรฉาย. 2556. สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของ *Rhodotorula rubra* และสมบัติเฉพาะของการเป็นสารต้านออกซิเดชันของแคโรทีนอยด์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- รัฐธรรม ดุลยภรี และ บวรศักดิ์ สีนานนท์. 2556. การผลิตไอศกรีมเผือกหอมเสริมโปรไบโอติก. การประชุมเสนอผลงานวิจัยวิชาการ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 447-454 น.
- ณัฐสิทธิ์ ต้นสกุล. 2555. สารเสริมอาหารสัตว์ (Animal feed additives). เอกสารคำสอนภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- มนัสนันท์ โรจนกมลสันต์, ชาลี มะลิซ้อน และ วรพจน์ สุนทรสุข. 2550. การผลิตแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *Rhodotorula glutinis* DM28 บนรำข้าวแบบการหมักแห้ง. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- เรวดี ประดิษฐ์. 2557. การหาสภาวะที่เหมาะสมบางประการในการผลิตแคโรทีนอยด์โดย *Rhodotorula rubra* ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338 ในกากถั่วเหลืองเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์. วิทยาสตรบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ.
- Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S., Austreng, E. and Streiff, K. 1984. Carotenoids in diets for salmonids I: Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture*. 41: 213-226.
- Latha, B.V., Jeevaratnam, K., Murali, H.S. and Manja, K.S. 2005. Influence of growth factor on carotenoid pigmentation of *Rhodotorula glutinis* DFR-PDY from natural source. *Indian Journal of Biotechnology*. 4: 353-357.

Acute Toxicity of Paraquat and Glyphosate on embryonic development of Climbing Perch (*Anabas testudineus*)

Banthita Sawasdee*, Panida Phuthonghin and Supawadee Kunapratom

*Program in Aquaculture Technology, Faculty of Agricultural Technology,
Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand*

Abstract

This study examined the toxicity of paraquat and glyphosate on *Anabas testudineus* embryos. The embryos were treated with paraquat at 0.01, 0.03 and 0.1 mg/L, and glyphosate at 0.02, 0.05 and 0.2 mg/L. The effects of these substances were examined by monitoring the three endpoints: mortality, hatching rate and heart rate. The results showed that all concentrations of paraquat and glyphosate affected the fish embryos with increased mortality and decreased hatching rate. As compared to the control, there were no significant differences in the head and tail bud stage, somite stage, and heart rate, whereas mortality, and hatching rate showed significant difference ($p < 0.05$). The results revealed that paraquat was more toxic than glyphosate.

Keywords: Paraquat, Glyphosate and Climbing perch embryos

* Corresponding author: E-mail: banthitas@yahoo.com

พิษเฉียบพลันของพาราควอทและไกลโฟเสตต่อระยะคัพภะของปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*)

บัณฑิตา สวัสดิ์* พนิดา ภูทองหิน และ สุภาวดี คุณาประณม

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของพาราควอทและไกลโฟเสตต่อการพัฒนา ระยะคัพภะของปลาหมอไทย โดยนำไข่ของปลาหมอไทยมาทดสอบกับสารทั้ง 2 ชนิด โดยใช้ความเข้มข้นของพาราควอทที่ 0.01 0.03 และ 0.1 mg/L และความเข้มข้นของไกลโฟเสตที่ 0.02 0.05 และ 0.2 mg/L ตามลำดับ จากนั้นสังเกตอัตราการตาย อัตราการฟัก และอัตราการเดินของหัวใจ ผลการทดลองพบว่า ไข่ปลาหมอไทยที่ได้ทดสอบกับพาราควอทและไกลโฟเสต ที่ทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่ออัตราการตายและอัตราการฟัก ส่วนอัตราการเดินของหัวใจ และการพัฒนาด้านอื่นๆ เช่น ระยะ การสร้างส่วนหัวและหาง และระยะสร้างกระดูกสันหลัง พบว่าไข่ปลาหมอไทยในกลุ่มทดลองมีการพัฒนาใกล้เคียงกับกลุ่ม ควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของพาราควอทและไกลโฟเสต พบว่า พาราควอทมีผลต่ออัตราการตายของไข่ปลา หมอไทยมากกว่าไกลโฟเสต นอกจากนั้นผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า อัตราการตายและอัตราการฟักมีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ: พาราควอท, ไกลโฟเสต และ คัพภะปลาหมอไทย

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: banthitas@yahoo.com

Introduction

Thailand uses large quantities of pesticides to control crop pests, vectors of disease, and thereby increase yields. Recently, a marked increase in the use of more powerful agricultural chemicals has boosted agricultural production and efficiency. The Office of Agriculture Regulation of the Department of Agriculture reported that about 70,000 tons of pesticides comprising 265 individual active ingredients were imported into Thailand in 2010. The most abundant herbicides were glyphosate and paraquat (OAE, 2010).

Paraquat dichloride is one of the most widely used herbicides in the world. It is also toxic to humans when swallowed (Ogamba *et al.*, 2011). Paraquat is classified as a moderately toxic chemical for lethal toxicity, with a relatively low potential to bio-accumulate in the aquatic environment. However, many studies have shown that paraquat can damage important tissues in aquatic animals (Arunlertarce and Kawatsu, 1992; Omitoyin *et al.*, 2006; Babatunde *et al.*, 2014; Deivasigamani, 2015). The pesticides are washed into the aquatic environment through run-off and leaching and negatively impact on the flora and fauna. According to the United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2007), herbicides contain an active ingredient which is highly toxic to both cold and warm water fishes.

Glyphosate is a non-selective herbicide that degrades rapidly in soil and natural water, with DT 50 values ranging from 3-14 days. Glyphosate suppresses plant growth through interference with the production of essential aromatic amino acids by inhibiting the enzyme enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase. This enzyme is responsible for the biosynthesis of chorismate, an intermediate in phenylalanine, tyrosine, and tryptophan biosynthesis (Pedron *et al.*, 2006). The

acute toxicity of glyphosate is considered to be low by the WHO (WHO, 1994). However, commercial glyphosate formulations are more acutely toxic than glyphosate (Peixoto, 2005). Glyphosate also affects energy metabolism, free radical processes, acetylcholineesterase activity (Langiano *et al.*, 2008), and immune responses of histological changes in hepatocytes of *Oreochromis niloticus* (Szarek *et al.*, 2000), and *Cyprinus carpio* (Jiraungkoorskul *et al.*, 2003).

Fish are widely used to evaluate the health of aquatic ecosystems and physiological changes serve as biomarkers of environmental pollution (Kock *et al.*, 1996). The fish *Anabas testudineus* was selected as the test organism because of its euryhaline and eurythermal nature and unique position in the food chain. They are quite sturdy and ideally suited for experimentation in the laboratory over longer time periods. These fish are cultured in ponds and have a very good commercial value with high nutrition and good taste (Afsar, 2012). Therefore, this study evaluated the effects of paraquat and glyphosate on the embryonic development of *A. testudineus*.

Materials and Methods

Test organisms

Adult climbing perch, *A. testudineus* strain used for egg production originated from the Maha Sarakham Inland Fisheries Research and Development Center, Maha Sarakham, Thailand. The fish were maintained in a cement tank with a flow-through system at ambient temperature. They were fed twice a day (08.00 a.m. and 04.00 p.m.) with commercial fish food. The physicochemical characterization of the water used for fish bioassay was carried out using standard methods (APHA, 1998) and the following

values were obtained: temperature 27°C, pH 6.20-7.20, dissolved oxygen 5.30-6.20 mg/L, alkalinity 51.25-136 mg/L, and water hardness 144-185 mg/L.

Exposure conditions

The effects of pesticides were investigated by exposing developing *A. testudineus* embryos inside their egg to a range of paraquat dichloride (Gramoxone®) (0, 0.01, 0.03 and 0.10 mg/L) and glyphosate-isopropyl ammonium (Roundup®) concentrations (0, 0.02, 0.05 and 0.20 mg/L). Solutions were prepared with double-distilled water. The range of tested concentrations were based on application rate of both pesticides. For the test with paraquat and glyphosate, glass Petri dishes were used and the stock solutions were kept in glass bottles.

Embryo toxicity test

The eggs were collected and rinsed several times with double distilled water, and then transferred to various exposure chambers. At around 2-4 h post fertilization, the fertilized eggs (blastula stage) were selected and transferred to glass Petri dishes (10 per plate) containing different concentrations of paraquat and glyphosate. Replacement of the mediums was performed daily to ensure an even distribution of the chemical. The experiment was conducted with a total of 90 eggs per treatment group.

The development of blastula eggs was monitored at specified time points ($t = 2-4, 6, 8, 12$, and 24 h). Observation was then extended until the time of hatching for the different exposure groups. Endpoints were used to assess

the effects of paraquat and glyphosate regarding egg and embryo mortality, gastrulation, somite formation, movement, tail detachment, pigmentation, heart rate (number of contraction of the heart per min: bpm) and circulation, and hatching success (Fig. 1). Malformations and inhibitory tendencies were also noted and described among juveniles from both control and treatment groups using a stereomicroscope.

Statistical analysis

Treatment effects on the developmental parameters were determined using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Duncan's new multiple range test to compare the treatment groups with their respective control. Significant difference occurred for a given parameter when $p < 0.05$.

Results

Paraquat treatment

At the highest paraquat concentration (0.10 mg/L), the mortality was 100% at 2 h of exposure time, whereas embryos exposed to 0.01 and 0.03 mg/L paraquat showed significant mortality rates of 8.89% and 44.44%, respectively (Table 1). For all treatments, paraquat significantly decreased the hatching success rate compared to the control group (Table 2). The average heart rate was unaffected by the test concentrations and controls with a tendency for reduction at higher paraquat concentrations of 0.01 and 0.03 mg/L.

Glyphosate treatment

At 2 h to 12 h, the mortality of embryos treated with concentrations of 0.02 mg/L glyphosate or higher showed a trend to increase.

This finding, however, was significant only at the highest concentration tested (0.20 mg/L) (Table 1).

Table 1 Mortality rate (%) in *A. testudineus* embryos exposed to paraquat and glyphosate

Tested Substances (mg/L)		Mortality (%)			
		2 h	4 h	8 h	12 h
Paraquat	0	0±0 ^a	1.11±3.33 ^a	1.11±3.33 ^a	1.11±3.33 ^a
	0.01	8.89±12.7 ^b	20±18.71 ^b	27.78±16.41 ^b	31.11±12.69 ^b
	0.03	44.44±15.09 ^c	86.67±12.25 ^c	92.22±8.33 ^c	94.44±7.26 ^c
	0.10	100±0 ^c	100±0 ^c	100±0 ^c	100±0 ^c
Glyphosate	0	0±0 ^a	1.11±3.33 ^a	1.11±3.33 ^a	1.11±3.33 ^a
	0.02	1.11±3.33 ^a	7.78±6.67 ^a	8.89±7.82 ^a	10±7.07 ^a
	0.04	3.33±5 ^a	10±7.07 ^a	11.11±7.82 ^a	11.11±7.82 ^a
	0.20	11.11±10.54 ^b	21.11±10.54 ^b	33.33±11.18 ^b	38.89±15.37 ^b

Note: Groups with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

At 12 h of exposure, 98% of all fish had hatched in the control. Embryos exposed to 0.2 mL/L glyphosate showed a significantly reduced hatching rate at 12 h with mean of 61% (Table 2). The average heart rate was unaffected by the test at nominal concentrations and controls.

In addition, no significant malformations were observed in *A. testudineus* embryos exposed to the different treatment groups. Minimal abnormalities as edema and eye and tail defects were found in both control and treated embryos at <5% (Fig.2). However, the results were not significant.

Table 2 Hatching success rate (%) in *A. testudineus* embryos exposed to paraquat and glyphosate.

Tested Substances (mg/L)		Hatching success rate (%)
Paraquat	0	98.89±3.33 ^a
	0.01	68.89±12.69 ^b
	0.02	5.56±7.26 ^c
	0.10	0±0 ^c
Glyphosate	0	98.89±3.33 ^a
	0.02	90±7.07 ^a
	0.04	88.89±7.82 ^a
	0.20	61.11±15.37 ^b

Note: Groups with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

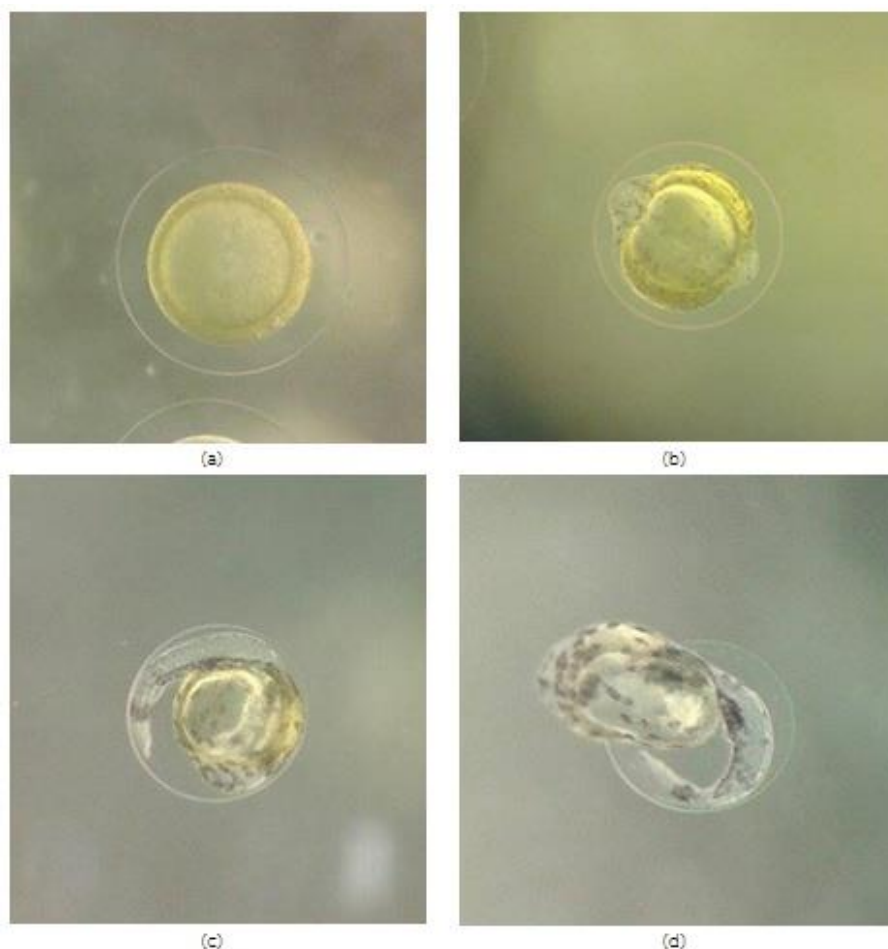


Fig. 1 *A. testudineus* embryonic development at different stages after fertilization (a) gastrula (5 h); (b) head and tail bud (7 h); (c) somite (8 h); (d) hatching (12 h)

Discussion

Our study clearly showed that paraquat is dramatically increased mortality rates and reduced embryonic development in *A. testudineus*. Glyphosate at 0.20 mg/L induced adverse effects in the fish embryos. Several types of fish have been determined as sensitive to paraquat. Ogamba *et al.* (2011) noted that juvenile American catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to paraquat dichloride at 0.4 mg/L showed significant decrease in all values of

metabolites in the muscles and gills. Other studies on fish toxicity testing reported a sensitivity to paraquat. Omitoyin *et al.* (2006) stated that gramoxone (paraquat) at a concentration of 18 mg/L caused a median lethal concentration (LC₅₀) value after 96 h of exposure. Differences in LC₅₀ value between species is due to species-specific toxicity effect and age of the test organisms.

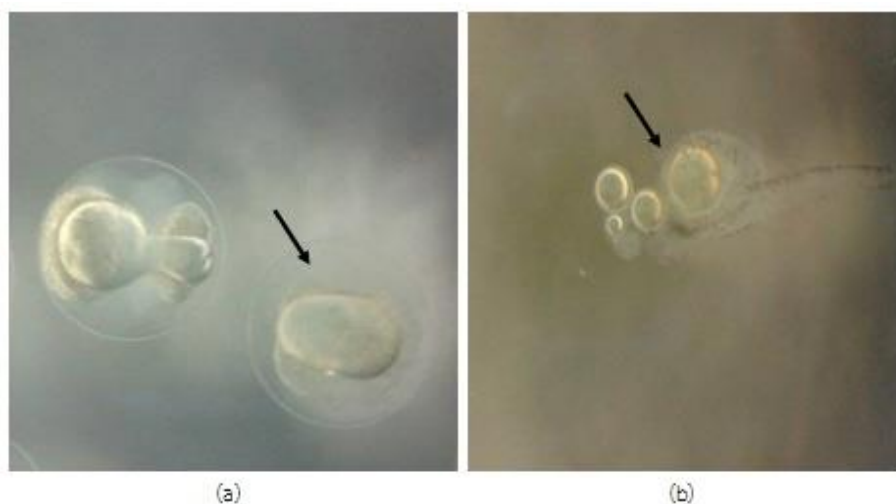


Fig. 2 Abnormalities in *A. testudineus* embryos. (a) abnormal gastrulation (arrow); (b) yolk sac edema (arrow)

Histological examination of the fingerling stage of *C. carpio* after 96 h of exposure to paraquat at 40 mg/L revealed damage to various organs (Arunlertarce and Kawatsu, 1992). The LC_{50} value was 60 mg/L after 96 h of exposure to the herbicide (Ladipo, 2011). The freshwater fish *Channa punctata* showed significant reduction in the glutathione levels of gills exposed to paraquat at 1.0 mg/L after 24h (Parvez and Raisuddin, 2006). Remarkable differences were observed in paraquat toxicity between pure chemical and formulated commercial products (Arunlertarce and Kawatsu, 1992). The difference in toxicity between pure and formulated commercial products maybe attributable to the other ingredients supplemented in to the formulated products.

The results of our study showed that *A. testudineus* exposed to glyphosate at the highest concentration tested at 0.2 mg/L significantly affected mortality and hatching rate. The silver

catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to glyphosate at the same tested concentrations showed a significant decrease in brain acetylhydrolase (AChE) activity (Gluszczak *et al.*, 2007). Dissimilar to our results, Do Carmo Langiano and Martinez (2008) demonstrated that juvenile *Prochilodus lineatus* exposed to Roundup® (glyphosate formulated product) concentrations of 7.5 and 10 mg/L showed sub-lethal results. *A. testudineus* could, therefore, be more sensitive than neotropical fish species. Giesy *et al.* (2000) estimated an acute scenario considering worst-case exposure conditions based on two assumptions: (a) that 2% run off from a 10 Ha field treated at the maximum single use rate of Roundup® cfp5 entered a 1 Ha pond 2 m deep, and (b) that 10% of the maximum single application rate per hectare entered the pond through drift, assuming aerial application. Based on these assumptions, maximum concentrations of Roundup® in natural water would range from

0.27 to 0.41 mg/L (Giesy *et al.*, 2000). Therefore, high glyphosate concentrations used in this study was environmentally relevant.

Overall, glyphosate showed significantly less lethality than paraquat on the fish embryos with mortality percentage of 38.89 at 12 h of exposure. Similar results were obtained by Deivasugamani (2015) who reported that glyphosate showed less toxic effects on mortality of common carp (*Cyprinus carpio*) than paraquat.

Conclusions

Results demonstrated that both glyphosate (0.02 to 0.20 mg/L) and paraquat (0.01 to 0.10 mg/L) have a detrimental impact on mortality and hatching rates of *A. testudineus* embryos. Paraquat dichloride was more toxic to *A. testudineus* than glyphosate. Fish can be considered as experimental biological models to measure the environmental impact of different substances. Results indicated that both tested herbicides were detrimental to environmental contamination.

References

- American Public Health Association (APHA). 1998. Standard Methods for the Evaluation of Water and Waste Water. 20th Edn. American Public Health. Washington D.C. pp: 270-274.
- Arunlertarce, C. and Kawatsu, H. 1992. Acute toxicity of paraquat to various development stages of common carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus. *GyobyKenKyu*. 27(2): 63-68.
- Afsar, S. 2012. Glucose post exposure recovery from lead intoxicated fresh water fish *Anabas testudineus*. *Int. J. Biomed. Adv. Res.* 3(1): 59-63.
- Babatunde, M.M., Oladimeji, A.A and Rafindadi, A.H. 2014. Histopathological changes in the gills, livers and brains of *O. niloticus* (TREWAVAS) exposed to paraquat in chronic bioassay. *Inter. J. Sci. Tech.* 4(5): 101-110.
- Deivasigamani, S. 2015. Effect of herbicides on fish and histological evaluation of common carp (*Cyprinus carpio*). *Inter. J. App. Res.* 1(7): 437-440.
- DoCarmoLangiano, V. and Martinez, C.B.R. 2008. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Phys. C.* 147: 222-231.
- Giesy, J.P.; Dobson, S. and Soloman, K. R. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 167: 35-120.
- Gluszczak, L., dos Santos Miron, D., Moraes, B.S., Simões, R.R., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M. and Loro, V.L. 2007. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comp. Biochem. Phys. C.* 146: 519-524.
- Jiraungkoorskul, W., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Sahaphong, S., Vichasri-Grans, S. and Pokethitiyook, P. 2003. Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environ. Toxicol.* 18: 260-267.

- Kock, G., Triendl, M. and Hofer, R. 1996. Seasonal patterns of metal accumulation in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from an oligotrophic Alpine lake related to temperature. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53: 780-786.
- Ladipo, M.K. 2011. Acute toxicity, behavioural changes and histopathological effect of paraquat dichloride on tissues of catfish (*Clarias gariepinus*). Inter. J. Biol. 3(2): 67-74.
- Langiano, V.C. and Martinez, C.B. 2008. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Biochem. Phys. 147: 222-231.
- OAE, Office of Agricultural Economics. 2010. Summary of Imported Pesticides [online]. [Accessed July, 2016]. Available from: URL: <http://www.oae.go.th>.
- Ogamba, E.N., I.R. Inyang and Azuma, I.K. 2011. Effect of paraquat dichloride on some metabolic and enzyme parameters of *Clarias gariepinus*. Curr. Res. J. Biol. Scie. 3(3): 186-19.
- Omitoyin, B.O., Ajani, E.K and Fajimi, O.A. 2006. Toxicity of gramoxone (paraquat) to juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci. 1(1): 26-30.
- Parvez, S. and Raisuddin, S. 2006. Effects of paraquat on the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch): non-enzymatic antioxidants as biomarkers of exposure. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 50: 392-397.
- Pedron, F., Duarte, M.F. and Vieira, V.L. 2006. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in Piava (*Leporinus obtusidens*). Ecotoxicol. Environ. Saf. 65: 237-241.
- Peixoto, F. 2005. Comparative effects of the roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. Chemosphere 61: 1115-122.
- Szarek, J., Siwicki, A., Andrzejewska, A., Terech-Majewska, E. and Banaszkiewicz, T. 2000. Effects of the herbicide Roundup on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*). Mar. Environ. Res. 50:263-266.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency. 2007. Pesticides in the Environment. Office of water, US, Environmental Protection Agency, Washington D.C.
- WHO, World Health Organisation. 1994. Glyphosate: Environ. Health Criteria 159. Geneve.

ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล ที่ความหนาแน่นต่างกัน

พุทธรชาติ อิ่มใจ^{1*}, อรอนงค์ ไชยรา² และ ชนวรรณ โทวรรณ¹

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

²สาขาวิชาการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร อ. เมือง จ. สกลนคร 47000

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่างกัน โดยใช้ปลานิลที่มีขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 64.37 ± 0.95 กรัม ด้วยวิธีฉีดเข้าทางช่องท้องนำมาเลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 30, 50, 70 และ 100 ตัวต่อตารางเมตร พบว่าค่าแอนติบอดีไคเตอร์ครั้งที่ 1 เท่ากับ 3.271 ± 0.017 , 2.837 ± 0.198 , 2.590 ± 0.144 และ 2.430 ± 0.175 ตามลำดับ ค่าแอนติบอดีไคเตอร์ครั้งที่ 2 เท่ากับ 3.261 ± 0.017 , 3.100 ± 0.053 , 2.940 ± 0.046 และ 2.809 ± 0.063 ตามลำดับ ปลาที่เลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 50 ตัวต่อตารางเมตร มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดขณะที่การเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นที่ 100 ตัวต่อตารางเมตร มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด

คำสำคัญ: ความหนาแน่น, ระบบภูมิคุ้มกัน, วัคซีน และ ปลานิล

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: puttachat_im@hotmail.com

Efficiency of *Streptococcus agalactiae* Vaccine in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) with Different Stocking Density

Puttachat Imjai^{1*}, Aonanong Chaiyara² and Chanawan Thowanna¹

¹Department of Aquaculture Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

²Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Sakon Nakhon Rajabhat University, Sakon Nakhon 47000, Thailand

Abstract

Study on efficiency of *Streptococcus agalactiae* vaccine in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) with different stocking density. Fish (average 64.37 ± 0.95 g in weigh) were used in this studied were intraperitoneally injected. Fish were reared in 30, 50, 70 and 100 fish/meter². The first antibody titers of above stocking density were 3.271 ± 0.017 , 2.837 ± 0.198 , 2.590 ± 0.144 and 2.430 ± 0.175 , respectively. Moreover, the second antibody titer were 3.261 ± 0.017 , 3.100 ± 0.053 , 2.940 ± 0.046 and 2.809 ± 0.063 , respectively. The growth rates were highest in stocking density of 50 fish/meter² and lowest in 100 fish/meter².

Keywords: Density, Immune system, Vaccine and Nile tilapia

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

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอันดับหนึ่งในระยะ 10 ปีที่ผ่านมา โดยพบว่าปริมาณการผลิตปลานิลได้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน เห็นได้จากสถิติกรมประมงในช่วงปี พ.ศ. 2556 ที่แสดงว่าปริมาณปลานิลจากการเพาะเลี้ยงในประเทศไทยคิดเป็น 45.3 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณปลาน้ำจืดทั้งหมดโดยในปี พ.ศ. 2556 มีปริมาณการผลิต 217,600 ตัน มูลค่าประมาณ 10,805.6 ล้านบาท ซึ่งมีการเพิ่มอย่างต่อเนื่องของปริมาณการผลิตและการบริโภคปลานิลทั้งในประเทศไทยและส่งออก (ศูนย์สารสนเทศกรมประมง, 2556) ปัจจุบันปลานิลพันธุ์การค้าพันธุ์เพื่อให้ได้สายพันธุ์ตามความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการให้มีการเจริญเติบโต และความคงของไข่สูงต้านทานโรคได้ดี ปลานิลในประเทศไทยมีการพัฒนาสายพันธุ์จากหน่วยงานภาครัฐ และเอกชน (เพ็ญพรรณ, 2543: นวลมณี, มปป.)

ประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงปลานิลอย่างแพร่หลายและมีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว เนื่องจากความต้องการบริโภคสัตว์น้ำของประชากรเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ผลผลิตที่จับได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติลดลง จึงทำให้การเพาะเลี้ยงปลานิลในปัจจุบันเป็นการเลี้ยงแบบเชิงพาณิชย์หรือการเลี้ยงแบบหนาแน่น จึงก่อให้เกิดปัญหาการระบาดของโรคเกิดขึ้นในปลานิลทุกระยะ เช่นเดียวกับที่เกิดกับการเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์อื่นๆ โดยส่วนใหญ่โรคที่ก่อความเสียหายกับการเลี้ยงปลานั้นเกิดจากเชื้อก่อโรค คือ แบคทีเรีย ไวรัส และแบคทีเรีย เชื้อแบคทีเรียที่มักเกิดโรคในสัตว์น้ำมีประมาณ 60 – 70 เปอร์เซ็นต์ (จิตเกษม และคณะ, 2536) และในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของโรค Streptococcosis ที่มีสาเหตุมาจาก *Streptococcus* กลุ่ม β -haemolysis ในการเลี้ยงปลานิลในกระชังในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและมีรายงานความเสียหายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งอาการของโรคที่ปรากฏจะแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา ในปลาบางชนิดอาจไม่ปรากฏอาการภายนอกจนกระทั่งปลาตาย (Eldar et al., 1997) ในปี 2012 มีรายงานการระบาดของเชื้อ *Streptococcus iniae* ในฟาร์มปลานิลบริเวณแม่น้ำไนล์ในอเมริกาใต้ซึ่งมีการพบเป็นครั้งแรก แสดงให้เห็นถึงการระบาดของเชื้ออย่างต่อเนื่อง (Figueiredo et al., 2012)

การแก้ไขปัญหาระบาดโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียส่วนใหญ่มักจะใชยาปฏิชีวนะ แต่หากมีการใช้ไม่ถูกต้องและเหมาะสมอาจเกิดการตกค้างในสัตว์น้ำ ซึ่งจะส่งผลต่อผู้บริโภค

ตลอดจนสิ่งแวดล้อมด้วย นอกจากนี้การใชยาปฏิชีวนะบางชนิดยังมีความผิดตามพระราชบัญญัติการส่งออกและการนำเข้าสินค้าในราชอาณาจักรปี 2522 ส่งผลให้เกษตรกรมีข้อจำกัดในการใชยาทางเลือกที่น่าสนใจและมีความเป็นไปได้คือการใช้วัคซีนซึ่งเป็นทางเลือกใหม่ที่ดีในการลดปัญหาการระบาดของโรคและความเสียหายที่เกิดขึ้นจากโรคต่อการเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยได้ (นิลบล, 2545)

การให้วัคซีนในปลา มีรายงานการศึกษาหลายชนิด อาทิ ปลาไน ปลานิล ปลาดุก และปลาแซลมอน เป็นต้น (รัชนิ และอนุทิน, 2532; Ruangpan et al., 1986; Eldar et al., 1997; Akhlaghi et al., 2000) โดย Ruangpan et al. (1986) ได้ทำการศึกษาการให้วัคซีนที่ได้จากเชื้อ *A. hydrophila* ซึ่งฆ่าด้วยฟอร์มาลินฉีดเข้าช่องท้องเปรียบเทียบกับการให้วัคซีนที่ผสมแอดจูแวนต์ฉีดเข้าช่องท้องปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่าการสร้างแอนติบอดีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อพบว่าหลังการได้รับวัคซีนที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ ปลานิลสามารถป้องกันการติดเชื้อได้เพียงเล็กน้อย ส่วนที่ระยะเวลา 2 ถึง 5 สัปดาห์ สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในประเทศไทยนั้นมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้วัคซีนที่ได้จากการเตรียมเชื้อชนิดนี้ได้เช่นกัน แต่เป็นการทดลองในปลาชนิดอื่น อาทิ เกรียงศักดิ์ (2523) ได้ทดลองฉีดวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อ *A. hydrophila* เข้ากล้ามเนื้อของปลาดุกบ้าน (*Clarias batrachus*) เริ่มตรวจพบแอนติบอดีในกระแสเลือดของปลาในวันที่ 2 และสูงสุดในวันที่ 9 หลังการฉีดวัคซีนในปริมาณ เกรียงศักดิ์ (2523) ได้ทดสอบความต้านทานโรคของปลาดุกบ้านกับเชื้อเป็นโดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้องเปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไตเตอร์ซึ่งให้ผลสอดคล้องกัน คือ ปลาที่มีค่าแอนติบอดีไตเตอร์สูงสุดระหว่างวันที่ 7 ถึง 9 หลังการฉีดเชื้อเป็นเข้าทางช่องท้อง วัคซีนดังกล่าวมาสามารถป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* นิลบล (2534) รายงานการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้วัคซีนต่อการตอบสนองทางด้านภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในปลาดุกอูย (*C. macrocephalus*, Gunther) วัคซีนเตรียมจากเชื้อ *A. hydrophila* ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลิน ด้วยวิธีการให้วัคซีนแบบฉีดเข้าช่องท้องซึ่งได้ผลดีที่สุด เมื่อเทียบกับวิธีการให้วัคซีนอื่นสอดคล้องกับการทดลองของนนทวิทย์ (2536) ซึ่งการศึกษาความต้านทานโรคและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *A. hydrophila* ของปลาดุกบักอูย (*C. gariepinus*, *C. macrocephalus*) พบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนโดยการการฉีดเข้าช่องท้องครั้งแรกในสัปดาห์ที่หนึ่งมีค่าแอนติบอดีไตเตอร์เฉลี่ยเท่ากับ 78.93 และครั้งที่สองในสัปดาห์ที่สองเฉลี่ยเท่ากับ 614.40 เมื่อ

ทดสอบความต้านทานโรค ปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดสูงถึง 97.78 เปอร์เซ็นต์ต่อมาธีราภรณ์ และคณะ (2548) รายงานการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรค Streptococcosis ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยวิธีการผสมอาหารปลานิลทดลองมีอายุ 5 เดือน และมีน้ำหนักเฉลี่ย 230.00 ± 5.71 กรัม หลังจากได้รับวัคซีนซึ่งเตรียมจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* สายพันธุ์ KKU 44002 ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลินเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 สัปดาห์ พบว่าการให้วัคซีนป้องกันโรค Streptococcosis โดยการผสมอาหารในปลานิลสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและเพิ่มความต้านทานของปลานิลต่อโรคนี้ได้เช่นเดียวกับการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นไปได้การให้วัคซีนป้องกันโรค Streptococcosis ในการเลี้ยงปลานิลทั้งในสภาพห้องทดลองและในสภาพการเลี้ยงจริง ให้วัคซีนด้วยวิธีการฉีดโดยการฉีดเข้าช่องท้องและการฉีดเข้ากล้ามเนื้อปลาพบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดเฉลี่ยสะสมสูงถึง 97.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาที่ไม่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดสะสมเท่ากับ 73 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าการใช้วัคซีนสามารถเพิ่มอัตราการรอดตายของปลานิลที่เลี้ยงได้เพิ่มสูงขึ้นสามารถสร้างความต้านทานต่อการเกิดโรค Streptococcosis ในลูกปลานิลได้ (นิลบล และคณะ, 2549; วิศณุ และคณะ, 2550; Pretto-Giordano *et al.*, 2010)

การเพาะเลี้ยงปลานิลปัจจัยที่มีความสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อผลผลิตคือการเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นที่สูง ซึ่งถือเป็นเทคนิคอย่างหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อลดต้นทุนการผลิตต่อหน่วย และใช้พื้นที่การเลี้ยงให้เกิดประโยชน์สูงสุด แต่จำเป็นต้องพิจารณาถึงอัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมที่จะทำให้ปลาที่มีการเจริญเติบโตดี และอัตราการที่สูงรวมทั้งตรงตามวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงปลา อัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลายังขึ้นอยู่กับรูปแบบการเลี้ยง ระยะเวลาการเลี้ยง ชนิดของปลา อายุและขนาดปลาที่เริ่มเลี้ยง ขนาดของบ่อที่ใช้เลี้ยง อัตราการเปลี่ยนน้ำ รวมทั้งปัจจัยภายนอก หรือสภาพแวดล้อมที่เลี้ยงปลาซึ่งการตายของปลานิล และโรคระบาดปลาส่วนใหญ่มีสาเหตุหนึ่งว่ามาจากปลาเกิดอาการเครียดเนื่องจากคุณภาพน้ำที่มีการเปลี่ยนแปลงการเลี้ยงที่หนาแน่นเกินไปส่วนใหญ่โรคระบาดปลามักจะเกิดจากสาเหตุร่วมกันของเชื้อโรคและสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

ตัวอย่างปลา

ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 3 (*Oreochromis niloticus*) ขนาดเฉลี่ย 64.37 ± 0.95 กรัม จากพ่อแม่พันธุ์ชุดเดียวกันนำมาปรับให้เข้ากับสภาพการทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ นำมาเลี้ยงในกระชังขนาด 1×1 เมตร แบ่งตามความหนาแน่นเป็น 30, 50, 70, 100 ตัวต่อตารางเมตร จำนวน 3 ซ้ำ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อให้ปลาปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม ในการทดลองให้อาหารอัตราส่วน 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว โดยให้วันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิของน้ำ

การเตรียมวัคซีนและแอนติเจน

วัคซีนที่ใช้ในการทดลองเป็นวัคซีนเชื้อตาย ของเชื้อ *Streptococcus agalactiae* สายพันธุ์ KKU 44002 ทำการแยกเชื้อโดยใช้อาหาร Brain Heart Infusion Agar (BHIA) เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วนำมาเลี้ยงในอาหาร Brain heart in fusion broths (BHIB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นนำแบคทีเรียที่ได้มาปั่นล้างด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วประมาณ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างเชื้อที่ได้ด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจากปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียให้มีค่าประมาณ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และทดสอบว่าเชื้อตายหรือไม่โดยการนำไปเลี้ยงบน BHIA เพื่อใช้เป็นวัคซีนให้กับปลาทดลองในลำดับต่อไป (นิลบล, 2534)

สำหรับการเตรียมแอนติเจนเพื่อใช้วัดแอนติบอดีไทเตอร์โดยวิธี direct agglutination มีวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมวัคซีน แต่ใช้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่มีค่าความเข้มข้นประมาณ 1×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (นิลบล, 2534)

การหาค่าแอนติบอดีไทเตอร์

การตรวจหาค่าแอนติบอดีไทเตอร์ใช้วิธีการ direct agglutination โดยการเจือจางซีรัมแบบ two – fold dilution ในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาตรสุดท้ายในแต่ละหลุมเท่ากับ 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติมแอนติเจนที่เตรียมไว้หลุมละ 50 ไมโครลิตร ให้ครบทุกหลุมจนถึงหลุมสุดท้าย ซึ่งมีความเข้มข้นของซีรัมเป็น 1:2,048 เขย่าให้เข้ากันบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการบันทึกผลโดยเปรียบเทียบกับ negative control ซึ่งมีเฉพาะน้ำเกลือและแอนติเจน (นิลบล, 2534) ปลาทดลองทุกกลุ่มมีการตรวจเช็คค่าแอนติบอดีไคเตอร์ก่อนการทดลอง

การให้วัคซีน

ปลาทดลองทุกกลุ่มได้รับวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อ *S. agalactiae* สายพันธุ์ KKU 44002 ที่ฆ่าด้วยความร้อน โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องตัวละ 0.1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม ทำการเจาะเลือดปลาทดลองทั้งหมด หลังจากเริ่มให้อาหารเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ให้วัคซีนครั้งที่ 1 หลังจากได้รับวัคซีน 2 สัปดาห์ เตรียมวัดปริมาณแอนติบอดีโดยการเจาะเลือด หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ ให้วัคซีนครั้งที่ 2 และตรวจวัดปริมาณแอนติบอดีหลังจากนั้นเป็นเวลา 2 สัปดาห์ สังเกตและบันทึกอัตราการเจริญเติบโตระหว่างการทดลองโดยชั่งน้ำหนักปลาขณะเริ่มการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าแอนติบอดีไคเตอร์ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 รวมถึงอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลแต่ละกลุ่มทดลอง ทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of variances: ANOVA) ตามแผนการทดลอง Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS 17)

ผลการวิจัย

1. ผลของความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล

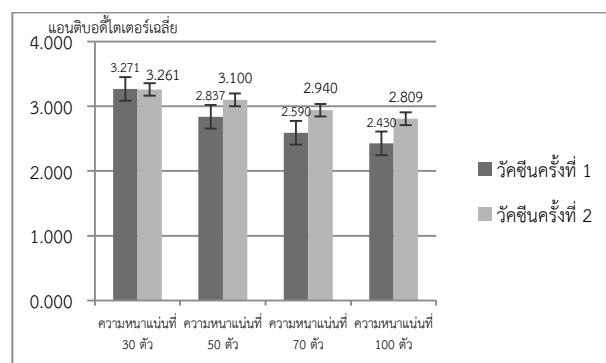
จากการศึกษาของความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล แบ่งตามความหนาแน่นเป็น 30, 50, 70 และ 100 ตัวต่อตารางเมตร ทดสอบโดยการฉีดในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ของการทดลอง เมื่อตรวจวัดแอนติบอดีไคเตอร์ พบว่าแอนติบอดีไคเตอร์เฉลี่ยแสดงการได้รับวัคซีนมีค่าเพิ่มขึ้นจากครั้งที่ 1 ไปครั้งที่ 2 ยกเว้น ในอัตราการปล่อยที่ความหนาแน่น 30 ตัวต่อตารางเมตร มีค่าใกล้เคียงกัน ($P < 0.05$) การเปรียบเทียบค่าแอนติบอดีไคเตอร์ในการฉีดวัคซีนครั้งที่ 1 พบว่าค่าแอนติบอดีไคเตอร์มี

แนวโน้มลดลงจากบนลงล่าง และในความหนาแน่นที่ 70 ตัวต่อตารางเมตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความหนาแน่นที่ 50 และ 100 ตัวต่อตารางเมตร อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และในการฉีดวัคซีนครั้งที่ 2 ค่าแอนติบอดีไคเตอร์มีแนวโน้มลดลงจากความหนาแน่นน้อยไปความหนาแน่นมาก ทุกความหนาแน่นมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 แอนติบอดีไคเตอร์เฉลี่ยของปลานิลที่เลี้ยงในระดับความหนาแน่นที่ต่างกันภายหลังจากการให้วัคซีน

กลุ่มทดลอง	แอนติบอดีไคเตอร์เฉลี่ย ($\log_{10}$) (Means $\pm$ SD)	
	วัคซีนครั้งที่ 1	วัคซีนครั้งที่ 2
ความหนาแน่นที่ 30 ตัวต่อตารางเมตร	3.271 $\pm$ 0.017 ^a	3.261 $\pm$ 0.017 ^a
ความหนาแน่นที่ 50 ตัวต่อตารางเมตร	2.837 $\pm$ 0.198 ^b	3.100 $\pm$ 0.053 ^b
ความหนาแน่นที่ 70 ตัวต่อตารางเมตร	2.590 $\pm$ 0.144 ^{bc}	2.940 $\pm$ 0.046 ^c
ความหนาแน่นที่ 100 ตัวต่อตารางเมตร	2.430 $\pm$ 0.175 ^c	2.809 $\pm$ 0.063 ^d

หมายเหตุ ค่าแอนติบอดีไคเตอร์เฉลี่ยที่แสดงในตารางผ่านการแปลงข้อมูลโดยใช้ค่า $\log_{10}$ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)



ภาพที่ 1 แสดงค่าแอนติบอดีไคเตอร์เฉลี่ยของปลานิลในระดับความหนาแน่นที่ต่างกันภายหลังจากการให้วัคซีน

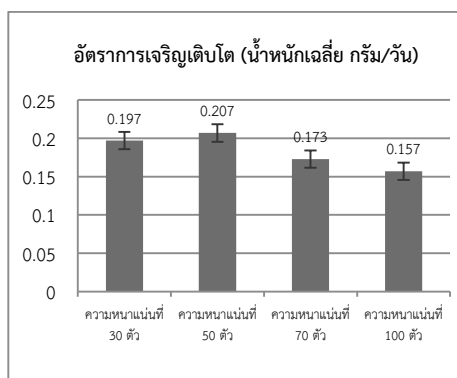
2. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลภายหลังจากการได้รับวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน

อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (ตารางที่ 2) ปลานิลในความหนาแน่นที่ 30 และ 50 ตัวต่อตารางเมตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) และเป็นกลุ่มที่มีค่าการเจริญเติบโตสูงที่สุดตามลำดับ และอัตราการปล่อยที่ระดับความหนาแน่นที่ 100 ตัวต่อตารางเมตรมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด

ตารางที่ 2 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลภายหลังจากการได้รับวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน

กลุ่มทดลอง	อัตราการเจริญเติบโต (น้ำหนักเฉลี่ย กรัม/วัน) (Means $\pm$ SD)
ความหนาแน่นที่ 30 ตัวต่อตารางเมตร	0.197 $\pm$ 0.006 ^a
ความหนาแน่นที่ 50 ตัวต่อตารางเมตร	0.207 $\pm$ 0.006 ^a
ความหนาแน่นที่ 70 ตัวต่อตารางเมตร	0.173 $\pm$ 0.006 ^b
ความหนาแน่นที่ 100 ตัวต่อตารางเมตร	0.157 $\pm$ 0.012 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P > 0.05)



ภาพที่ 2 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลภายหลังจากการได้รับวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

ความหนาแน่นในการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำแต่การเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นที่สูง ถือเป็นเทคนิคอย่างหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อลดต้นทุนการผลิตต่อหน่วยและใช้พื้นที่การเลี้ยงให้เกิดประโยชน์สูงสุด แต่จำเป็นต้องพิจารณาถึงอัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมที่จะทำให้ปลาที่มีการเจริญเติบโตดีและอัตราการรอดที่สูงรวมทั้งตรงตามวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงปลา อัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลายังขึ้นอยู่กับรูปแบบการเลี้ยง ระยะเวลาการเลี้ยง ชนิดของปลา อายุ และขนาดปลาที่เริ่มเลี้ยง ขนาดของบ่อที่ใช้เลี้ยง อัตราการเปลี่ยนน้ำ รวมทั้งปัจจัยภายนอก หรือสภาพแวดล้อมที่เลี้ยงปลา ซึ่งความหนาแน่นอาจส่งผลถึงการกินอาหาร การเกิดโรค รวมทั้งการเจริญเติบโตที่น้อยลง การทดลองที่จะทำให้การเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น โดยไม่ส่งผล

กระทบในการลดลงของความต้านทานโรค และการเจริญเติบโตย่อมเป็นสิ่งที่เกษตรกร หรือผู้เลี้ยงสัตว์น้ำพึงประสงค์ เพื่อช่วยในการเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่

การทดลองความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล แบ่งตามความหนาแน่นเป็น 30, 50, 70 และ 100 ตัวต่อตารางเมตร ผลแสดงให้เห็นว่า เมื่อปลาได้รับวัคซีนทุกความหนาแน่นมีค่าแอนติบอดีไคเตอร์สูงขึ้นทุกกลุ่มการทดลอง แต่มีค่ามากที่สุดที่อัตราความหนาแน่นที่ 30 และ 50 ตัวต่อตารางเมตร และมีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุดที่ความหนาแน่นที่ 50 ตัวต่อตารางเมตร ซึ่งการทดลองที่ไม่มีการฉีดวัคซีน ที่ความหนาแน่นสูงจะมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง จาก กิจจาและพรรณศรี (2536) รายงานว่าการเลี้ยงปลานิลสี่แดงแบบหนาแน่นในบ่อซีเมนต์ โดยทำลูกปลานิลสี่แดงแปลงเพศ อัตราการเลี้ยงที่ความหนาแน่น 50 และ 100 ตัว/ตรม. 3 ซ้ำการทดลอง เป็นเวลา 6 เดือน ผลการทดลอง พบว่า การเจริญเติบโตน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการแลกเนื้อ ผลผลิตสุทธิ และอัตราการรอดตาย อัตราความหนาแน่น 50 ตัว/ตรม. มีค่าสูงกว่า อัตราความหนาแน่น 100 ตัว/ตรม. และเมื่อมีการเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูงขึ้นทำให้มีผลต่อปริมาณของออกซิเจนที่ละลายในน้ำ Evan *et al.* (2003) รายงานว่าเมื่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำ (DO) (ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำทำให้ปลามีการตอบสนองต่อความเครียดของระบบภูมิคุ้มกันที่มีความบกพร่องการต้านทานเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ลดลงอัตราความหนาแน่นอุณหภูมิในน้ำสูงขึ้นเกิดการกระตุ้นให้ catecholamines และ corticosteroids มีการเปลี่ยนแปลงส่งผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Mazeaud *et al.*, 1977; Wedemeyer and McLeay, 1981) ระดับน้ำตาลในเลือดที่ตรวจพบถือเป็นตัวบ่งชี้ของการตอบสนองความเครียดในปลา (Thomas and Robertson, 1991; Rotllant and Tort, 1997) สอดคล้องกับ Gallage *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของการขาดออกซิเจนในปลานิลโดยการให้วัคซีน *Vibrio anguillarum* ในระดับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 55 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ และ 85 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ระดับปริมาณออกซิเจน 85 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอนติบอดีไคเตอร์สูงกว่าระดับปริมาณออกซิเจน 55 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณออกซิเจนที่มีค่าต่ำส่งผลกระทบต่อการกดภูมิคุ้มกันในปลานิลเช่นเดียวกับผลการทดลองความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับปลานิล จะช่วยให้ปลานิลมีอัตราการเจริญเติบโตไม่ลดลง ตามความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.
นิลุบล รุจินานนท์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำเกี่ยวกับการ
การศึกษาวิจัย และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราช
ภัฏมหาสารคามในการสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กิจจา ใจเย็น และ พรรณศรี จริโมภาส. 2536. การศึกษาเบื้องต้นในการเลี้ยงปลานิลสีแดงแบบหนาแน่นในบ่อซีเมนต์. วารสารการประมง 1: 496-497.
- เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2523. การป้องกันโรคแผลในปลาอุกด้านโดยวิธีการฉีดวัคซีน ผลจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ. วารสารชมรมโรคปลา 3(3): 153-160.
- จิตเกษม จันทร่อง สุปราณี ชินบุตร และ วรเทพ ศุภเมธากร. 2536. การศึกษาทางด้านการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของปลาช่อนหลังการให้วัคซีน. รายงานสัมมนาทางวิชาการประจำปี กรมประมง. 313-317 น.
- นนทวิทย์ อารีย์ชน. 2537. การใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรค *Aeromonad Septicemia* ในการเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย. รายงานการวิจัยปี 2537-2538. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ธีราภรณ์ มอโรสง, นิลุบล กิจอันเจริญ, เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว และ บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล. 2548. ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนโดยการผสมอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรค *Streptococcosis* ในปลานิล. วารสารวิจัย มข (ฉบับบัณฑิตศึกษา) 5(1): 50-58.
- นวลมณี พงศธนา. มปป. องค์ความรู้การปรับปรุงพันธุ์ปลานิล. พันธุกรรมสัตว์น้ำ. กรมประมง. (สืบค้นเมื่อ 25 กุมภาพันธ์ 2559)
Available from: URL: http://www.fisheries.go.th/technical_group/ดาวโหลด/องค์ความรู้การปรับปรุงพันธุ์ปลานิล.pdf
- นิลุบล กิจอันเจริญ. 2534. การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้วัคซีนต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและต้านทานโรคในปลาดุกอุย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นิลุบล ยูอาสา. 2545. การพัฒนาวิธีการในการป้องกันโรคที่เกิดกับปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. เอกสารประกอบการวิจัยทุนอุดหนุนประจำปี 2545. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว. 2543. สภาพการเลี้ยงปลานิลในประเทศไทย. วารสารแก่นเกษตร 28(4): 173-181.
- รัชนิ อัดดี และ อนุทิน หาญวีระพล. 2532. การใช้วัคซีนอย่างมีประสิทธิภาพ. Journal of Veterinary Biology 6(1): 1-8.
- วศิณ บุญญาวิวัฒน์, ทนวิรัตน์ ศรีสุข และ วรวิทย์ วัชชวลกุล. 2550. ประสิทธิภาพของวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข 17(1): 43-52.
- ศูนย์สารสนเทศกรมประมง. 2558. สถิติการประมงแห่งประเทศไทยปี พ.ศ. 2556. เอกสารฉบับที่ 7/2558. กรมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 80 หน้า.
- Akhlaghi, M., Munday, B.L. and Whittington, R.J. 1996. Comparison of passive and active immunization of fish against streptococcosis (enterococcosis). Journal Fish Diseases 19: 251-258.
- Eldar, A., Horovitz, A. and Bercovier, H. 1997. Development and efficacy of a vaccine against *streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout. Veterinary Immunology and Immunopathology 56: 175-183.
- Evans, J.J., Shoemaker, C.A. and Klesius, P.H. 2003. Effects of sublethal dissolved oxygen stress on blood glucose and susceptibility to *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Journal of Aquatic Animal Health 15(3): 202-208.

- Figueiredo, H.P., Netto, L.N., Leal, C.A., Pereira, U.P. and Mian, G.F. 2012. *Streptococcus iniae* outbreaks in Brazilian Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*L) farms. Braz J Microbiol 43(2): 576–580.
- Gallage, S., Katagiri, T., Endo, M., Futami, K., Endo, M. and Maita, M. 2016. Influence of moderate hypoxia on vaccine efficacy against *Vibrio anguillarum* in *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia) Fish Shellfish Immunol 51: 271-81.
- Mazeaud, M.M., Mazeaud, F. and Donaldson, E.M. 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. Transactions of the American Fisheries Society 106: 201–212.
- Pretto-Giordano, L.G., Müller, E.E., Klesius, P. and Da Silva, V.G. 2010. Efficacy of an experimentally inactivated *Streptococcus agalactiae* vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in Brazil Aquaculture Research. 41:1539-1544.
- Rotllant, J. and Tort, L. 1997. Cortisol and glucose responses after acute stress by handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. Journal of Fish Biology 51: 21–28.
- Ruangpan, L., Kitao, T. and Yoshida, T. 1986. Protective efficiency of *Aeromonas hydrophila* vaccines in Nile tilapia. Veterinary Immunology and Immunopathology 12: 345-350.
- Thomas, P. and Robertson, L. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) in handling and shallow water stressors and anesthesia with MS 222, quinaldine sulfate, and metomidate. Aquaculture 96: 68–86
- Wedemeyer, G.A. and McLeay, D.J. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: A. D. Pickering, editor. Stress and Fish. Academic Press, London. pp. 247–275.

การกำจัดสารโนนิลฟีนอลในตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยใช้พืชน้ำ

มัลลิกา ธีระกุล^{1*} และ ปิยะวดี สราภิรมย์²

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ อ. เมือง จ. กาฬสินธุ์ 46000

²สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของพืชที่มีความสามารถในการกำจัดสารโนนิลฟีนอล (Nonylphenol) ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่เป็นของเหลว โดยใช้พืชน้ำ 2 กลุ่ม ประกอบด้วย พืชที่รับประทานไม่ได้ 4 ชนิด คือ พุทธรักษา (*Canna* spp.) ผักกูดน้ำเขากวาง (*Ceratopteristhalictroides* L. Brongn) แหนแดง (*Azolla* spp.) และแพลงพวยน้ำ (*Jussieuarepens* Linn.) และพืชที่รับประทานได้ 3 ชนิด คือ ผักชีล้อม (*Foeniculumvulgare* Mill.) ใบบัวบก (*Centellaasiatica* Urban) และแว่นแก้ว (*Hydrocotyle umbellate* L.) โดยทำการปลูกพืชแต่ละชนิดลงในขวดแก้วขนาด 240 มล. ที่บรรจุสารละลายไฮโดรโปนิคส์ผสมโนนิลฟีนอลที่ความเข้มข้น 1 มก./ล. และ 20 มก./ล. ปริมาตร 200 มล. จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 21 สกัดสารละลายด้วยวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลวและวิเคราะห์ปริมาณสารโนนิลฟีนอลที่เหลืออยู่ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์พร้อมทั้งศึกษาการรอดชีวิตของพืชในวันสุดท้ายของการทดลอง จากผลการศึกษาพบว่าแพลงพวยน้ำสามารถบำบัดสารได้สูงสุด (มากกว่า 86%) เมื่อความเข้มข้นของสารโนนิลฟีนอลต่ำ (1 มก./ล.) แต่เมื่อความเข้มข้นของสารโนนิลฟีนอลสูงขึ้นเป็น 20 มก./ล. พบว่าพุทธรักษาสามารถบำบัดสารโนนิลฟีนอลได้ดีเทียบเท่ากับผักชีล้อม (มากกว่า 81%) โดยใบบัวบกสามารถบำบัดสารโนนิลฟีนอลได้ดีที่สุดในการทดลองทั้งสองความเข้มข้น คือสามารถบำบัดได้เพียง 74% (1 มก./ล.) และ 62% (20 มก./ล.) ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการปลูกพืชทั้งสองความเข้มข้น พบว่าสารโนนิลฟีนอลสามารถถูกกำจัดจากสารละลายได้น้อยกว่า 30% เมื่อศึกษาถึงการรอดชีวิตของพืชที่ปลูกในสารละลายที่ปนเปื้อนสารโนนิลฟีนอลทั้งสองความเข้มข้น พบว่าในวันสุดท้ายของการทดลองพุทธรักษา ผักชีล้อม และแว่นแก้ว มีการรอดชีวิตทั้งหมด 100% และพืชที่ไม่สามารถรอดชีวิตในวันสุดท้ายของการทดลอง คือผักกูดน้ำเขากวาง ใบบัวบก และ แหนแดง ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าโนนิลฟีนอลสามารถถูกกำจัดได้ดีในสารละลายที่มีการปลูกพืช ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพืชสามารถเร่งการกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่ตกค้างในสารละลายได้ดี

คำสำคัญ: การฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมด้วยพืช, พืชน้ำ และ สารโนนิลฟีนอล

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: mullikateerakun@gmail.com โทร 0 88561 0462

Removal of nonylphenol in aqueous media using various aquatic plants

Mullika Teerakun^{1*} Piyawadee Saraphirom²

¹Division of Biotechnology, Faculty of Agro-industrial Technology, Kalasin University, Kalasin, 46000, Thailand

²Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Maha Sarakham University,
Maha Sarakham 46000, Thailand

Abstract

This study aims to search for suitable plant species for removing nonylphenol contaminated in aqueous media. Two groups of aquatic plant, i.e. canna (*Canna* spp.), water horn fern (*Ceratopteris thalictroides* L. Brongn), azolla (*Azolla* spp.), periwinkle (*Jussiaea repens* Linn.), fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.), tiger herbal (*Centella asiatica* Urban) and water pennywort (*Hydrocotyle umbellata* L.) were grown in 240 ml glass bottle filled with hydroponics solution (200 ml) containing 1 mg/L or 20 mg/L nonylphenol. The hydroponic solution samples were taken at day 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21. The solutions were extracted by liquid – liquid extraction method in order to analyze for remaining nonylphenol residues using spectrophotometer. The results have shown that periwinkle was the best among tested species to removed nonylphenol (more than 86%) at the less concentration of nonylphenol (1 mg/L). However, when increasing of nonylphenol concentration to 20 mg/L, canna and fennel share the best ability to remove nonylphenol (more than 81%) in aqueous media. Tiger herbal was the species that removed least nonylphenol at both concentrations of 1 mg/L (74%) and 20 mg/L (62%). In the absence of aquatic plant at the both concentration (control), nonylphenol can be eliminated from the solution was less than 30%. According to the survival rate, it was found that canna, fennel and water pennywort showed 100% survival rate after being treated with nonylphenol, while water horn fern, tiger herbal and azolla could not survive through the entire experiment. These facts suggest that phytoremediation could accelerate the removal of nonylphenol residues in aqueous media.

Keywords: Phytoremediation, Aquatic plant and Nonylphenol

* Corresponding author: E-mail: mullikateerakun@gmail.com

ปัจจุบันการใช้สารเคมีทางการเกษตรของประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี ในขณะที่พื้นที่การเพาะปลูกยังคงมีอยู่เท่าเดิม โดยรายงานการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ในปี 2558 พบว่ามีปริมาณการนำเข้าสูงถึง 96,913,208 กก. (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2558) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ผลผลิตทางการเกษตรมีลักษณะตามความต้องการของผู้บริโภค ประกอบกับการใช้สารปราบศัตรูพืชให้ผลรวดเร็ว สะดวก เสียค่าใช้จ่ายน้อย ดังนั้นเมื่อมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกันเพิ่มขึ้นจึงทำให้สารเคมีเหล่านี้กระจายและสะสมตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในแหล่งน้ำพบว่ามีสารปนเปื้อนของสารเคมีที่เกิดจากกิจกรรมทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร สารกลุ่มโนนิลฟีนอลอีทอกซิเลท (Nonylphenol Ethoxylates: NPEs) เป็นสารเคมีที่ใช้เพื่อเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ (nonionic surfactant) ซึ่งสารชนิดนี้ถูกใช้ในหลากหลายอุตสาหกรรม โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดทั้งที่ใช้ในภาคอุตสาหกรรมและบ้านเรือนทั่วไป นอกจากนี้ยังใช้เป็นสาร emulsifier ในเครื่องสำอางค์ อุตสาหกรรมกระดาษ และอุตสาหกรรมเกษตรซึ่งใช้เป็นสารร่วมในการผลิตสารฆ่าแมลงเพื่อให้เกาะจับใบพืชได้ดียิ่งขึ้น (จุฑามาศ, 2556) NPEs จัดเป็นสารที่มีความเป็นพิษค่อนข้างต่ำหากใช้ในความเข้มข้นที่เหมาะสมแต่เมื่อถูกปล่อยออกมาสู่สภาพแวดล้อมจะถูกย่อยสลายโครงสร้างทางเคมีบางส่วนกลายเป็นสารโนนิลฟีนอลที่ย่อยสลายได้ยากเกิดการตกค้างในสิ่งแวดล้อม และสะสมในเนื้อเยื่อส่วนไขมันของสิ่งมีชีวิตในน้ำ (Nakada *et al.*, 2006; Soares *et al.*, 2008) โนนิลฟีนอล (nonylphenol: NP) จัดเป็นสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (endocrine disruptors) เนื่องจากสามารถเลียนแบบการทำงานของฮอร์โมน เอสโตรเจนจึงมีผลรบกวนระบบต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิดรวมทั้งสัตว์น้ำ โดยเฉพาะปลาเมื่อได้รับหรือสัมผัสสารโนนิลฟีนอลอาจมีผลกระทบต่อควบคุมวงจรสืบพันธุ์ของสัตว์ การยับยั้งการตกไข่และวางไข่ได้ในกรณีที่ปลาเผชิญต่อสารในช่วงปลายของวงจรสืบพันธุ์ และอาจกระทบต่อศักยภาพในการสืบพันธุ์ในปลาเพศผู้ ทำให้ลดจำนวนเซลล์

สืบพันธุ์เพศผู้และเกิดการกลายเป็นหมัน (Nicolas, 1999; Granmo *et al.*, 1989) เมื่อสารโนนิลฟีนอลปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมผ่านทางน้ำทั้งจากบ้านเรือน โรงงานบำบัดน้ำเสีย น้ำผิวดินจากแหล่งเกษตรกรรม จะเกิดการสะสมอยู่ในตะกอน และสามารถเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเรื่อยๆ ตามชั้นห่วงโซ่อาหารที่สูงขึ้น เช่น ผ่านทางปลา โดยมนุษย์สามารถได้รับสารนี้ผ่านทางห่วงโซ่อาหาร ทำให้ดีเอ็นเอและการทำงานของเซลล์เสียหาย (Brigden *et al.*, 2005) สารโนนิลฟีนอลสามารถกำจัดจากสิ่งแวดล้อมได้ทั้งวิธีทางกายภาพและทางเคมี เช่น การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ การย่อยสลายด้วยแสง และการออกซิไดส์ด้วยโอโซน (Nevskaia and Guerrero-Ruiz, 2001; Kawasaki *et al.*, 2001; Goto *et al.*, 2004) ซึ่งวิธีการดังกล่าวมีต้นทุนค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงเมื่อนำมาใช้ในทางปฏิบัติ ในขณะที่การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยพืช (Phytoremediation) เป็นเทคโนโลยีในการบำบัดสารมลพิษโดยการใช้พืชเพื่อลดอันตรายของสารมลพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ซึ่งเทคโนโลยีนี้สามารถประยุกต์ใช้ในการบำบัดสารมลพิษทั้งที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่อยู่ในตัวกลาง ดิน น้ำ หรือ อากาศ และเทคนิคนี้ได้ถูกนำมาใช้ในการบำบัดสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนอย่างแพร่หลายและมีประสิทธิภาพ (สถาบันสิ่งแวดล้อมอุตสาหกรรม, 2553) ข้อดีของการใช้พืชฟื้นฟูสภาพแวดล้อมมีหลายประการ เช่นเป็นเทคโนโลยีที่มีต้นทุนต่ำ ไม่รบกวนระบบนิเวศของบริเวณที่ปนเปื้อน มีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูแหล่งปนเปื้อนที่มีความเข้มข้นของสารมลพิษในระดับต่ำ และได้รับการยอมรับจากประชาชนทั่วไป (Morikawa and Erkin, 2003; วราภรณ์, 2551) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของพืชน้ำในท้องถิ่นที่มีความสามารถในการกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่เกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้จะถูกใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการบำบัดแหล่งน้ำที่เกิดการปนเปื้อนสารโนนิลฟีนอลหรือสารเคมีที่มีสมบัติใกล้เคียงกันโดยใช้กระบวนการการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยพืช

1. พืชที่ใช้ในการทดลอง

1) พืชที่รับประทานไม่ได้ 4 ชนิดคือ พุทธรักษา (*Canna spp.*) แหนแดง (*Azolla spp.*) ผักกูดน้ำเขากวาง (*Ceratopteris thalictroides* L. Brongn) และแพงพวยน้ำ (*Jussieuarepens* Linn.)

2) พืชที่รับประทานได้ 3 ชนิด คือ ผักชีล้อม (*Foeniculum vulgare* Mill.) ใบบัวบก (*Centella asiatica* Urban) และแว่นแก้ว (*Hydrocotyle umbellata* L.)

2. การเตรียมสารละลายไฮโดรโปนิคส์

สารละลายไฮโดรโปนิคส์ที่ใช้ในการวิจัยมีสารอาหารและแร่ธาตุต่างๆ อ้างอิงจาก Jiang et al. (2013) (มก./ล.) ได้แก่ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 472, KNO_3 202, KH_2PO_4 100, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 246, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27.8, EDTA-2Na 37.2, H_3BO_3 2.86, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.13, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.08, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.02 ปรับค่า pH ของสารละลายให้ได้ 7.00 ± 0.02 ด้วย 0.1 M NaOH หรือ HCl

3. การเตรียมตัวอย่างพืช

ตัวอย่างพืชน้ำที่ใช้ในการศึกษาเก็บมาจากแหล่งน้ำที่ตั้งอยู่ในพื้นที่ของมหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ การคัดเลือกพืชที่จะมาใช้ในการทดลอง จะคัดจากต้นอ่อนและคัดเลือกขนาดของต้นพืชในแต่ละชนิดที่มีขนาดใกล้เคียงกัน โดยคัดเลือกพืชแต่ละชนิดจำนวน 21 ต้นต่อชุดการทดลอง จากนั้นนำตัวอย่างพืชมาล้างทำความสะอาดแล้วนำมาแช่ในสารละลายไฮโดรโปนิคส์ประมาณ 2 สัปดาห์ เพื่อให้พืชปรับสภาพ

4. การกำจัดสารไนโตรเจน

พืชน้ำ 2 กลุ่ม ประกอบด้วย พืชน้ำที่รับประทานไม่ได้ 4 ชนิด คือ พุทธรักษา ผักกูดน้ำเขากวาง แหนแดง และแพงพวยน้ำ และพืชน้ำที่รับประทานได้ 3 ชนิด คือ ผักชีล้อม ใบบัวบก และแว่นแก้ว จะถูกนำมาศึกษาความสามารถในการกำจัดสารไนโตรเจนที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่เป็นของเหลว โดยทำการเลือกพืชทั้ง 7 ชนิด ที่มีต้นขนาดใกล้เคียงกันมาทำการปลูกลงในขวดแก้วขนาด 240 มล. ที่

บรรจุสารละลายไฮโดรโปนิคส์ผสมไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 1 มก./ล. และ 20 มก./ล. ปริมาตร 200 มล. จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 21 เพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในสารละลาย

5. การสกัดและวิเคราะห์สารไนโตรเจน

ทำการสกัดสารไนโตรเจนจากสารละลายไฮโดรโปนิคส์ด้วยวิธี liquid – liquid extraction โดยเก็บตัวอย่างสารละลาย 2 มล. จากนั้นเติมสารละลายไดคลอโรมีเทน 2 มล. ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้นให้ไนโตรเจนละลายในชั้นไดคลอโรมีเทน ปิเปตสารละลายส่วนล่างของไดคลอโรมีเทนมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร (วีรานูช และคณะ, 2552) ด้วยเครื่อง UV Spectrophotometer รุ่น UV – 1800 SHIMADZU (Japan) นำไปคำนวณหาความเข้มข้นโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานที่ใช้ไนโตรเจนความเข้มข้นต่างๆ ละลายในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน

6. การรอดชีวิตของพืช

การศึกษารอดชีวิตของพืช โดยดูปริมาณการรอดชีวิตของพืชแต่ละชนิด และทำการคำนวณหาอัตราการรอดชีวิตของพืชเป็นเปอร์เซ็นต์(%) ในวันสุดท้ายของการทดลอง

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาทำการเปรียบเทียบด้วยรูปและตาราง และคำนวณเปรียบเทียบทางสถิติของข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS 10.0 เพื่อทดสอบความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ ($p\text{-value} = 0.05$)

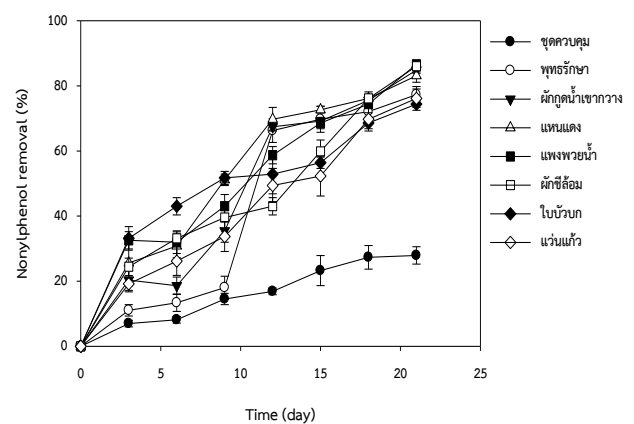
ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การศึกษาศักยภาพของพืชน้ำชนิดต่างๆ ในการกำจัดสารไนโตรเจนที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่เป็นของเหลว

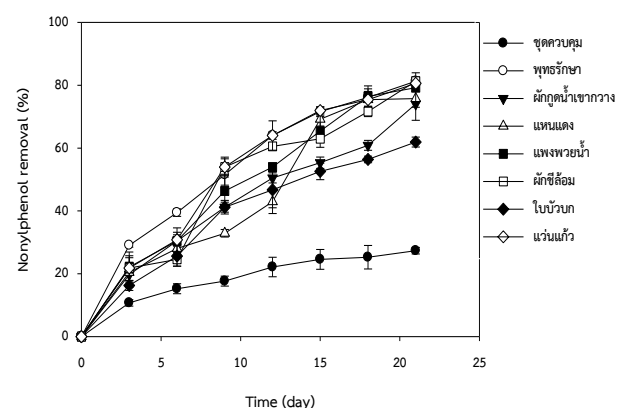
ศักยภาพในการกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่เป็นของเหลวของพืชน้ำทั้ง 7 ชนิดพิจารณาจากความเข้มข้นของสารโนนิลฟีนอลที่ตกค้างในชุดควบคุมที่ไม่มีการปลูกพืช ผลจากการศึกษาการกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่เป็นของเหลวในระดับต่ำ (1 มก./ล.) พบว่าแพลงพวยน้ำสามารถกำจัดสารได้สูงสุด (86.62%) พืชที่สามารถบำบัดสารได้รองลงมาคือ ผักชีล้อม (86.04%) ผักกูดน้ำเขากวาง (84.88%) แหนแดง (84.30%) พุทธรักษา (77.32%) และแวนแก้ว (76.16%) ตามลำดับ (ภาพที่ 1) ซึ่งพบว่าร้อยละการกำจัดสารโนนิลฟีนอลของพืช 4 ชนิด คือ แพลงพวยน้ำ ผักชีล้อม ผักกูดน้ำเขากวาง และแหนแดงมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ร้อยละการกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่เป็นของเหลวของพืชน้ำทั้ง 7 ชนิดมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุมที่ไม่มีการปลูกพืช (ตารางที่ 1) บ่งชี้ว่าพืชน้ำเหล่านี้มีศักยภาพในการกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่ความเข้มข้นต่ำได้ดีเช่นเดียวกับผักเบี้ยใหญ่ (*Portulacaoleracea*) ที่มีความสามารถในการกำจัดสารโนนิลฟีนอลและสารในกลุ่ม phenol-licendocrine disruptors เช่น บิสฟีนอล เอ (bisphenol A) ออกทิลฟีนอล (octylphenol) และ 2,4-ไดคลอโรฟีนอล (2,4-dichlorophenol) ที่ปนเปื้อนในน้ำได้มากกว่า 90% (Imai *et al.*, 2007) ในขณะที่หญ้าไรย์ (*Loliumperenne* L.) และแรดิช (*Raphanussativus* L.) สามารถกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่ปนเปื้อนน้ำได้เพียง 37 and 51% ตามลำดับที่ความเข้มข้นระดับเดียวกัน (1 มก./ล.) (Gattullo *et al.*, 2012)

จากการศึกษาศักยภาพในการกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่เป็นของเหลวของพืชน้ำที่ความเข้มข้นของสารโนนิลฟีนอลในระดับสูง (20 มก./ล.) (ภาพที่ 2) พบว่าพุทธรักษา ผักชีล้อม แวนแก้ว และแพลงพวยน้ำสามารถกำจัดสารโนนิลฟีนอลได้ดีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คือ 81.31, 81.21, 80.62 และ 79.23% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนแหนแดง ผักกูดน้ำเขากวาง และใบบัวบก สามารถกำจัดสารโนนิลฟีนอลได้เพียง 62-76% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการปลูกพืช พบว่าพืชน้ำทั้ง 7 ชนิด สามารถกำจัดสารโนนิลฟีนอลมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1) ซึ่งการกำจัดสารโนนิลฟีนอลของพืชน้ำที่ใช้ในการศึกษา

สูงถึง 80% นี้สอดคล้องกับรายงานของ Dodgen *et al.* (2013) ที่ทำการศึกษาการดูดซึมและการสะสมของสารโนนิลฟีนอลในผักกาดหอม และคะน้าฝรั่ง โดยพบว่าคะน้าฝรั่งสามารถกำจัดสารโนนิลฟีนอลได้สูงถึง 80% ในขณะที่ผักกาดหอมสามารถบำบัดสารได้น้อยกว่า 65% นอกจากนี้ยังพบว่าผักกาดก้านขาว (*Brassica napus* L. cv Hyola 401) สามารถกำจัดสารโนนิลฟีนอลได้สูงถึง 87-92% (Mortensen and Kure, 2003) จากการศึกษาของ González *et al.* (2008) และ Matsui *et al.* (2011) พบว่าสารในกลุ่มฟีนอลสามารถยึดเกาะกับส่วนที่เป็นโพลีแซคคาไรด์และโปรตีนของผนังเซลล์บนผิวของรากพืชได้ดี จึงพบรายงานการสะสมสารโนนิลฟีนอลในรากพืช โดยสามารถสะสมอยู่ในช่วง 339.2-926.9 นก./ก. น้ำหนักแห้ง (Doucette *et al.*, 2005; Dodgen *et al.*, 2013)



ภาพที่ 1 ร้อยละการกำจัดสารโนนิลฟีนอลโดยใช้พืชน้ำชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของสารโนนิลฟีนอล 1 มก./ล.



ภาพที่ 2 ร้อยละการกำจัดสารโนนิลฟีนอลโดยใช้พืชน้ำชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของสารโนนิลฟีนอล 20 มก./ล.

ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการปลูกพืชทั้งสองความเข้มข้นพบว่าสารโนนิลฟีนอลสามารถถูกกำจัดจากสารละลายได้น้อยกว่า 30% การที่สารโนนิลฟีนอลจากการทดลองในชุดควบคุมที่ไม่มีการปลูกพืชลดลงอาจมีสาเหตุเนื่องมาจากการระเหย ซึ่งสารโนนิลฟีนอลมีค่าคงที่ของเฮนรี (Henry's law constants) อยู่ในช่วง 10^5 ถึง 10^7 บรรยากาศ-ม.³/โมล (atm-m³/mole) บ่งชี้ว่ามีคุณสมบัติในการระเหยจากตัวกลางที่เป็นของเหลวในระดับปานกลาง (Lyman *et al.*, 1990) สอดคล้องกับการศึกษาของ Doucette *et al.* (2005) พบว่าในระบบไฮโดรโปนิค 13% ของสารโนนิลฟีนอลที่ถูกเติมลงไปการทดลองในชุดควบคุมจะสูญหายไปเนื่องจากกระบวนการระเหย

ตารางที่ 1 ร้อยละการกำจัดสารโนนิลฟีนอลโดยใช้พืชน้ำชนิดต่างๆในวันที่ 21 ของการทดลอง

พืช	การกำจัดสารโนนิลฟีนอล (%)	
	ความเข้มข้นเริ่มต้นของโนนิลฟีนอล 1 มก./ล.	20 มก./ล.
พุทธรักษา	77.33±1.74b	81.31±1.04d
ผักกูดเขากวาง	84.88±1.01c	74.05±1.04c
แห่นาง	83.14±2.01c	75.78±3.91c
แพงพวยน้ำ	86.63±1.01c	79.24±2.76cd
ผักชีล้อม	86.05±1.73c	81.21±1.04d
ใบบัวบก	74.42±1.02b	61.94±1.59b
แว่นแก้ว	76.16±3.63b	80.62±1.60d
ชุดควบคุม	27.91±2.66a	27.34±1.04a

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a, b, c, d) ในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. การรอดชีวิตของพืช

การศึกษการรอดชีวิตของพืชที่ปลูกในสารละลายที่ปนเปื้อนสารโนนิลฟีนอลทั้งสองความเข้มข้นโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อชนิด พบว่าในวันสุดท้ายของการทดลอง พุทธรักษา ผักชีล้อม และแว่นแก้ว มีการรอดชีวิตทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 100 (ตารางที่ 2) ถึงแม้พุทธรักษาจะมีการรอดชีวิตทั้งหมด 100% แต่ที่ความเข้มข้น 20 มก./ล. พบว่าใบล่างสุดของต้นพุทธรักษาเริ่มมีสีเหลืองในวันที่ 6 ของการทดลอง ในขณะที่ใบและลำต้นของผักชีล้อม และแว่นแก้ว ยังคงมีสีเขียวสดตลอดการทดลอง ส่วนแพงพวยน้ำ มีร้อยละ

การรอดชีวิตเป็น 100% แต่ร้อยละการรอดชีวิตเป็น 66% เมื่อความเข้มข้นโนนิลฟีนอลเพิ่มขึ้นเป็น 20 มก./ล. และพืชที่ไม่สามารถรอดชีวิตในวันสุดท้ายของการทดลอง คือผักกูด น้ำเขากวาง ใบบัวบก และแห่นาง โดยพืชน้ำทั้ง 3 ชนิดเริ่มพบใบมีสีเหลืองตั้งแต่วันที่ 9 ของการทดลอง จนกระทั่งวันที่ 21 ของการทดลองพบว่าใบและลำต้นของพืชทั้ง 3 ชนิดเหี่ยวเฉาและเป็นสีน้ำตาล จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าพุทธรักษา ผักชีล้อม และแว่นแก้ว สามารถเจริญเติบโตและทนทานต่อสารโนนิลฟีนอลได้ดีทั้งในสภาวะที่มีความเข้มข้นของสารต่ำและสูงเกินไป ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นของปริมาณสารมลพิษส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของพืชโดยทำให้ความสูงของใบ ความยาวของรากและระยะการเจริญเติบโตของพืชลดลง เนื่องจากพืชดูดซับสารมลพิษเข้าไปสะสมในลำต้นทำให้กระบวนการเจริญเติบโตภายในรากและลำต้นผิดปกติไปส่งผลให้ชะลอการเจริญเติบโตทางรากและลำต้น จนแห้งตายไป (ปิยะดา และคณะ, 2556) นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของสารมลพิษที่สูงขึ้น ส่งผลให้น้ำหนักสดของพืชลดลง และลดการสะสมน้ำในเนื้อเยื่อ (ชนิษฐา และคณะ, 2554)

ตารางที่ 2 การรอดชีวิตของพืชวันสุดท้าย (%) ในสภาวะที่มี การปนเปื้อนของสารโนนิลฟีนอล

พืช	ชุดควบคุม	การรอดชีวิตของวันสุดท้าย (%)	
		ความเข้มข้นเริ่มต้นของโนนิลฟีนอล	
		1 มก./ล.	20 มก./ล.
พุทธรักษา	100	100	100
ผักกูดเขากวาง	100	0	0
แห่นาง	100	0	0
แพงพวยน้ำ	100	100	66
ผักชีล้อม	100	100	100
ใบบัวบก	100	0	0
แว่นแก้ว	100	100	100

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการกำจัดสารโนนิลฟีนอลที่ปนเปื้อนในตัวกลางที่เป็นของเหลวโดยใช้พืชน้ำ 7 ชนิดพบว่าพืชมีความสามารถในการบำบัดสารได้สูงโดยรวมมากกว่า 70 -80% โดยพืชที่มีความสามารถสูงสุดในบำบัด

สารโนนิลฟีนอลที่ความเข้มข้นของสารต่ำ (1 มก./ล.) คือ แผลพวยน้ำ ในขณะที่พุทธรักษาและผักชีล้อมสามารถบำบัดสารได้ดีเมื่อความเข้มข้นของสารโนนิลฟีนอลสูงขึ้นเป็น 20 มก./ล. โดยพบว่าใบบัวบกสามารถบำบัดสารโนนิลฟีนอลได้ต่ำที่สุดในการทดลองทั้งสองความเข้มข้น คือสามารถบำบัดได้เพียง 74% (1 มก./ล.) และ 62% (20 มก./ล.) นอกจากนี้การรอดชีวิตของพืชที่ปลูกในสารละลายที่ปนเปื้อนสารโนนิลฟีนอลทั้งสองความเข้มข้นในวันสุดท้ายของการทดลอง ได้แก่ พุทธรักษา ผักชีล้อม และแวนแกว่ มีการรอดชีวิตทั้งหมดคิดเป็น 100% ในขณะที่แผลพวยน้ำ มีการรอดชีวิตเป็น 100% เมื่อปลูกในสารละลายที่ปนเปื้อนสารโนนิลฟีนอลต่ำ และการรอดชีวิตลดลงเหลือเพียง 66% เมื่อปลูกในสารละลายที่ปนเปื้อนสารโนนิลฟีนอลสูง และพืชที่ไม่สามารถรอดชีวิตในวันสุดท้ายของการทดลอง คือ ผักกูดน้ำ เขากวาง ใบบัวบก และแห่นางแมว จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าพุทธรักษา ผักชีล้อม และแวนแกว่ เป็นพืชที่มีความสามารถในการกำจัดและทนทานต่อสารโนนิลฟีนอลในสถานะที่มีความเข้มข้นสูงได้ดี ซึ่งผลจากการศึกษาสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการฟื้นฟูแหล่งน้ำที่ปนเปื้อนสาร

โนนิลฟีนอล โดยเฉพาะกลุ่มเกษตรกรที่เพาะเลี้ยงสัตว์สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการจัดการฟาร์มเพื่อช่วยลดผลกระทบต่อการใช้พื้นที่ในปลาเพาะผู้และสัตว์น้ำอื่นๆ รวมทั้งลดการสะสมของสารดังกล่าวในห่วงโซ่อาหารและสิ่งแวดล้อม

กิตติกรรมประกาศ

ผู้ดำเนินการวิจัยขอขอบคุณกลุ่มวิจัยเพื่อการพัฒนากระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากวัตถุดิบมวลชีวภาพ โดยจุลินทรีย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ซึ่งได้ให้ความอนุเคราะห์สารเคมีและเครื่องมือในการวิเคราะห์ และขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- ชนิษฐา สมตระกูล, ดวงอนงค์ ผลาผล, จำปีไชยเมืองคุณ และวราภรณ์ อูยฉาย. 2554. ความเป็นพิษของฟลูออแรนทีนและฟิแนนทีนที่ปนเปื้อนในดินต่อการเจริญของพืชเศรษฐกิจระยะต้นกล้า. วารสาร มทร. อีสาน. 4: 19-26.
- จุฑามาศ โกเมนไทย. 2556. สารตกค้างอันตรายจากโรงงานฟอกย้อม. (สืบค้นเมื่อ 15 กุมภาพันธ์ 2557) Available from: URL: <http://www.thaitextile.org/main/content.php>
- ปิยะดา วชิระวงศกร, ภิญโญ กรุดรูป และโสภา สุขดี. 2556. การบำบัดน้ำที่ปนเปื้อนไฮยาไนด์โดยการใช้น้ำยาฟอก. การประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมนครสวรรค์ครั้งที่ 9 เรื่อง การจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมในภูมิภาคอาเซียน. 1 สิงหาคม 2556. มหาวิทยาลัยนครสวรรค์. พิษณุโลก: 101-107น.
- วราภรณ์ อูยฉาย. 2551. การฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมด้วยพืช. วารสารวิชาการราชภัฏตะวันตก. 3: 134-145.
- วีรานุชกลาง, ชมารณ เดชมา, วันวิสาข์ บุณยบริรักษ์ และ สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล. 2552. แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการดูดซับและการคายสารโนนิลฟีนอลด้วยเส้นใยราไรซ์ชีวิตที่เจริญและถูกตรึงในเม็ดไคโตซาน. Environment Natural Resources J. 7: 82-97.
- สถาบันสิ่งแวดล้อมอุตสาหกรรม สภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย. 2553. การบำบัดสารมลพิษโดยใช้เทคโนโลยี PHYTOREMEDIATION. Modern Manufacturing. 8(93): 74.
- สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2558. รายงานสรุปการนำเข้าวัตถุดิบอันตรายทางการเกษตรปี พ.ศ.2558 (ม.ค.-มิ.ย.). (สืบค้นเมื่อ 28 มีนาคม 2559) Available from: URL: <http://www.thaipan.org/node/826>.

- Brigden, K., Labunska, I., Santillo, D. and Allsopp, M. 2005. Greenpeace Research Laboratories, Department of Biological Sciences, University of Exeter, Exeter EX4 4PS, UK report: recycling of electronic waste in China and India: work place and environmental contamination. Greenpeace International.
- Dodgen, L.K., Li, J., Parker, D. and Gan, J.J. 2013. Uptake and accumulation of four PPCP/EDCs in two leafy vegetables. *Environ. Pollut.* 182: 150-156.
- Doucette, W.J., Wheeler, B.R., Chard, J.K., Bugbee, B., Naylor, C.G., Carbone, J.P. and Sims, R.C. 2005. Uptake of nonylphenol and nonylphenolethoxylates by crested wheatgrass. *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 2965-2972.
- Gattullo, C.E., Cunha, B., Rosa, A.H. and Loffredo, E. 2013. Removal of a combination of endocrine disruptors from aqueous systems by seedlings of radish and ryegrass. *Environ. Technol.* 34: 3129-3136.
- González, P.S., Agostini, E. and Milrad, S.R. 2008. Comparison of the removal of 2,4-dichlorophenol and phenol from polluted water, by peroxidases from tomato hairy roots, and protective effect of polyethylene glycol. *Chemosphere.* 70: 982-989.
- Goto, R., Kubota, T., Ibuki, Y., Kaji, K. and Goto, A. 2004. Degradation of nonylphenolpolyethoxylates by ultraviolet B irradiation and effects of their products on mammalian cultured cells. *Toxicology.* 202: 237-247.
- Granmo, A., Ekelund, R., Magnusson, K. and Berggren, M. 1989. Lethal and sublethal toxicity of 4-nonylphenol to the common mussel (*Mytilus edulis* L.). *Environ. Pollut.* 59: 115-127.
- Imai, S., Shiraishi, A., Gamo, K., Watanabe, I., Okuhata, H., Miyasaka, H., Ikeda, K., Bamba, T. and Hirata, K. 2007. Removal of phenolic endocrine disruptors by *Portulacaoleracea*. *J. Biosci. Bioeng.* 103: 420-426.
- Jiang, C., Wu, Q., Zeng, S., Chen, X., Wei, Z. and Long, X. 2013. Dissolution of different zinc salts and Zn uptake by *Sedum alfredii* and maize in mono- and co-cropping under hydroponic culture. *J. Environ. Sci.* 25: 1890-1896.
- Kawasaki, N., Araki, M., Nakamura, T. and Tanada, S. 2001. Inclusion behavior of 4-nonylphenol into cyclodextrin derivatives. *J. Colloid. Inter. Sci.* 238: 215-218.
- Lyman, W., Reehl, W. and Rosenblatt, D. 1990. Handbook of Chemical Property Estimation Methods: American Chemical Society, Washington, DC.
- Morikawa, H. and Erkin, O.C. 2003. Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control. *Chemosphere.* 52: 1553-1558.
- Mortensen, G.K. and Kure, L.K. 2003. Degradation of nonylphenol in spiked soils and in 458 soils treated with organic waste products. *Environ. Toxicol. Chem.* 22: 718-721.
- Matsui, T., Nomura, Y., Takano, M., Imai, S., Nakayama, H., Miyasaka, H. 2011. Molecular cloning and partial characterization of a peroxidase gene expressed in the roots of *Portulacaoleracea* cv., one potentially useful in the remediation of phenolic pollutants. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75: 882-890.

- Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., Kiri, K. and Takada, H. 2006. Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment. *Water Res.* 40: 3297-3303.
- Nevskaia, D.M. and Guerrero-Ruiz, A. 2001. Comparative study of the adsorption from aqueous solutions and the desorption of phenol and nonylphenol substrates on activated carbons. *J. Colloid. Interface. Sci.* 234: 316-321.
- Nicolas, J.M. 1999. Review vitellogenesis in fish and the effects of PAH contaminants. *Aquatic Toxicology.* 45: 77-90.
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E. and Lester, J.N. 2008. Nonylphenol in the Environment: A Critical Review on Occurrence, Fate, Toxicity and Treatment in Wastewaters. *Environ. Inter.* 34: 1033-1049.

Promising lipid source for biodiesel production from *Desmodesmus* sp. RMUO8 (Sphaeropleales: Scenedesmaceae)

Yuwadee Insumran*

*Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Maha Sarakham University,
Meug Maha Sarakham, 44000 Thailand*

Abstract

Desmodesmus sp. RMUO8 strain was isolated from a freshwater pond. Identification was performed using physiological and molecular approaches determined by internal transcribed spacer (ITS) sequence analysis. The obtained DNA sequences were analyzed and identified by comparison with deposited sequences on NCBI. Based on BLAST searches against the GenBank database, these sequences were identical to *Desmodesmus communis* JQ922412, JX101322, JX101325 and JX101323 (99%). Gas chromatography analysis revealed that *Desmodesmus communis* RMUO8 contained unsaturated fatty acids including oleic and linoleic acid (47.03 and 16.76%), respectively, of total percent content. Thus, RMUO8 biomass could be used as a suitable feedstock for biodiesel production.

Keywords : Biodiesel; *Desmodesmus* sp., Microalgal oil and Green microalgae

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

ศักยภาพของสาหร่ายสีเขียว *Desmodesmus* sp. RMUO8 (Sphaeropleales:
Scenedesmaceae) สำหรับผลิตไบโอดีเซล

ยุวดี อินสำราญ*

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ.เมือง จ.มหาสารคาม 44000

บทคัดย่อ

Desmodesmus sp. RMUO8 ถูกคัดแยกมาจากบ่อน้ำจืด จำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและระบุเครื่องหมายยีนตาม internal transcribed spacer (ITS) นำลำดับยีนที่ได้ (DNA sequences) เก็บไว้ในฐาน NCBI จากการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank พบว่า *Desmodesmus* sp. RMUO8 มีลักษณะคล้ายกับ *Desmodesmus communis* (JQ922412, JX101322, JX101325 และ JX101323) (99%) ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีพบว่า *Desmodesmus* sp. RMUO8 มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวประกอบด้วย oleic และ linoleic acid ร้อยละ 47.03 และ 16.76 ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณสูงพอ ดังนั้น *Desmodesmus* sp. RMUO8 สามารถเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาผลิตไบโอดีเซล

คำสำคัญ : น้ำมันไบโอดีเซล, *Desmodesmus communis*, สาหร่ายขนาดเล็กที่น้ำมัน และสาหร่ายสีเขียว

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: Insumran_y@hotmail.com

Introduction

Biofuel production from microalgae has been very important in recent years as an alternative fuel source (Carlos *et al.*, 2014). Microalgae are exceedingly rich in lipids, which can be converted to biofuel. The use of algae for biofuel production has the great additional benefit as algae can sequester CO₂ and capture solar energy 10–50 times more efficiently than terrestrial plants (Snchez *et al.*, 2003). Microalgae are the fastest growing photosynthesizing organisms, and many are exceedingly rich in oil. Approximately 46 tons of oil/ha/year can be produced from diatom algae; different algae species produce different amounts of oil, with some producing up to 50% oil by weight (Demirbas, 2009). Moreover, the yields from microalgae are approximately 10 times higher than those of land plants, so much less land is needed (Chisti, 2007). Several studies have indicated the good biodegradability of biodiesel fuels in aqueous milieu and soil, and this has also been observed in mixtures of biodiesel and diesel fuel (Pasqualino *et al.*, 2006).

There have been several studies dealing with the feasibility of biodiesel production from different microalgae e.g. *Botryococcus*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Scenedesmus*, *Volvox* and *Chlamydo-monas* (Chisti, 2007; Sialve *et al.*, 2009). Micro-algae have the potential to provide enough biodiesel to completely displace petroleum-derived transport fuels, such as gasoline, jet fuel and diesel. In a dramatic contrast with the best oil-producing crops, microalgal biodiesel has the potential for the complete displacement of petroleum-derived transport fuels without adversely affecting supplies of food and other agricultural products. It has been demonstrated that microalgal biodiesel is a better

alternative than bioethanol from sugarcane, which is currently the most widely used transport biofuel (Gray, 2006).

The objective of this study was to isolate and determine the composition of fatty acid methyl esters derived from a naturally isolated strain of a *Desmodesmus communis*. Moreover, the partial ITS sequences of the ITS rDNA gene of the naturally isolated *Desmodesmus communis* were sequenced to guide species identification.

Methods

1. Isolation, identification and cultivation of microalga

Microalgae were isolated using the capillary pipette method (Hoshaw and Rosowski, 1973) from a water sample collected from an artificial freshwater pond in Maha Sarakham Province, Northeastern Thailand in 2014. The *Desmodesmus communis* RMUO8 green colonies were separated and cultured in Erlenmeyer flasks containing 1 L BG-11 medium which contained 1,500 mg of NaNO₃, 40 mg of K₂HPO₄, 75 mg of MgSO₄·7H₂O, 36 mg of CaCl₂·2H₂O, 6 mg of citric acid, 6 mg of ferric ammonium citrate, 1 mg of EDTA-Na₂, 20 mg of Na₂CO₃, 2.86 mg of H₃BO₃, 1.86 mg of MnCl₂·4H₂O, 0.22 mg of ZnSO₄·7H₂O, 0.39 mg of Na₂MoO₄·2H₂O, 0.08 mg of CuSO₄·5H₂O, and 0.05 mg of Co(NO₃)₂·6H₂O per liter. The initial pH value of medium was adjusted to 7.0 with 1 mol/L HCl. While being shaken at 125 rpm, 28±2°C and under 16:8 light:dark cycles with a light intensity of 33 μEm⁻² s⁻¹ for 20 days. Cultures were harvested, and the dry biomass and lipid content were estimated at the station phase of growth. The strain was deposited in the Department of Biology, Faculty of

Science and Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Thailand.

2. DNA extraction and amplification

Genomic DNA was extracted using the Plant Genomic DNA Extraction Kit (RBC Bioscience Corp., Taiwan). Cells were ground into a powder in liquid nitrogen and DNA was extracted following the manufacturer's protocol. DNA samples were stored at -20°C . A fragment of the ITS region (internal transcribed sequence of ribosomal RNA gene) was amplified using the primers ITS1 and ITS4 (White *et al.*, 1990). The PCR reaction was performed in a total volume of 50 μL containing 1x reaction buffer, 1.5 mM MgCl_2 , 0.2 mM of each dNTP, 2.5 μM of each primer, 0.4 units of *Taq* DNA polymerase (RBC Bioscience, Taiwan) and 2 μL of DNA sample (diluted 1:20 in ddH_2O). The temperature profile was 94°C for 2 min; followed by 36 cycles of denaturing at 94°C for 45 s, annealing at 50°C for 45 s and extension at 72°C for 1.30 min; and a final extension at 72°C for 5 min. PCR products were checked on a 1% agarose gel containing 0.125 mg/L ethidium bromide. The PCR products were cleaned using the PCR purification kit (RBC Bioscience, Taiwan) and were sequenced using the same primers as in the PCR by the Macrogen DNA Sequencing Service (Seoul, Korea).

3. Data analysis of amplified sequence

Sequences were aligned using the Clustal W algorithm in BioEdit (Hall, 1999) followed by manual editing as appropriate. Sequences were deposited in GenBank under accession numbers KP797884. Neighbor-joining (NJ) was implemented in MEGA 6 Version 6.0.5 (Tamura *et al.*, 2013) and branch support for NJ was calculated using the bootstrapping method with 1000 replicates. For

phylogenetic analyses, ITS sequences of *Neodesmus* sp. (HQ218940) in from the Genbank were used as an out group (Pan *et al.*, 2011).

4. Extraction of total lipids and transesterification of fatty acids

Lipids were obtained by extracting the freeze dried algal biomass with hexane in a Soxhlet extractor (Becker, 1994). Fatty acid methyl ester (FAME), production was obtained via esterification of the extracted algal lipid using sulfuric acid as the catalyst, and the reactions were performed in 50:1 molar ratio (methanol: oil). H_2SO_4 (100% based on oil weight) was used as the catalyst at 30°C , and it was spun at 130 rpm for 4 h (Miao and Wu, 2006). The fatty acid compositions in the FAME were analyzed using a HP6850 Gas Chromatograph equipped with a cross-linked capillary FFAP column (FFAP, a reaction product of polyethylene glycol 20000 and 2-nitrophthalic acid, Crompton, 2000) length 30 m, 0.32 mm I.D., 0.25 μm film thickness and flame ionization detector. Operating conditions were as follows: inlet temperature 290°C , initial oven temperature 210°C held for 12 min then ramped to 250°C at $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$, hold for 8 min and the detector temperature was 300°C . Fatty acids were identified by comparing their retention times with standards based on their respective peak areas and normalized.

Results and Discussion

The ITS sequence of the *Desmodesmus* sp. RMUO8 isolate had 99% similarity to the ITS sequences in Genbank from several *Desmodesmus communis*: JQ922412, JX101322, JX101325 and JX101323 (Table 1) and lower similarity to other *Desmodesmus* species, such as *Desmodesmus*

asymmetricus (DQ417549). These results suggest that the RMUO8 isolate belongs to *Desmodesmus communis*, or a closely related species. The multiple sequence alignments as well as the similarities between the studied sequences and conserved domains are shown with a color scale (Fig. 1). The ITS sequences of the *Desmodesmus communis* RUM08 from Thailand indicated that it was genetically distinct from morphologically closely related taxa from other geographic regions. The morphology of the *Desmodesmus communis* RUM08 included spines extending from the cell (Pan, 2011; Lurling, 2003; Vanormelingen *et al.*, 2007). The *D. communis* clade was divided into two major clades. Samples from Thailand and *D. communis* from the Romania (Genbank accession number JQ922412) formed a clade with *D. communis* from the Romania (Genbank accession number JX101322, JX101325 and JX101323) (Fig. 2).

The Gas chromatography (GC) analysis revealed that the lipids from *Desmodesmus* sp. RMUO8 contained oleic, palmitic and linoleic acid fatty acids (47.03, 34.61, and 16.76%, respectively, of total fatty acids) which are comparable to conventional vegetable oil used for biodiesel production (Miao and Wu, 2006). Some fatty acids such as capric, myristic, arachidic and linolenic were found less than 1%. The fatty acids suitable for biodiesel derived from *Desmodesmus communis* RMUO8 were the unsaturated fatty acid (64.2%) (Table 2). In addition, *Desmodesmus* sp. showed high contents of oleic acid, about 47.03 % C18:1 and a very low content of capric acid. It was also reported from the previous study which found that *Desmodesmus* spp. can synthesize lipids with the main fatty acids were palmitic, linoleic and oleic

(70–80% of total fatty acids) (Pan, 2011). Also, Mata *et al.* (2010) found fatty acids from *Desmodesmus* sp. in the range C14–C22, with the major acids being palmitic, oleic and linoleic acid. Oleic acid predominates in *Desmodesmus* sp. (more than 80% of the total fatty acids) (Kaur *et al.*, 2012).

The fatty acids of microalgae isolated from lakes and freshwater ponds in Southern Thailand were mostly represented by saturated and monoenoic acids with chain lengths ranging from C12 to C22; the dominant fatty acids were palmitic and oleic acids (Yeesang and Cheirsilp, 2011). The amount of unsaturated fatty acids from the *Desmodesmus* sp. RMUO8 were higher than those found from *Chlamydomonas* sp. JSC4 which has only 46.3% of the total unsaturated fatty acids.

The fatty acid composition of the *Desmodesmus* sp. RMUO8 isolated from a freshwater pond in Northeastern Thailand is mostly unsaturated fatty acids (>50% total fatty acid). The high content of unsaturated fatty acids was shown by the low oxidative stability, but high fuel properties at low temperatures. Total percentage of unsaturated fatty acid from *Desmodesmus* sp. RMUO8 showed higher amount than those produced from crude palm oil, crude coconut oil, palm stearin, and palm olein but lower than those produced from soybean oil and sunflower oil (Nakpong and [Wootthikanokkhan](#), 2010). In the US biodiesel was mostly produced from corn oil and soybean oil. Soybean oil contains linoleic and oleic acids at 53.7% and 23.3%, respectively (Yeesang and Cheirsilp, 2011; O'Brien, 1988). Therefore, the biodiesel from *Desmodesmus* sp. RMUO8 also a good resource to produce biodiesel as from soybean oil.

Figure. 1 Tabular format of multiple alignments from seven ITS rDNA genes of *Desmodesmus* strains from the Genbank database using the CLC sequence viewer software, version 5.1.1. Sequence names appear at the beginning of each row and the residue position is indicated by the numbers at the top of the alignment columns. The level of sequence conservation is shown on a color scale with red residues being the least conserved and blue residues being the most conserved. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.

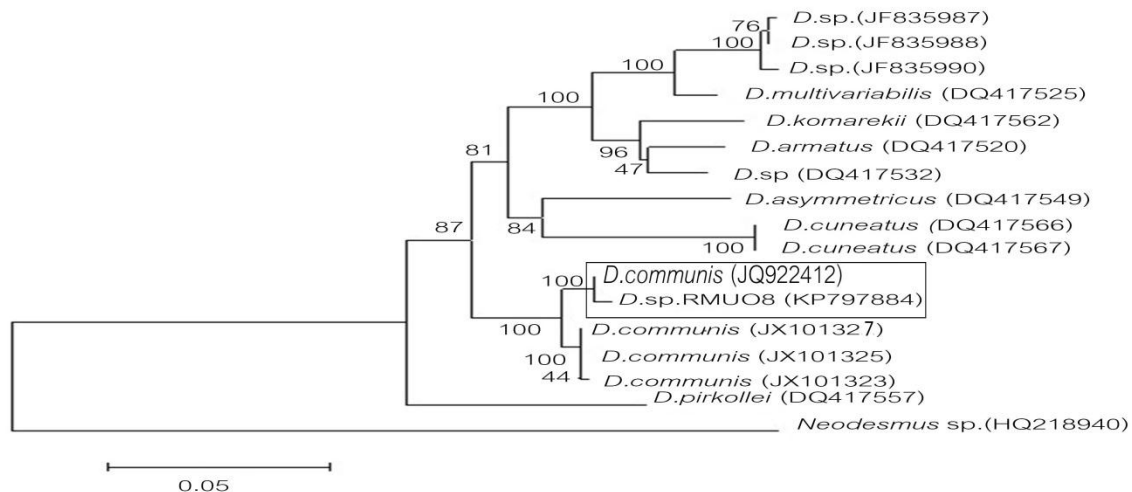


Figure. 2 Phylogenetic tree of *Desmodesmus communis* RMUO8 (KP797884), and its closely related species. This tree shows that the four strains are closely related to species in the family of Scenedesmaceae. *Neodesmus* sp. (HQ218940) serves as an outgroup in this analysis. The numbers in the parenthesis are the accession numbers of the respective ITS sequences in GenBank. The scale bar measures the distance between species. Numbers at the nodes indicate bootstrap values (expressed as a percentage) with 1,000 replicates, which sequences were used to construct the Clustal W alignment.

Table 2. Fatty acid composition of lipid from *Desmodesmus* sp. RMUO8.

Fatty acid	Total (% total fatty acids)
Saturated fatty acid	
Capric acid, C8:0	0.14
Myristic acid, C14:0	0.41
Palmitic acid, C16:0	34.61
Stearic acid, C18:0	0.34
Arachidic acid, C20:0	0.29
Unsaturated fatty acid	
Oleic acid, C18:1	47.03
linoleic acid, C18:2	16.76
linolenic acid, C18:3	0.41

There have been several studies dealing with the feasibility of biodiesel production from microalgae (Chisti, 2007; Sialve *et al.*, 2009; Ho *et al.*, 2014) such as screening Microalgae strains for biodiesel production found that the highest lipid yields were observed for *Botryococcus braunii* and *B. terribilis* (Nascimento *et al.*, 2013). The *Desmodesmus* sp. RMUO8, a fresh water

green algae, unifies several properties that is an ideal candidate for biodiesel production because it easily to handle and fast growing. Genetic knowledge and mutant collection are also available thus provides the basis for this choice (Morowavat *et al.*, 2010; Rupprecht, 2009). Furthermore, the advantage of using algae is that they were prior use in industrial processes

thus, experience is available to perform at larger scale (Rupprecht, 2009).

Acknowledgements

This study was financially supported by a grant from the National Research Council of

Thailand (Grant no. 66283) and Rajabhat Maha Sarakham University, Thailand. I would like to thank Assoc. Prof. Dr. Pairot Pramual (Maha sarakham University, Thailand) for comments on an earlier version of the manuscript.

References

- Becker, E.W. 1994. Microalgae: Biotechnology and microbiology, Cambridge University Press: New York.
- Carlos, J.D., Eduardo, B.S, Ricardo, A., Dolivar, C.N. and Carlos, R.S. 2014. Production of biofuels from algal biomass by fast pyrolysis. *Biofuels from Algae*. 143–153.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv* 25: 294–306.
- Demirbas, A. 2009. Biofuels, Securing the Planet's Future Energy Needs. Springer Verlag: London.
- Gray, K.A. 2006. Bioethanol. *Curr Opin Chem Biol* 10: 141–146.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit : a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95–98.
- Hoshaw, R.W. and Rosowski, J.R. 1973. Methods for microscopic algae. In: Stein JR, editor. Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurements. Cambridge University Press: London.
- Ho, S.H, Nakanish, N., Ye, X., Chang, J.S., Hara, K., Hasunma, T. and Kondo, A. 2014. Optimizing biodiesel production in marine *Chlamydomonas* sp. JSC4 through metabolic profiling and an innovative salinity-gradient strategy. *Biotechnol Biofuels* 7(97): 1-16.
- Kaur, S., Sarkar, M., Srivastava, R.B., Gogoi, H K. and Kalita, M. C., 2012. Fatty acid profiling and molecular characterization of some freshwater microalgae from India with potential for biodiesel production. *New biotechnol* 29(3): 332-344.
- Lurling, M., 2003. Phenotypic plasticity in the green algae *Desmodesmus* and *Scenedesmus* with special reference to the induction of defensive morphology. *Int J Lim* 39: 85–101.
- Mata, T.M. Matins, A.A. and Chaetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew Sust Energy Rev* 14: 217–232.
- Miao, X. and Wu Q., 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Biosci Technol* 97: 841–846.
- Morowvat, M. H, Sara, R-A. and Younes, G., 2010. *Chlamydomonas* as a “new” organism for biodiesel production. *Biosci Technol* 101: 2059–2062.
- Nascimento, I. A., Marques, S.S. I., Cabanelas, I. T. D., Pereira, S. A., Druzian, J. I., De Souza, C. O., Vich, D. V., De Carvalho, G. C. and Nascimento, M. A. 2013. Screening microalgae strains for biodiesel production: Lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria. *BioEnergy Res* 6: 1–13.

- Nakpong, P. and Wootthikanokkhan, S. 2010. High free fatty acid coconut oil as a potential feedstock for biodiesel production in Thailand. *Renew Energ* 35 (8): 1682–1687.
- O'Brien, R.D. 1988. *Fats and oils*. Lancaster Technomic Publishing Co.: United Kingdom.
- Pan, Y.Y., Wanga, S.T., Chuang, L.T., Chang, Y.W. and Nathan Chen, C.N. 2011. Isolation of thermo-tolerant and high lipid content green microalgae: Oil accumulation is predominantly controlled by photosystem efficiency during stress treatments in *Desmodesmus*. *Bioresour Technol* 102: 10510 –10517.
- Pasqualino, J.C., Montané, D. and Salvadó, J. 2006. Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. *Biomass Bioenerg* 30: 874 – 879.
- Rupprecht, J. 2009. From systems biology to fuel – *Chlamydomonas reinhardtii* as a model for a systems biology approach to improve biohydrogen production. *Biotechnol* 142: 10 – 20.
- Sialve, B., Bernet, N. and Bernad, O. 2009. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnol Adv* 27: 409 – 416.
- Snchez, M.A., Cern G., M.C., Contreras Gmez, A., Garca Camacho, F., Molina Grima, E. and Chisti, Y. 2003. Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors. *Biochem Eng J* 16: 287–297.
- Tamura, K., Stecher G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol Biol Evol* 30: 2725–2729.
- Vanormelingen, P., Hegewald, E., Braband, A., Kitschke, M., Friedl, T. and Vyverman, K.S. 2007. The systematics of a small spineless *Desmodesmus* species, *D. costatogranulatus* (Sphaeropleales, Chlorophyceae) based on ITS2 sequence analyses and cell wall morphology. *J Phycol* 43: 378–396.
- Yeesang, C. and Cheirsilp, B. 2011. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. *Bioresour Technol* 102: 3034–3040.
- White, T.J., Bruns T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR protocols. A guide to Methods and Applications* (ed. Innes, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White T.J.), pp. 315 – 322. Academic Press, Inc.: San Diego, California.

การใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ของโภชนะและกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนในโคพื้นเมือง

กันยา พลแสน ฉลอง วชิราภากร* จันทิรา วงศ์เนตร และ วรางคณา แดนสีแก้ว

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (yeast-fermented ethanol cassava waste, YEW) ในสูตรอาหารผสมสำเร็จของโคพื้นเมือง โดยใช้โคพื้นเมืองเพศเมียน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 140 ± 5 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว วางแผนการทดลองแบบ 4×4 จัตรัสลาติน มีสูตรอาหารทดลอง คือ กากเอทานอลหมักยีสต์ที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ จากการทดลองพบว่า ระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหารผสมสำเร็จไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้ ($P > 0.05$) แต่ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบอินทรีย์วัตถุ โปรตีนหยาบ เยื่อใยที่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง และเยื่อใยที่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด และค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้มีค่าลดลงแบบเป็นเส้นตรง ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตาม การเพิ่มระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในกระเพาะรูเมน และยูเรียในกระแสเลือดของโคพื้นเมือง ($P > 0.05$) นอกจากนี้ ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ทั้งหมด กรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทีริกในกระเพาะรูเมนไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ในขณะที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกและสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิโอนิกเพิ่มขึ้นแบบเส้นโค้งกำลังสองจากการเพิ่มระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ จากการทดลองสรุปได้ว่ากากเอทานอลหมักยีสต์สามารถใช้ได้ในระดับที่เหมาะสมคือ 10 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ

คำสำคัญ : กากเอทานอลหมักยีสต์ อาหารผสมสำเร็จ และโคพื้นเมือง

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: chal_wch@kku.ac.th

Effect of Yeast-fermented Bio-ethanol Waste on Feed Intake, Digestibility and Rumen Fermentation in Thai Native Cattle

Kanya Phonsean, Chalong Wachirapakorn^{*}, Chantira Wongnen
and Warangkana Daenseekaew

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

Abstract

The purpose of this study was to determine level of bio-ethanol waste fermented with *Saccharomyces cerevisiae* (yeast-fermented bio-ethanol waste, YEW) in total mixed ration (TMR) for Thai native cattle. Four female Thai native cattle with 140 ± 5 kg initial body weight were randomly allotted according to a 4x4 Latin Square Design. Four dietary treatments were TMR containing YEW at 0, 10, 20 and 30%. The results showed that increasing levels of YEW in TMR were not affected feed intake ($P > 0.05$), but digestion coefficients of DM, OM, CP, NDF and ADF were linearly decreased ($P < 0.05$). Moreover, metabolizable energy of TMR was linearly decreased as YEW was increased ($P < 0.01$). Furthermore, levels of YEW in TMR were not affected ruminal pH, ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ and blood urea nitrogen of Thai native cattle ($P > 0.05$). However, it was found that total volatile fatty acids, propionic acid and butyric acid were no significant different by increasing YEW level ($P > 0.05$), but acetic acid and acetic: propionic acid ratio were cubically increased by increasing level of YEW in TMR. In conclusion, this experiment indicated that optimum level of YEW used in TMR for Thai native cattle was 10%.

Keywords : Yeast-fermented ethanol waste, TMR and Thai Native Cattle

^{*} Corresponding author: E-mail: chal_wch@kku.ac.th

ปัจจุบันเกษตรกรได้เน้นถึงการให้อาหารสัตว์ที่ถูกต้องตรงกับความต้องการของสัตว์ ทั้งจากการให้อาหารหยาบและอาหารข้นอย่างมีประสิทธิภาพสามารถนำไปสู่การให้ผลผลิตสูงสุด (ฉลอง, 2541) ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของสัตว์ที่สำคัญมีอยู่หลายประการ โดยฉลองและคณะ (2540) รายงานว่าปัจจัยที่ควรคำนึงถึงเป็นอันดับแรก คือ ปัจจัยทางด้านอาหารและวิธีการให้อาหาร ซึ่งต้นทุนการผลิตสัตว์ประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้นทุนในด้านอาหารสัตว์ นอกจากนี้ ประเทศไทยมีภูมิประเทศตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นจึงทำให้มีข้อจำกัดทางด้าน ชนิด แหล่งและปริมาณอาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง วัตถุดิบอาหารสัตว์ขาดแคลนและมีคุณภาพต่ำผันแปรตามฤดูกาล การนำใช้ประโยชน์วัตถุดิบอาหารสัตว์จากผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการเกษตรเป็นแหล่งโปรตีนและเยื่อใยมีเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการเกษตรยังมีความสามารถในการย่อยได้และค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้อยู่ในเกณฑ์ดี (พิรพจน์ และกฤตพล, 2550) ดังนั้นการพัฒนาทางด้านอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องจากสิ่งเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการเกษตรมาเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องจึงควรได้รับการศึกษาวิจัยจากนักโภชนาการศาสตร์สัตว์มากขึ้น

จากสถานการณ์ความต้องการพลังงานมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ทำให้หลายประเทศให้ความสำคัญและได้มีความพยายามหาแหล่งพลังงานใหม่ๆ เข้ามา เพื่อเป็นแหล่งพลังงานทดแทนในอนาคต เช่น เอทานอล (ethanol) การผลิตเอทานอลภายในประเทศไทยมีการใช้วัตถุดิบหลักคือ มันสำปะหลัง โดยกำลังการผลิตเอทานอลในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2555 เท่ากับ 1.4 ล้านลิตรต่อวัน และจะเพิ่มขึ้นเป็น 6.2 ล้านลิตรต่อวัน ในปี พ.ศ. 2559 (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2554) ในแต่ละวัน โรงงานผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังมีสิ่งเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตได้กากเอทานอล (bio-ethanol waste) ในปริมาณ 100-200 ตันต่อวัน (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, 2549) ซึ่งอาจเป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมในการกำจัดกากเอทานอล วราพันธ์ และคณะ (2551) ได้ทำการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของกากเอทานอล พบว่ามีโปรตีน 6.8 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยหยาบ 31.5 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.9 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 17.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ฉลอง และคณะ

(2559) ได้ศึกษาการใช้กากเอทานอลในสูตรอาหารโคนมพบว่า สามารถใช้กากเอทานอลได้เพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ (total mixed ration, TMR) ซึ่งการนำกากเอทานอลมาเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ยังมีข้อจำกัด จึงควรมีการปรับปรุงคุณภาพของกากเอทานอลให้เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ วราภรณ์และฉลอง (2557) ได้ศึกษาการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของกากเอทานอล โดยการหมักกากเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นเวลา 5 วัน สามารถเพิ่มโปรตีนในกากเอทานอลสูงที่สุดที่ 25.5 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของกากเอทานอล

วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาระดับการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ของโภชนาและกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนในโคพื้นเมือง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สัตว์ทดลองและการให้อาหารทดลอง

ใช้โคพื้นเมืองเพศเมีย อายุเฉลี่ย 2 ปี น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 140 ± 5 กิโลกรัม จำนวน 4 ตัว ก่อนการทดลองทำการชั่งน้ำหนัก ถ่ายพยาธิ และฉีดวิตามิน เอ ดี อี หลังจากนั้นสุ่มโคทดลองแต่ละตัวเข้าคอกขังเดี่ยวขนาด 2x4 เมตร ในแต่ละคอกจัดให้มีรางอาหารและรางน้ำแยกเฉพาะตัว มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา โคทดลองแต่ละตัวได้รับอาหารทดลองอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โดยแบ่งให้อาหาร 2 เวลา คือ ในตอนเช้าเวลา 7.00 นาฬิกา และตอนบ่ายเวลา 16.00 นาฬิกา ชั่งน้ำหนักอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือในแต่ละวัน โดยปรับปริมาณอาหารที่ให้ให้มีอาหารเหลือในรางอาหาร 10 เปอร์เซ็นต์ในแต่ละวัน มีน้ำสะอาดและแร่ธาตุก้อนให้กินอย่างเพียงพอตลอดเวลา

2. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 4x4 จตุรัสลาติน (Latin square design) แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ช่วงเวลาการทดลอง ช่วงเวลาการทดลองละ 21 วัน โดยใช้เวลาปรับเปลี่ยนแต่ละช่วงทดลอง 5 วัน และมีช่วงเวลาปรับตัวให้ได้รับอาหารทดลองก่อนทำการทดลองเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 14 วัน ช่วงเก็บตัวอย่าง 7 วันสุดท้าย

3. สูตรอาหารทดลอง

กากเอทานอลหมักยีสต์ (yeast-fermented bio-ethanol waste, YEW) โดยนำกากเอทานอลแห้งจำนวน 1 กิโลกรัม ใส่ลงในถังหมัก ทำการเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 50 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เสริมด้วยยูเรีย 5 เปอร์เซ็นต์, กากน้ำตาล 15 เปอร์เซ็นต์, แป้งมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายแร่ธาตุ ($\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 7 กรัม และ H_2PO_4 13 กรัม) เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนและพลังงานให้กับยีสต์ หลังจากนั้นทำการผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ปรับความชื้นด้วยการเติมน้ำ 800

มิลลิลิตร ใช้ผ้าชุบแอลกอฮอล์คลุมปากถังแล้วปิดฝาทิ้งให้แน่นหมักเป็นเวลา 5 วัน (วรารัณ และฉลอง, 2557) หลังจากนั้นนำมาประกอบสูตรอาหารผสมสำเร็จทั้งหมด 4 สูตร ที่มีระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยมีสัดส่วนระหว่างอาหารหยาบต่ออาหารข้น 30:70 มีฟางข้าวเป็นแหล่งอาหารหยาบ ในสูตรอาหารที่ใช้ทดลองปรับให้มีระดับโปรตีนหยาบ 14 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ 2.4 เมกะแคลอรีต่อกิโลกรัมวัตถุดิบ (NRC, 2000) สำหรับส่วนประกอบของสูตรอาหารผสมสำเร็จในการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงส่วนประกอบของสูตรอาหารทดลอง

Feed ingredients (%)	YEW level, % of TMR			
	0	10	20	30
Rice straw	30.0	30.0	30.0	30.0
YEW	0.0	10.0	20.0	30.0
Cassava chip	20.0	20.0	18.0	16.0
Rice bran	12.0	9.0	9.0	8.0
Palm meal	4.0	4.0	4.0	3.5
Soybean meal	20.0	14.0	6.0	0.0
Urea	0.5	0.5	0.5	1.0
Oils	4.0	4.0	4.0	4.0
Molasses	5.0	5.0	5.0	5.0
Salt	0.5	0.5	0.5	0.5
Dicalcium phosphate	1.0	0.5	0.5	0.5
Sodium bicarbonate	1.5	1.5	1.5	0.5
Sulfur	0.5	0.5	0.5	0.5
Premix	1.0	0.5	0.5	0.5

หมายเหตุ: YEW = yeast-fermented bio-ethanol waste

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารผสมสำเร็จที่ใช้ในการทดลอง

Feed composition (% DM)	YEW level, % of TMR				YEW	Rice straw
	0	10	20	30		
Dry matter (DM)	97.7	97.3	97.5	97.8	61.5	90.3
Organic matter (OM)	86.9	86.7	86.3	86.4	83.0	86.2
Ash	13.1	13.3	13.8	13.6	17.0	13.8
Crude protein (CP)	14.7	14.5	14.3	15.0	25.5	2.9
Ether extract (EE)	6.7	6.8	6.7	7.1	1.6	1.0
Neutral detergent fiber (NDF)	51.0	51.8	53.2	54.2	57.6	80.2
Acid detergent fiber (ADF)	30.0	31.6	32.2	33.1	49.7	56.4

หมายเหตุ: YEW = yeast-fermented bio-ethanol waste

3. การเก็บข้อมูล

บันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้และอาหารที่เหลือในแต่ละวันเพื่อคำนวณปริมาณการกินได้ในหน่วยกิโลกรัมต่อวัน (kg/d), เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว (%BW) และกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว^{0.75} (g/kgW^{0.75})

ชั่งน้ำหนักโคทดลองสองครั้ง คือ ครั้งแรกในวันที่ 14 และครั้งที่สองในวันที่ 21 ณ เวลาเดียวกันของแต่ละช่วงเวลาการทดลอง เพื่อคำนวณการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทุกสัปดาห์ และสุ่มเก็บตัวอย่างมูลของโคทดลองทุกตัวในช่วงวันที่ 17-21 ของช่วงการทดลอง เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโภชนาในอาหารและมูล ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter, DM) เถ้า (ash) โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) และไขมัน (ether extract, EE) ตามวิธีของ AOAC (1985) และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF) ตามวิธีของ Goering and Van Soest (1970) และวิเคราะห์เถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) ตามวิธีของ Van Keulen and Young (1977) เพื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ตามวิธีของ Schneider and Platt (1975)

เก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะรูเมนในวันสุดท้ายของช่วงการทดลอง โดยใช้ stomach tube สอดผ่านหลอดอาหาร ทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH₃-N) ตามวิธีของ Bremner and Keeney (1965) และกรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acids, VFAs) ได้แก่ กรดอะซิติก (C₂) กรดโพรพิโอนิก (C₃) และกรดบิวทิริก (C₄) โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) model Water 600 ; UV Detector (Millipore Corp) นอกจากนี้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดที่เส้นเลือดดำบริเวณคอ (jugular vein) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณยูเรียในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN) ตามวิธีของ Crocker (1967)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ 4x4 จัดรูสลาติน โดยใช้ Proc GLM

(SAS, 2002) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test และเปรียบเทียบแบบ Orthogonal Polynomial ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

1. องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารผสมสำเร็จที่มีกากเอทานอลหมักยีสต์ในระดับต่างๆ และฟางข้าว ดังแสดงในตารางที่ 2 สูตรอาหารผสมสำเร็จที่ใช้ในการทดลองมีค่าโภชนาในระดับที่ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้จากการหมักกากเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่ามีโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 10.3 เป็น 25.5 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองนี้กากเอทานอลหมักยีสต์มีค่าโปรตีนเพิ่มขึ้น 61.49-76.82 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ กากเอทานอลหมักยีสต์ มีโปรตีนแท้ในสัดส่วน 94.1 เปอร์เซ็นต์ และไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในสัดส่วน 5.9 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับ Kaewwongsa *et al.* (2011) ที่หมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ร่วมกับยูเรีย 10 เปอร์เซ็นต์ และกากน้ำตาล 1.3 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 5 วัน มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 26.4 เปอร์เซ็นต์ มีสัดส่วนโปรตีนแท้ 94.6 เปอร์เซ็นต์ และไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในสัดส่วน 5.4 เปอร์เซ็นต์

2. ปริมาณการกินได้อย่างอิสระ

จากผลการทดลอง พบว่า การใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักโคทดลอง ($P>0.05$) แต่น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงในสูตรอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร มีค่าเท่ากับ 0.7, 0.6, 0.5 และ 0.6 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จในโคพื้นเมือง โดยทำให้โคพื้นเมืองมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) แต่อย่างไรก็ตามศุภกิจ (2556) ได้ศึกษาผลของการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จในโคนม ที่ระดับ 0, 25, 35 และ 45 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในระดับที่สูงขึ้นทำให้โคนมมีน้ำหนักตัวลดลง

การใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จทั้ง 4 สูตร ไม่มีผลต่อปริมาณการกินได้อย่างอิสระใน

หน่วยกิโลกรัมวัตถุดิบแห้งต่อวันเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวของโคทดลอง และกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว^{0.75} และปริมาณการกินได้ของโภชนะ (P>0.05) (ตารางที่ 3) สอดคล้องกับการรายงานของศุภทรานี (2556) ที่ศึกษาจากมันจากอุตสาหกรรมการผลิตกรดซิตริกหมักเอนไซม์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จในโคเนื้อ พบว่า มีปริมาณการกินได้ระหว่าง 3.01-4.50 และ 2.31-3.01 กิโลกรัมวัตถุดิบแห้งต่อวัน และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ปริมาณการกินได้ของโคในหน่วยเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวและกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว^{0.75} มีค่าเพิ่มขึ้นจากการเสริมกากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ อาจเนื่องจากสูตรอาหารผสมสำเร็จที่มีการเพิ่มระดับกากเอทานอลหมักยีสต์มีค่าของเยื่อใย NDF เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อปริมาณ

พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากอาหารมีความฟามและความเข้มข้นของพลังงานต่ำ สอดคล้องกับการรายงานของฉลอง (2541) ที่กล่าวว่าอาหารที่มีพลังงานน้อยสัตว์จะกินได้มากกว่าอาหารที่มีพลังงานมาก โดยความฟามของสูตรอาหารที่เสริมกากเอทานอลหมักยีสต์ เป็นผลจากการมีเซลลูโลสและเอมิเซลลูโลสปริมาณมากในอาหาร ส่งผลให้อาหารอยู่ในกระเพาะรูเมนนานขึ้น (เมธา, 2533) เช่นเดียวกับรายงานของ ศุภกิจ (2556) ที่รายงานว่าเมื่อโคได้รับอาหารที่มีเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลางในปริมาณสูงจะส่งผลให้อาหารมีความฟามมากขึ้น และอาหารมีระยะเวลาหมักในกระเพาะรูเมนนานขึ้น (สุภาพร, 2549; อานนท์, 2551)

ตารางที่ 3 ผลของการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ *S. cerevisiae* ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวและปริมาณการกินได้ในโคนม

รายการ	YEW level, % of TMR				SEM	P-value	Contrast ¹		
	0	10	20	30			L	Q	C
Initial BW	163.2	162.4	164.1	161.2					
BW change (kg/d)	0.7	0.6	0.5	0.6	0.14	0.75	0.56	0.61	0.96
Feed intake									
kg/d	4.5	4.4	4.4	4.5	0.13	0.93	0.68	0.65	0.99
%BW	2.7	2.7	2.7	2.8	0.08	0.89	0.83	0.52	0.75
g/kg ^{0.75}	96.4	96.4	96.7	99.2	3.40	0.78	0.79	0.39	0.71
Nutrient intake (kg/d)									
OM	4.0	3.9	3.8	3.9	0.12	0.89	0.57	0.63	0.91
CP	0.7	0.6	0.6	0.7	0.01	0.21	0.93	0.06	0.47
EE	2.3	2.3	2.4	2.4	0.07	0.69	0.32	0.59	0.89
NDF	1.4	1.4	1.4	1.5	0.05	0.52	0.17	0.91	0.84
ADF	0.3	0.3	0.3	0.3	0.01	0.43	0.26	0.27	0.69

หมายเหตุ: ^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรแตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

¹ เปรียบเทียบระดับอิทธิพลของระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ *S. cerevisiae* ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ;

YEW = yeast-fermented bio-ethanol waste

L= เส้นตรง, Q= เส้นโค้งกำลังสอง, C= เส้นโค้งกำลังสาม

3. สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ

สูตรอาหารผสมสำเร็จที่มีระดับของกากเอทานอลหมักยีสต์แตกต่างกัน ทำให้มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบ อินทรีย์วัตถุ โปรตีนหยาบ เยื่อใยที่ละลายในฟอกที่เป็นกลาง และเยื่อใยที่ละลายในฟอกที่เป็นกรดแตกต่างกัน

ทางสถิติ (P<0.05) แต่ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของไขมันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตาม ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบ อินทรีย์วัตถุ โปรตีนหยาบ ไขมัน และเยื่อใยที่ละลายในฟอกที่เป็นกลาง และเยื่อใยที่ละลายในฟอกที่เป็นกรดมีค่าลดลง

แบบเป็นเส้นตรง (Linear, $P < 0.01$) ตามระดับของกากเอทานอลหมักยีสต์ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในระดับ 0 และ 10 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบอินทรีย์วัตถุ และโปรตีนหยาบ ไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่าในสูตรอาหารผสมสำเร็จที่ใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในระดับ 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากกากเอทานอลหมักยีสต์มีระดับของเยื่อใยที่ละลายในฟอกที่เป็นกลาง และเยื่อใยที่ละลายในฟอกที่เป็นกรดค่อนข้างสูง เมื่อการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในระดับที่เพิ่มขึ้น (สุภาพร, 2549; Ruiz *et al.*, 1995)

การใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จที่ระดับ 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy, ME) และการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีน (microbial crude protein, MCP) ลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกากเอทานอลหมักยีสต์มีระดับโปรตีนที่สูง เมื่อนำมาใช้ในสูตรอาหารผสมสำเร็จในระดับเพิ่มขึ้น ส่งผลลดประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะลง เป็นผลให้โคได้รับพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้และการสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนลดลง อีกทั้งยังพบว่าโคพื้นเมืองที่ได้รับสูตรอาหารผสมสำเร็จมีระดับพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้มีความแตกต่างกันและมีแนวโน้มลดลงแบบเป็นเส้นตรง (Linear, $P < 0.01$) จากการเพิ่มระดับการเสริมกากเอทานอลหมักยีสต์

4. ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรด-ด่างในของเหลวจากกระเพาะรูเมนของโคพื้นเมืองที่ได้รับสูตรอาหารผสมสำเร็จที่มีระดับกากเอทานอลหมักยีสต์แตกต่างกัน มีค่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับศุภกิจ (2556) ศึกษาการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จในโครีดนม พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนของโคนมหลังให้อาหารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารอยู่ในช่วงที่เหมาะสม คือ 6.0-7.0 ซึ่งเหมาะกับการทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน (เมธา, 2533; Van Soest, 1983) การให้อาหารแบบสูตรอาหารผสมสำเร็จสามารถช่วยรักษาความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะรูเมนให้คงที่หรือมีความผันแปรของความเป็นกรด-ด่างภายในกระเพาะรูเมนน้อยกว่าการให้อาหาร

แบบแยกให้ ส่งผลให้การทำงานของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนดีกว่า (Ørskov, 1994; Moat and Foster, 1995) ค่าเฉลี่ยของความเป็นกรด-ด่างของของเหลวในกระเพาะรูเมนในโคมีค่าสูงขึ้นตามระดับของกากเอทานอลหมักยีสต์ที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร (7.0, 6.9, 7.0 และ 7.0 ตามลำดับ) สอดคล้องกับ Brossard *et al.* (2004) กล่าวว่าระดับของค่าความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนของสัตว์ที่ได้รับการเสริมยีสต์จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสัตว์ที่ไม่ได้รับการเสริมยีสต์

5. แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$)

ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะรูเมน (20.6, 20.8, 21.7 และ 21.9 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีค่าสูงขึ้นจากการเพิ่มระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารผสมสำเร็จแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 5) อย่างไรก็ตาม ค่าเฉลี่ยแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวจากกระเพาะรูเมนที่ได้จากงานทดลองนี้มีค่าอยู่ระหว่าง 5.0-25.0 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ สูงกว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้การผลิตมวลของจุลินทรีย์ได้ผลดีจากสสารที่มีอยู่ (ฉลอง, 2541) สอดคล้องกับ Satter and Slyter (1974) ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่าจุลินทรีย์มีความต้องการแอมโมเนีย-ไนโตรเจนจากของเหลวในกระเพาะรูเมน เพื่อการเจริญเติบโตประมาณ 5-8 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์เท่านั้น แต่ในสัตว์มีความต้องการแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในของเหลวในกระเพาะรูเมนเพิ่มเป็น 15 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ (Song and Kennelly, 1990; Wanapat (2000) และเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนจากของเหลวในกระเพาะรูเมนสูงถึง 23.8 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ทำให้การสังเคราะห์จุลินทรีย์โปรตีนสูงสุด (Preston and Leng, 1984)

6. ยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือด (BUN)

ค่าความเข้มข้นของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือดมีค่าเท่ากับ 19.08, 15.25, 15.42 และ 16.00 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับการรายงานของเมธา (2533) ที่กล่าวถึงระดับของยูเรีย-ไนโตรเจนในกระแสเลือดว่าในสัตว์เคี้ยวเอื้องควรมีอยู่ที่ระดับ 6.3-25.5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ การให้สูตรอาหารผสมสำเร็จมีผลทำให้ค่ายูเรียในกระแสเลือดไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงมากนัก เนื่องจากสัตว์

ได้รับโปรตีนหยาบในสูตรอาหารผสมสำเร็จอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ความเข้มข้นของระดับยูเรียในกระแสเลือดยังมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับระดับแอมโมเนียไนโตรเจนในกระเพาะรูเมน (Broderick and Clayton, 1997; Hof *et al.*, 1997) และหากค่ายูเรียในกระแสเลือดที่สูงมากเกินไป บ่งบอกถึงการใช้ประโยชน์จากไนโตรเจนในอาหารของโคนมนั้นไม่มีประสิทธิภาพ (Nousiainen *et al.*, 2004)

7. ปริมาณกรดไขมันที่ระเหยได้ (VFA)

ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยได้ทั้งหมดในโคพื้นเมืองที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร มีค่าไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 103.3, 101.0, 101.3 และ 101.5 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลเนื่องจากปริมาณโภชนาที่กินได้ย่อยได้ไม่แตกต่างกันในแต่ละสูตรอาหารทดลอง (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้ไม่สอดคล้องกับ ศุภกิจ (2556) ที่ศึกษาการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ในระดับ 0, 25, 35 และ 45 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารสูตรผสมสำเร็จโครดินม พบว่า กรดไขมันที่ระเหยได้รวมหลังการให้อาหารมีค่าลดลงจากการเพิ่มระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหาร อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยได้ทั้งหมดของงานทดลองมีค่าอยู่ในช่วงปกติของกรดไขมันที่ระเหยได้ที่เกิดจากการย่อยอาหารในกระเพาะรูเมนมีค่าเท่ากับ 96.3–104.0 มิลลิโมลต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับ ฉลอง (2541) ที่กล่าวว่าโคมีการผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้ทั้งหมดอยู่ในช่วง 80.0–150.0 มิลลิโมลต่อลิตร โดยผลิตสูงสุดในชั่วโมงที่ 2–4 หลังการให้อาหาร

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยได้ พบว่า กรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทีริกไม่มีความแตกต่างกัน แต่กรดอะซิติก ($P=0.04$) และสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิโอนิก ($P=0.01$) มีแนวโน้มแบบเส้นโค้งกำลังสาม เนื่องจากว่าปริมาณของกรดไขมันที่ระเหยได้และสัดส่วนของกรดไขมันที่ระเหยได้จะเปลี่ยนแปลงไปตามการให้อาหาร สัดส่วนของอาหาร ปริมาณเยื่อใย ขนาดของควมยาวของเยื่อใยและระดับของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยสลายง่ายในกระเพาะรูเมน (อานนท์, 2551) ซึ่งจากการทดลองนี้การเสริมกากเอทานอลหมักยีสต์ส่งผลเพิ่มปริมาณการกินได้ โดยเฉพาะการกินได้ของเยื่อใยที่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลางเนื่องจากกากเอทานอลหมักยีสต์มีเยื่อใยสูง

โดยผลผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้หลักจากการย่อยเยื่อใยในกระเพาะรูเมน คือ กรดอะซิติก (ฉลอง, 2541) จึงส่งผลให้ความเข้มข้นของกรดอะซิติกและสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิโอนิกเพิ่มขึ้นจากการเพิ่มระดับการเสริมกากเอทานอลหมักยีสต์ในสูตรอาหารทดลอง

นอกจากนี้ จากการทดลองครั้งนี้พบว่ากรดอะซิติกมีสัดส่วนที่ต่ำ ส่วนกรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทีริก มีสัดส่วนที่สูงกว่าปกติ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากอาหารทดลองมีสัดส่วนของอาหารชั้นต่ออาหารหยาบสูงคือ 70:30 ซึ่งสัดส่วนของอาหารชั้นต่ออาหารหยาบที่สูงจะทำให้มีการผลิตกรดอะซิติกน้อย แต่การผลิตกรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริกสูง และส่งผลทำให้มีสัดส่วนของกรดอะซิติกต่อกรดโพรพิโอนิกต่ำ สอดคล้องกับ Ishler *et al.* (1996) ที่รายงานว่า การเพิ่มสัดส่วนของอาหารชั้นต่ออาหารหยาบจาก 50:50 เป็น 80:20 จะพบว่าสัดส่วนของกรดอะซิติกจะลดลง ส่วนกรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริกจะสูงขึ้นตามสัดส่วนของอาหารชั้นต่ออาหารหยาบ (65.3:18.4:10.4 เป็น 53.6:30.6:10.7 ตามลำดับ)

สรุปผลการศึกษา

กากเอทานอลหมักยีสต์ *S. cerevisiae* มีระดับโปรตีนที่สูง (25.5 เปอร์เซ็นต์) สามารถใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งโปรตีนในสูตรอาหารผสมสำเร็จของโคเนื้อพื้นเมืองได้ พื้นเมือง โดยระดับการเสริมกากเอทานอลหมักยีสต์ *S. cerevisiae* ที่เหมาะสมในสูตรอาหารผสมสำเร็จคือ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ค่าพลังงาน และกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมนของโคพื้นเมือง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้ดำเนินการวิจัยขอขอบคุณกลุ่มวิจัยเพื่อการพัฒนากระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากวัตถุดิบมวลชีวภาพ โดยจุลินทรีย์ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ซึ่งได้ให้ความอนุเคราะห์สารเคมีและเครื่องมือในการวิเคราะห์ และขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 5 แสดงผลของการใช้กากเอทานอลหมักยีสต์ *S. cerevisiae* ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ในกระเพาะรูเมน, แอมโมเนียไนโตรเจน (NH₃-N), ยูเรีย-ไนโตรเจน (BUN) และกรดไขมันที่ระเหยได้ (VFA)

Items	YEW level, % of TMR				SEM	P-value	Contrast ¹		
	0	10	20	30			L	Q	C
Ruminal pH	7.0	6.9	7.0	7.0	0.10	0.59	0.38	0.79	0.95
NH ₃ -N, mg%	20.6	20.8	21.7	21.9	0.80	0.16	0.13	0.28	0.26
BUN, mg%	19.1	15.3	15.4	16.0	1.02	0.90	0.08	0.06	0.46
Total VFA, mmol/L	103.3	101.0	101.3	101.5	1.50	0.71	0.47	0.43	0.70
Acetic acid, mol/100 mol	54.2	53.0	55.1	54.5	0.53	0.11	0.24	0.60	0.04
Propionic acid, mol/100 mol	28.1	29.2	27.4	27.6	0.68	0.35	0.50	0.65	0.12
Butyric acid, mol/100 mol	17.7	17.7	17.5	17.6	0.28	0.89	0.55	0.90	0.67
Acetic acid : propionic acid ratio	1.7 ^b	1.8 ^b	2.0 ^a	2.0 ^a	0.05	0.05	0.24	0.57	0.01

หมายเหตุ: ^{a,b,c} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่อักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

¹ เปรียบเทียบระดับอิทธิพลของระดับกากเอทานอลหมักยีสต์ *S. cerevisiae* ในสูตรอาหารผสมสำเร็จ;

L= เส้นตรง, Q= เส้นโค้งกำลังสอง, C= เส้นโค้งกำลังสาม

YEW = yeast-fermented bio-ethanol waste

เอกสารอ้างอิง

- ฉลอง วชิราภกร, เทิดศักดิ์ ประมวงคล และวุฒิกกร สีเผือก. 2540. อาหารที่เอมอาร์ (Total Mixed Ration, TMR) หรืออาหารสมบูรณ์ (Complete Ration, CR) สำหรับโคนม. วารสารโคนม.5: 53-63.
- ฉลอง วชิราภกร, จันทิรา วงศ์เนตร, อนุสรณ์ เขตทอง และกันยา พลแสน. 2559. ผลของกากเอทานอลแห้งในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโคให้นม. วารสารเกษตร. 32:247-259.
- ฉลอง วชิราภกร. 2541. โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้องเบื้องต้น. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.
- พิรพจน์ นิตินพจน์ และ กฤตพล สมมาตรย์. 2550. การประเมินคุณค่าทางโภชนะวัตถุอาหารหยาบและแหล่งเยื่อใยที่ไม่ใช่ อาหารสัตว์ในหลอดทดลองการผลิตแก๊ส. แก่นเกษตร. 35: 397-409.
- เมธา วรณพัฒน์. 2533. โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ฟันนี้พลับลิชชิง: กรุงเทพฯ.
- วรางคณา แคนสีแก้ว และฉลอง วชิราภกร. 2557. ผลของการใช้กากเอทานอลหมักด้วยยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) และเชื้อรา (*Aspergillus niger*) ในสูตรอาหารผสมสำเร็จต่อการย่อยได้และজনপলস্কাস্ত্রของการผลิตแก๊ส. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับ บัณฑิตศึกษา. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วราพันธ์ จินตณวิทย์, สุภัญญา จิตตพรพงษ์ และอุทัย คันโธ. 2551. การศึกษาองค์ประกอบเศษเหลือจากการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์และเป็นปุ๋ยสำหรับพืช. ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวากกลสิกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

- ศุภกิจ สุนาโท. 2556. ผลการใช้กากเอทานอลจากมันสำปะหลังหมักยีสต์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการให้ผลผลิตของโคนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ศุภทรานี ชาญเวช. 2556. ผลของสิ่งเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตกรดซิตริกหมักเอนไซม์ต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ และกระบวนการหมักในโคเนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุภาพร แซ่เตียว. 2549. ผลของระดับความเค็มที่ใช้เป็นแหล่งอาหารหยาบสูตรอาหารผสมสำเร็จรูปต่อปริมาณการกินได้ การย่อยได้ การให้ผลผลิตและองค์ประกอบน้ำนมในโครีตนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- อานนท์ ประเสริฐกั้ง. 2551. ผลของการเสริมน้ำตาลและขนาดชิ้นอาหารหยาบต่อการลดความเครียดและการให้ผลผลิตของโคนม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
- AOAC. 1985. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C.
- Agricultural Research Council 1984. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock, Suppl. 1. (HMSO, London).
- Bremner, J.M. and Keeney, D.R. 1965. Steam distillation methods of determination of ammonium, nitrate and nitrite. Anal Chem. Acta.32: 485-492.
- Broderick, G.A. and Clayton, M.K. 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. J. Dairy Sci. 80: 2964-2971.
- Brossard, L., Martin, C., Chaucheyras-Durand, F. and Michalet-Doreau, B. 2004. Protozoa involved in butyric rather than lactic fermentative pattern during latent acidosis in sheep. Reprod. Nutr. Dev. 44: 195-206.
- Crocker, C.L. 1967. Rapid determination of urea-nitrogen in serum or plasma without deproteinization. Amer. J. Med. Tech. 33: 361-372.
- Goering, H. K. and Van Soest, P.J. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagent, Procedures and some Application). Agric. Handbook. Washiton, D. C. No. 397.
- Hof, G., Vervoorn, M.D., Lenaers, P.J., and Tamminga, S. 1997. Milk urea nitrogen as a tool to monitor protein nutrition of dairy cows. J. Dairy. Sci. 80: 3333-3340.
- Ishler, V., Heinrichs, A.J. and Varga, G. 1996. From feed to milk: Understanding rumen function. The Pennsylvania State University Extension Circular 422.
- Kaewwongsa, W., Traiyakun, S., Yuangklang, C., Wachirapakorn, C. and Paengkoum, P. 2011. Protein enrichment of cassava pulp fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. J. Anim. Vet. Adv. 10: 2434-2440.
- Kearl, L.C. 1982. Nutrient Requirements of Ruminants in Developing Countries. International feedstuff Institute, Utah Agri. Exp. Sta., Utah State University, Logan.
- Moat, A.G. and Foster, J.W. 1995. Microbial Physiology. Wiley-Liss Publisher. New York, USA. 580 pp.
- Nousiainen, J., Shingfield, K.J. and Huntanen, P. 2004. Evaluation of milk urea nitrogen as diagnostic of protein feeding. J. Dairy Sci. 87: 386-395.

- NRC. 2000. Nutrient Requirement of Beef Cattle. 7th Ed. National Research Council/National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Ørskov, E.R. 1994. Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 39: 53-60.
- Preston, T.R., and Leng, R.A. 1984. Matching Ruminant Production Systems with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics. Penambul Book, Armidale, Australia.
- Ruiz, T.M., Bernal, E. and Staples, C.R. 1995. Effect of dietary neutral detergent fiber concentration and forage source on performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 78: 305-319.
- SAS. 2002. User's Guide: Statistic, Version 9.1. Ed. 2002. SAS. Inst Cary, NC.
- Satter, L.D. and Slyter, R.E. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vivo. *Brit. J. Nutr.* 32:199-208.
- Schneider, B.H. and Flatt, W.P. 1975. The evaluation of feeding through digestibility experiments. p. 169 Univ. Georgia Press, Athens.
- Song, M.K. and Kennelly, J.J. 1990. Ruminal fermentation pattern, bacterial population and ruminal degradation of feed ingredients as influenced by ruminal ammonia concentration. *J. Anim. Sci.* 68: 1110-1120.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principles and Procedure of Statistics. McGraw Hill Book Co., New York.
- Van Keulen, J. and Young, B.A. 1977. Evaluation of acid insoluble ash as a neutral marker in ruminant digestibility studies. *J. Anim. Sci.* 44: 282-292.
- Van Soest, P.J. 1983. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd. U.S.A.: Your Town Press
- bat, M. 2000. Rumen manipulation to increase the efficient use of local feed resources and productivity of ruminants in the tropics. *Asian-Aust. J. Anim.Sci.* 13: 59-67.