



วารสาร วิชาการเกษตร THAI AGRICULTURAL RESEARCH JOURNAL

ปีที่ 42 ฉบับที่ 1

มกราคม - เมษายน 2567

ISSN : 3027-7264 (Print) ISSN : 3027-7272 (Online)

สารบัญ

บทบรรณาธิการ.....	1
อมรา ชินภูติ ผลงานวิจัย	
• การตอบสนองและการดูดใช้ในโตรเจนของข้าวโพดหวานในดินร่วนเหนียว.....	2
ชัชชนพร เกื้อหนุน สายน้ำ อุดพั่ว พิชะนันท์ วิวัฒน์วิทยา	
• ความผันแปรของประชากรเชื้อรา <i>Pyricularia oryzae</i> สาเหตุโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทย.....	14
อรยา ปานอ่อน วรณวิไล อินทนู ศิริภา กออินทร์ศักดิ์ จินตนา อันอาตม์งาม	
• ข้อมูลสายพันธุ์เชื้อ <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> ในนิเวศการปลูกข้าว ในจังหวัดเชียงราย.....	24
ไพเราะ ขวัญงาม ลูกศร ทุมอะริยะ ธิติมา จินตกานนท์ Dany Thongkham จุฑาทิพย์ วัชรไชยคุปต์ สุจินต์ ภัทรภูวดล	
• น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังต่อการเจริญและผลผลิตอ้อย.....	37
จรีพร เกือบพิมาย พิลานี ไฉนอมสัตย์ วราภรณ์ อภิวัฒนาภิวัด ชนาพร ตระกูลแจะ พรพิมล จันทรฉาย เอกพงษ์ ธนะวดี จิราภรณ์ มีลักษณะ อันธิกา บุญแดง	
• ผลของวิธีการปลูกต่อผลผลิตถั่วเหลืองหลังนา.....	51
โสพิศ ใจปาละ จงรักษ์ พันธุ์ไชยศรี พิมล ภาวดี กัลยา วิธิ	
• การผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ที่แยกได้จากดิน และวัสดุเพาะเห็ด.....	62
พยุงค์ศักดิ์ รวยอารี ทศนาพร ทศคร	
• Genome Wide Association Study (GWAS) for Southern Corn Rust (SCR) Disease Resistance in Maize.....	71
Nay Nay Oo Vinitchan Ruanjaichon Kularb Laosatit Theerayut Toojinda Jintana Unartngam	
• Path Analysis of Fresh Fruit Bunch and Bunch Weight in Oil Palm.....	86
Surakitti Srikul Somkid Damnoi Suteera Thawornrat Peerasak Srinives Anek Limsrivilai Patcharin Tanya	
• Hot Water Immersion Treatment of Nam Dorkmai Mango Infested with Oriental Fruit Fly, <i>Bactrocera dorsalis</i> (Hendel), for Export.....	95
Sunyanee Srikachar Korrakot Damrak	

วารสารวิชาการเกษตร

เจ้าของ : กรมวิชาการเกษตร
สำนักงาน : กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
วัตถุประสงค์ : เพื่อเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ความรู้ผลงานวิจัย และนวัตกรรมวิชาการเกษตรด้านพืช

ที่ปรึกษา

อธิบดีกรมวิชาการเกษตร รองอธิบดีกรมวิชาการเกษตร ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร
ผู้เชี่ยวชาญกรมวิชาการเกษตร เลขานุการกรม ผู้อำนวยการสถาบันวิจัย ผู้อำนวยการกอง
ผู้อำนวยการสำนัก ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 – 8

บรรณาธิการ

ดร.อมรา ชินนุกติ กรมวิชาการเกษตร

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

วัลย์พร ศะศิประภา ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมวิชาการเกษตร
อำนวยการ อรรถดลิ่งรอง สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร
ดร.กาญจนา พฤษพันธ์ สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

กองบรรณาธิการ

วรรณรัตน์ ชูตินุตร	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
ดร.ศุภกาญจน์ ล้วนมณี	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
ดร.ปิยนุช ศรชัย	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร
ดร.เนตรดา สมบูรณ์แก้ว	กลุ่มงานวิจัยพืชสวนหลังการเก็บเกี่ยว กวป. กรมวิชาการเกษตร
ดร.บุญญวดี จิระวุฒิ	กลุ่มงานวิจัยโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว กวป. วิชาการเกษตร
ศุภมาศ กลิ่นขจร	กลุ่มงานวิจัยการแปรรูปผลิตผลเกษตร กวป. กรมวิชาการเกษตร
วิษณีย์ ออมทรัพย์สิน	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร
ดร.ชนินทร์ ดวงสะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
ดร.พัชรีวรรณ จงจิตเมตต์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
สุภาสิต เสี่ยมพงษ์	ข้าราชการเกษียณอายุ
ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม	ข้าราชการเกษียณอายุ
ดร.สุภรดา สุนทธานิรมย์ ณ พัทลุง	ข้าราชการเกษียณอายุ
สุรภี กิตติยะอังกูร	สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก)
ดร.ลัญชัย ตันตยาภรณ์	สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช)
ดร.หทัยรัตน์ อุไรวงศ์	คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต
รศ.ดร.วิชัย ไชยรัตน์	คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รศ.ดร.เพ็ญขวัญ ชมปรีดา	คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รศ.ดร.อรพิน เกิดชูชื่น	คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
รศ.ดร.คำณวิทย์ ทิพย์มณี	คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผศ.ดร.ปิยาภรณ์ เชื้อมชัยตระกูล	สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ผศ.ดร.จิราพร เพกกะ	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผศ.ดร.บุญสม บุษบรรณ	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ดร.วันพร เข้มมุกต์	สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาข้าว กรมการข้าว
ดร.เกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล	สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

ผู้จัดการ

ผู้อำนวยการกลุ่มระบบวิจัย กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร

ผู้ช่วยผู้จัดการ

ดนยา คล้ายมาลา กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร



วารสาร วิชาการเกษตร

THAI AGRICULTURAL RESEARCH JOURNAL ISSN : 3027-7264

ปีที่ 42 ฉบับที่ 1

มกราคม - เมษายน 2567



วารสารวิชาการเกษตร ตีพิมพ์เผยแพร่ความรู้ผลงานวิจัย และนวัตกรรมวิชาการเกษตรด้านพืช มีกำหนดออกปีละ 3 ฉบับ ฉบับที่ 1 ตั้งแต่เดือนมกราคม-เมษายน ฉบับที่ 2 เดือนพฤษภาคม-สิงหาคม ฉบับที่ 3 เดือนกันยายน-ธันวาคม ของทุกปี โดยผลงานวิจัยทุกเรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการเกษตร ได้ผ่านการพิจารณาแบบ double blind system จากผู้ทรงคุณวุฒิทั้งภายในและภายนอกหน่วยงานอย่างน้อย 2 ท่าน วารสารมีระบบการจัดการวารสารแบบออนไลน์ โดยไม่มีค่าธรรมเนียมการตีพิมพ์ และทำการจัดพิมพ์ เผยแพร่แก่ห้องสมุดของหน่วยงานราชการ รวมทั้งองค์การต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

บทบรรณาธิการ

สวัสดีปีใหม่ไทยท่านผู้อ่านทุกท่าน วารสารวิชาการเกษตรได้ดำเนินการเผยแพร่ผลงานวิจัยและนวัตกรรมด้านพืชมาเป็นเวลายาวนานอย่างต่อเนื่อง เป็นปีที่ 42 แล้ว วารสารฉบับนี้เป็นฉบับแรกของปี พ.ศ. 2567 ซึ่งได้มีการเปลี่ยนแปลงหมายเลข ISSN ทั้งฉบับตีพิมพ์ และฉบับออนไลน์ เนื่องจากทางศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai Journal Citation Index Centre ; TCI) ได้ประกาศเกณฑ์การประเมินคุณภาพวารสารวิชาการที่อยู่ในฐานข้อมูล TCI รอบที่ 5 พ.ศ. 2568-2572 มีเกณฑ์หลักข้อหนึ่งกำหนดไว้ว่า “วารสารมีหมายเลขมาตรฐานสากลประจำวารสาร (ISSN) ที่จดทะเบียนตามชื่อภาษาอังกฤษที่ถูกต้องตามหลักสากล” วารสารวิชาการเกษตรเดิมได้รับการจดทะเบียนเป็นฉบับตีพิมพ์หมายเลข ISSN 0125-8389 ในชื่อภาษาอังกฤษว่า Warasan Wichakan Kaset และมี parallel title ว่า Agricultural Research Journal เนื่องจากชื่อภาษาอังกฤษมีความซ้ำซ้อนกับวารสารของต่างประเทศ ทางหน่วยงานจึงเปลี่ยนมาใช้ชื่อ “Thai Agricultural Research Journal” ในปี พ.ศ. 2528 โดยยังคงใช้หมายเลข ISSN เดิมอยู่ เพื่อความถูกต้องตามหลักสากล จึงขอยกเลิกหมายเลข ISSN 025-8389 (ฉบับตีพิมพ์) และ ISSN 2773-9317 (ฉบับออนไลน์) ต่อสำนักหอสมุดแห่งชาติ และขอหมายเลขใหม่เป็น ISSN 3027-7264 (ฉบับตีพิมพ์) และ ISSN 3027-7272 (ฉบับออนไลน์)

แม้วารสารวิชาการเกษตรจะมีการเปลี่ยนแปลงหมายเลข ISSN แต่ยังคงมุ่งมั่นที่จะนำเสนอผลงานทางวิชาการผ่านบทความตีพิมพ์ตามมาตรฐานสากล และเป็นประโยชน์ต่อผู้อ่านในทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้องที่ผ่านมามีบางบทความที่ไม่ได้รับการพิจารณา หรือมีการแก้ไขหลายรอบ มักเป็นประเด็นเกี่ยวกับการออกแบบวางแผนงานวิจัยยังไม่สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ ทั้งนี้จำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษาต้องเพียงพอและเป็นตัวแทนที่ถูกต้องตามหลักการทางสถิติ นอกจากนี้ ผู้วิจัยควรมีการเก็บข้อมูลตัวชี้วัดให้ถูกต้องเพื่อให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ ทางกองบรรณาธิการขอเป็นกำลังใจให้ทุกท่านทำผลงานดี ๆ ออกมาเผยแพร่มากขึ้น

อนึ่งถ้าท่านมีข้อเสนอแนะใด ๆ เกี่ยวกับวารสาร สามารถติดต่อได้ทาง email: journal@doa.in.th วารสารวิชาการเกษตรขอขอบคุณนักวิจัยทุกท่านที่ส่งผลงานมาเพื่อตีพิมพ์เผยแพร่ ผู้ทรงคุณวุฒิที่ช่วยพิจารณาบทความ และท่านผู้อ่านที่ติดตามวารสารวิชาการเกษตรมาอย่างต่อเนื่อง เนื่องในโอกาสวันสงกรานต์ปีนี้ ทางกองบรรณาธิการขออวยพรให้ทุกท่านมีความสุข สุขภาพแข็งแรง และประสบความสำเร็จสมดังความตั้งใจทุกประการ



ดร. อมรา ชินนุกิตติ

บรรณาธิการ

การตอบสนองและการดูดใช้ในโตรเจนของข้าวโพดหวานในดินร่วนเหนียว

Nitrogen Response and Uptake of Sweet Corn Grown on Clay Loam Soil

ชัชชนพร เกื้อหนุน^{1/*} สายน้ำ อุดพวย^{1/} ปิยะนันท์ วิวัฒน์วิทยา^{1/}
Chattanaporn Kueanoon^{1/*} Sainam Udpuay^{1/} Piyanun Wiwatwittaya^{1/}

Received 24 May 2023/Revised 15 Nov. 2023/Accepted 17 Nov. 2023

ABSTRACT

Suitable nitrogen fertilizer management can increase yields and reduce chemical fertilizer uses but the existing nitrogen fertilizer recommendation for sweet corn production is not appropriate for site-specific recommendation. This study aimed to investigate nitrogen response and uptake of sweet corn grown on clay loam soil at Uthai Thani province in 2017. Treatments were laid out in a randomized complete block (RCB) with four replicates. The treatments consisted of six levels of nitrogen at the rates of 0, 8, 16, 24, 32 and 40 kg N/rai, while fertilizer application for phosphate and potash was 1.0 times of the soil test recommended rate. Results showed that the response of unhusked ear weight (Y) of Hybrix 3 cultivar to nitrogen application rate (x) grown in clay loam soil with low soil organic matter (1.34%) at Uthai Thani province could be expressed as a quadratic equation, by $Y = -0.6989x^2 + 44.985x + 2803$; $R^2 = 0.9106$. Moreover, the result of economic return analysis by VCR method showed that nitrogen fertilizer application at the rate of 16 kg N/rai could maximize the highest return. The amounts of total nitrogen uptake in plant were 25.7, 3.7 and 23.7 kg N, P and K/rai, respectively, while the amounts of total nitrogen lost by yield removal were 10.6, 1.8 and 7.8 kg N, P and K/rai, respectively. Using proper rate of nitrogen fertilizer can efficiently increase yield of sweet corn grown on clay loam soil at Uthai Thani province.

Keywords: nitrogen; phosphate; potash; nutrient use efficiency; nutrient uptake

^{1/} กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

^{1/} Agricultural Production Sciences Research and Development Office, Department of Agriculture. 50 Phahonyothin Rd, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author: wasak_k@hotmail.com

บทคัดย่อ

การจัดการปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมสามารถเพิ่มผลผลิตและลดการใช้ปุ๋ยเคมีได้ แต่คำแนะนำการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนกับข้าวโพดหวานไม่ได้จำเพาะกับสภาพของพื้นที่ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองและการดูดใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนของข้าวโพดหวานในกลุ่มดินร่วนเหนียวชุดดินชัยนาท ใน จ. อุทัยธานี ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ ประกอบด้วย 6 กรรมวิธีจำนวน 4 ซ้ำ กรรมวิธีเป็นปุ๋ยไนโตรเจน 6 ระดับ ได้แก่ 0 8 16 24 32 และ 40 กก. N/ไร่ โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชในอัตรา 1.0 เท่าของคำแนะนำตามค่าการวิเคราะห์ดิน ผลการทดลองพบว่า การตอบสนองของผลผลิตฝัก (Y) ต่อปุ๋ยไนโตรเจน (x) ของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริด 3 ที่ปลูกในดินร่วนเหนียวที่มีอินทรีย์วัตถุต่ำ (1.34%) ใน จ. อุทัยธานี ดังสมการ quadratic $Y = -0.6989x^2 + 44.985x + 2803$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9106$ เมื่อวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ ด้วยวิธี VCR พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 16 กก. N/ไร่ ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าทางเศรษฐกิจมากที่สุด ข้าวโพดมีการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมด 25.7 3.7 และ 23.7 กก. N P และ K/ไร่ ตามลำดับ และธาตุอาหารที่สูญหายไปกับผลผลิต 10.6 1.8 และ 7.8 กก. N P และ K/ไร่ ตามลำดับ การใช้อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมสามารถเพิ่มผลผลิตข้าวโพดหวานที่ปลูกในดินร่วนเหนียวในชุดดินชัยนาทใน จ. อุทัยธานีอย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: ไนโตรเจน; ฟอสเฟต; โพแทช; ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ย; การดูดใช้ธาตุอาหาร

บทนำ

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวานทั้งหมด ปี พ.ศ. 2565 ประมาณ 213,565 ไร่ ได้ผลผลิตรวม 450,358 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 2,177 กก./ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) ในปี พ.ศ.

2561 มีปริมาณการส่งออก 532,370 ตัน คิดเป็นมูลค่า 7,956 พันล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2560 คิดเป็น 3.84% (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562) โดย จ. อุทัยธานีมีพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวาน 642 ไร่ เป็นผลผลิต 1,329 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 2,070 กก./ไร่ (สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรที่ 6, 2562)

การผลิตข้าวโพดหวานให้ได้ผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพที่สูง ต้องจัดการดินและมีการใช้ปุ๋ยให้เหมาะสมกับสภาพของพื้นที่ อันมีผลต่อปริมาณและชนิดธาตุอาหารพืชที่เป็นประโยชน์ในดิน ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารพืชที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต เพิ่มขนาดของใบและลำต้น การสังเคราะห์แสงและการสร้างเมล็ดของข้าวโพด จึงพบมีการดูดใช้ไนโตรเจนสูงกว่าธาตุอาหารชนิดอื่น ๆ พืชได้รับไนโตรเจนจากการให้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนและบางส่วนในดินจากการย่อยสลายของเศษซากพืช ระยะออกดอกตัวผู้และตัวเมีย ข้าวโพดมีความต้องการไนโตรเจนมากที่สุด (สันติ และ ดิสสพันธุ์, 2549) แต่หากได้รับไนโตรเจนมากเกินไป จะเหี่ยวใบ ผลผลิตลดลง อ่อนแอต่อโรค (คณาจารย์ ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) การขาดไนโตรเจนจะทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโต ลำต้นผอมสูงและอาจโค้งงอ การติดเมล็ดบนฝักไม่สมบูรณ์ (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2564) ปัจจุบันคำแนะนำการให้ปุ๋ยกับข้าวโพดหวานยังเป็นสูตรและอัตราแบบกว้าง ๆ ไม่จำเพาะในแต่ละกลุ่มเนื้อดินและในแต่ละพื้นที่ ซึ่งอาจทำให้การใช้ปุ๋ยไม่ถูกต้องและไม่ตรงตามความต้องการของพืช ด้วยแต่ละพื้นที่มีระดับความอุดมสมบูรณ์และปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินที่แตกต่างกัน กลุ่มเนื้อดินมีผลต่อความเป็นประโยชน์ของไนโตรเจนในดิน โดยความต้องการไนโตรเจนของกลุ่มเนื้อดินร่วนปนทราย อาทิ ชุดดินโคราช อยู่ในระดับสูงกว่ากลุ่มเนื้อดินเหนียว อาทิ ชุดดินลพบุรี โดยทั่วไป ดินเนื้อละเอียดมีความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารไว้ได้ดีกว่าดินเนื้อหยาบ จึงสามารถปลดปล่อยธาตุอาหารให้แก่พืชได้มากกว่า มีงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษากิจการปุ๋ยไนโตรเจนในกลุ่มเนื้อดินต่าง ๆ พบว่า

ข้าวโพดหวานตอบสนองต่ออัตราของปุ๋ยที่แตกต่างกัน สำหรับดินร่วนซุยดินกำแพงแสน การให้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 0 12 24 และ 36 กก. N/ไร่ ให้ขนาดของฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนแถวต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ดเพิ่มขึ้นตามอัตราปุ๋ยที่ให้สูงขึ้น (สุรเดช และพัชราภรณ์, 2529) ดินร่วนเหนียวปนทรายที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 19.2 กก. N/ไร่ ได้รับผลผลิตสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนถึง 54% (Khan et al., 2018) ส่วนดินร่วนปนทรายซุยดินแมร์มีที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ ให้ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 25-30 กก. N/ไร่ (Kaweewong and Moonta, 2020) สำหรับดินร่วนปนทรายที่มีอินทรีย์วัตถุในดินค่อนข้างสูง ไม่พบการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนของข้าวโพดหวาน แต่ดินร่วนปนทรายแป้งที่มีอินทรีย์วัตถุในดินปานกลาง การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 0.5 0.75 และ 1.0% ของคำแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินหรืออัตรา 3.71 5.57 และ 7.42 กก. N/ไร่ ให้ผลผลิตข้าวโพดหวาน 42 54 และ 53% ตามลำดับ ขณะที่ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 1.25% ของคำแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินหรืออัตรา 9.28 กก. N/ไร่ ส่งผลให้ผลผลิตลดลง (นงเยาว์ และคณะ, 2558)

จะเห็นว่า ข้าวโพดหวานที่ปลูกในเนื้อดินต่างกันตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนไม่เหมือนกัน เนื่องจากดินมีปริมาณไนโตรเจนหรืออินทรีย์วัตถุมากน้อยแตกต่างกัน และประสิทธิภาพในการปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปที่เป็นประโยชน์ขึ้นอยู่กับชนิดของดินและสภาพภูมิอากาศ การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างเหมาะสม เพียงพอและสมดุล จะส่งผลให้ได้รับผลผลิตข้าวโพดหวานสูง แต่ปัจจุบันยังไม่มีงานวิจัยการปลูกข้าวโพดหวานในกลุ่มดินเหนียว-ร่วนเหนียว ซุยดินซึ้นนาทที่มีปริมาณของอินทรีย์วัตถุต่ำ โพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์สูง จัดเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง งานวิจัยนี้จึงศึกษาการตอบสนองการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริด 3 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาคำแนะนำการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในการผลิตข้าวโพดหวาน

ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีความเฉพาะเจาะจงกับสภาพพื้นที่

อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่ศึกษา

ดำเนินการทดลองในปี พ.ศ. 2560 ในแปลงเกษตรกร ต. เทโพ อ. เมืองอุทัยธานี จ. อุทัยธานี ซึ่งจัดอยู่ในชุดดินซึ้นนาท (Cn) (Fine, mixed, active, nonacid, isohyperthermic Aeric (Vertic) Endoaquepts) เก็บตัวอย่างดินรวมก่อนปลูกที่ระดับความลึก 0-20 ซม. จัดเป็นดินร่วนเหนียว เป็นกรดจัด (pH 5.4) ปริมาณอินทรีย์วัตถุต่ำ (1.34%) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงมาก (103 มก./กก.) เนื่องจากการจัดการปุ๋ยของเกษตรกรที่มีการใส่ปุ๋ยสูตรเสมออย่างต่อเนื่อง ส่วนโพแทสเซียมที่สกัดได้ในดินปานกลาง (94 มก./กก.) ซึ่งดินในพื้นที่เพาะปลูกนี้จัดเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ในระดับปานกลาง (กองสำรวจดิน, 2523) แนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินในการผลิตข้าวโพดหวาน อัตรา 20-5-10 กก. N-P₂O₅-K₂O/ไร่ ดินที่เหมาะสมในการปลูกข้าวโพดหวานควรมีอินทรีย์วัตถุมากกว่า 1% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่า 10 มก./กก. โพแทสเซียมที่สกัดได้มากกว่า 60 มก./กก. (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2564)

การปลูกและดูแลรักษาข้าวโพดหวาน

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ มี 4 ซ้ำ กรรมวิธี คือ ปุ๋ยไนโตรเจน (N) 6 ระดับ ได้แก่ 0 8 16 24 32 และ 40 กก. N/ไร่ ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต (P) และ ปุ๋ยโพแทช (K) ตามค่าวิเคราะห์ดิน ไถเตรียมดิน ยกแปลงย่อยขนาด 4.5x6.0 ม. ปลูกข้าวโพดหวานวันที่ 10 มกราคม 2560 พันธุ์ไฮบริด 3 (Hybrix 3) ใช้ระยะปลูก 0.75x0.25 ม. ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น/หลุม ใส่ปุ๋ยเคมีครั้งแรกรองพื้นกันหลุมด้วยปุ๋ย P+K ครั้งที่สอง หลังปลูก 14 วัน ด้วย ½ N ครั้งที่สาม หลังปลูก 25 วัน ด้วยปุ๋ยไนโตรเจนส่วนที่เหลือ ใส่ปุ๋ยสองข้างของแถวปลูกพร้อมพรวนดินกลับ โดยไนโตรเจนในรูปปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ฟอสฟอรัสในรูปปุ๋ยทริบิล

ซูเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) และโพแทสเซียมในรูปปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ให้น้ำระบบน้ำพองปริมาณและความถี่บ่อยในการให้สังเกตจากความชื้นในดิน เก็บเกี่ยววันที่ 23 มีนาคม 2560 ในพื้นที่ขนาด 3x5 ตร.ม.

การวิเคราะห์ธาตุอาหารในตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างพืชที่ระยะเก็บเกี่ยว แผลงย่อยละ 2 ต้น แยกเป็นส่วนของลำต้น ใบ เมล็ด ชั่ง และกาบฝัก ชั่งน้ำหนักสด อบแห้ง ชั่งน้ำหนักแห้ง บดละเอียด วิเคราะห์หาปริมาณและการดูดใช้ธาตุอาหาร N P K โดยวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดทำการย่อยสลายด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น (conc. H_2SO_4) และตัวเร่งปฏิกิริยา วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี micro-Kjeldahl method (Bremner, 1960) วัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดใช้วิธีของ Piper (1966) คือ wet oxidation โดยย่อยตัวอย่างพืชด้วยกรดผสมเข้มข้น ($HClO_4+HNO_3$ อัตราส่วน 1:2) นำสารละลายที่ย่อยได้บางส่วนไปทำให้เกิดสีด้วยน้ำยา molybdate-vanadate และวัดด้วยเครื่อง spectrophotometer วัดปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด นำตัวอย่างพืชไป

ย่อยสลายโดยวิธี wet oxidation เช่นเดียวกับการหาฟอสฟอรัสทั้งหมด นำสารละลายที่ได้วัดด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Piper, 1966)

การบันทึกข้อมูล

ความหวาน ($^{\circ}$ Brix) ผลผลิต น้ำหนักสด-แห้งของลำต้น ใบ เมล็ด ชั่งและกาบฝัก ปริมาณและการดูดใช้ธาตุอาหาร N P K ในลำต้น ใบ เมล็ด ชั่งและกาบฝัก วิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจโดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือ value to cost ratio (VCR) วัดประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนของข้าวโพดหวาน ตามวิธีของ Fageria et al. (1997) โดยคำนวณหา (1) ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจน (agronomic nitrogen use efficiency; ANUE) (2) ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนในทางสรีระ (physiological nitrogen use efficiency; PNUE) และ (3) ประสิทธิภาพการดูดใช้ปุ๋ย (apparent nitrogen recovery efficiency; ANRE) ดังนี้

$$ANUE \text{ (กก./กก.)} = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย N)} - \text{ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย N)}}{\text{ปริมาณปุ๋ย N ที่ใส่}}$$

$$PNUE \text{ (กก./กก.)} = \frac{\text{ผลผลิต (ใส่ปุ๋ย N)} - \text{ผลผลิต (ไม่ใส่ปุ๋ย N)}}{\text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N)} - \text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N)}}$$

$$ANRE \text{ (\%)} = \frac{[\text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ใส่ปุ๋ย N)} - \text{ธาตุอาหารที่พืชดูดใช้ (ไม่ใส่ปุ๋ย N)}] \times 100}{\text{ปริมาณปุ๋ย N ที่ใส่}}$$

นำข้อมูลผลผลิต ความเข้มข้น และการดูดใช้ธาตุอาหารในข้าวโพดหวานไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) และนำข้อมูลผลผลิตและอัตราปุ๋ยไนโตรเจนไปสร้างสมการถดถอยเชิงเส้นตรง (linear regression) โดยสมการ $y=bx+a$ ให้ y คือ ผลผลิต และ x คือ อัตราปุ๋ยไนโตรเจน

การวิเคราะห์คุณสมบัติของดินหลังเก็บเกี่ยว

เก็บตัวอย่างดินรวมก่อนปลูกที่ระดับความลึก 0-20 ซม. จำนวน 10 จุด/แปลง แล้วคลุกเคล้ารวมกัน

เป็น 1 ตัวอย่าง ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ย่อยดินผ่านตะแกรงร่อนเพื่อวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH) โดยใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:1 (Davis, 1943) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (OM) ตามวิธีของ Walkley and Black (Nelson and Sommer, 1982) โดยการย่อยดินด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นและสารละลาย $1N K_2Cr_2O_7$ ไตเตรทด้วยสารละลาย $0.5N$ ammonium ferrous sulfate วัดปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus) โดยสกัดดินด้วยวิธี Bray-II (Bray and Kurtz, 1945) และวิเคราะห์ปริมาณโดยวิธีเทียบสี (colorimetric by ascorbic acid method)

(Kuo, 1996) วิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้ (extractable K) โดยสกัดดินด้วยสารละลาย 1M NH_4OAc pH 7.0 (Pratt, 1965) และวัดปริมาณด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AAS) ด้วยเทคนิค atomic emission

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตข้าวโพด

การจัดการปุ๋ยทำให้ผลผลิตข้าวโพดหวานแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (Table 1) โดยการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนให้ผลผลิตฝัก (2,803 กก./ไร่) ต่ำกว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 8-40 กก./ไร่ ขณะที่การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนแต่ละอัตรา (8 16 24 32 และ 40 กก./ไร่) ให้ผลผลิตฝักไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3,213-3,525 กก./ไร่ แม้การตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอัตราของปุ๋ยที่ใส่เพิ่ม แต่เมื่อนำปริมาณผลผลิต (Y) ไปหาความสัมพันธ์กับอัตราปุ๋ยไนโตรเจน (x) พบว่า มีความสัมพันธ์แบบ quadratic ตามสมการ $Y = -0.6989x^2 + 44.985x + 2803$ มีค่า $R^2 = 0.9106$ (Figure 1) ขณะที่การดูการใช้ไนโตรเจนของข้าวโพดหวานมีปริมาณสูงสุดเมื่อให้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 16 กก./ไร่ การให้ปุ๋ยในปริมาณมากเกินไป (24-40 กก./ไร่) มีผลทำให้การดูใช้ไนโตรเจนลดต่ำลง

(Figure 2) ผลที่ได้ใกล้เคียงกับคำแนะนำการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนตามค่าวิเคราะห์ดิน (20 กก./ไร่) ซึ่งเพียงพอสำหรับการปลูกข้าวโพดหวานในพื้นที่นี้ เนื่องจากการให้ไนโตรเจนสูงกว่า 16 กก./ไร่ ไม่ทำให้การเจริญเติบโตของพืชเพิ่มสูงกว่าการให้ไนโตรเจนอัตราต่ำ ซึ่งแตกต่างจาก Khan et al. (2018) ที่ได้ศึกษาการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนในดินร่วนเหนียวปนทรายที่มีอินทรีย์วัตถุหรือไนโตรเจนระดับต่ำ ข้าวโพดมีการตอบสนองต่อไนโตรเจนสูงสุดที่ระดับ 19.2 กก./ไร่ ผลการทดลองยังแตกต่างกับ Kaweewong and Moonta (2020) ที่ปลูกข้าวโพดหวานในดินร่วนซุยดินแม่ริมที่มีอินทรีย์วัตถุต่ำ (1.4%) ข้าวโพดตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนที่ระดับ 25-30 กก./ไร่ ซึ่งการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนในการผลิตข้าวโพดหวานที่แตกต่างกัน เนื่องจากชนิดของดินเป็นตัวจำกัด เช่น เนื้อดิน อินทรีย์วัตถุเป็นต้น ส่งผลให้การผลิตข้าวโพดหวานที่ปลูกในดินร่วนเหนียวใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราต่ำกว่า เห็นได้ว่าปริมาณผลผลิตและน้ำหนักสดต้นเป็นไปในทิศทางเดียวกัน แต่น้ำหนักแห้งลำต้น เมล็ด กาบฝัก ซึ่งและใบของข้าวโพดมีค่าใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับความหวานของข้าวโพดที่ไม่ต่างกัน (Table 2) ในขณะที่ Wu et al. (1993) พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูงส่งผลให้ soluble sugar ลดลง

Table 1 Yield and yield components of sweet corn grown at Uthai Thani province in 2017

N rate (kg N/rai)	Unhusk ear ^{1/} (kg/rai)	Stover fresh wt. ^{1/} (kg/rai)	Brix (°Brix)	Plant dry matter (kg/rai)				
				Grain	Stalk	Leave	Cob	Husk
0	2,803 b	3,758 b	14.6	306	499	382	141b	323
8	3,213 a	4,581 a	14.2	361	542	473	169b	351
16	3,419 a	4,382 a	14.5	345	573	471	166b	339
24	3,353 a	4,372 a	14.9	353	532	461	166b	369
32	3,510 a	4,485 a	14.3	346	506	447	163b	365
40	3,525 a	4,401 a	14.3	367	460	447	214a	361
Mean	3,304	4,329	14.5	346	519	447	170	351
F-test	**	*	<1	<1	<1	ns	ns	<1
CV (%)	7.6	7.7	4.5	14.5	17.0	11.8	11.1	15.3

^{1/} Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT, ns : not significant, * : significant at 5% level probability, ** : significant at 1% level probability

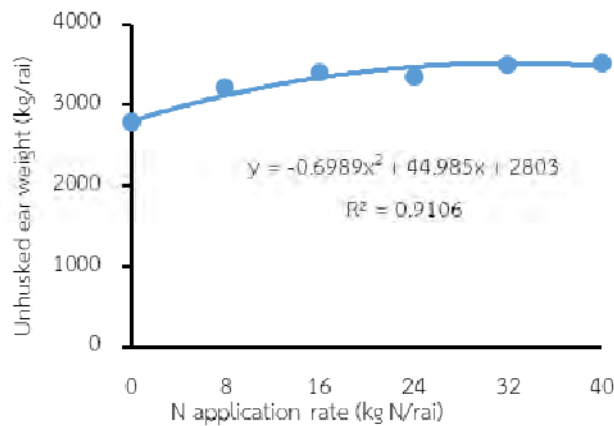


Figure 1 Response curve of nitrogen fertilizer rates and sweet corn yield

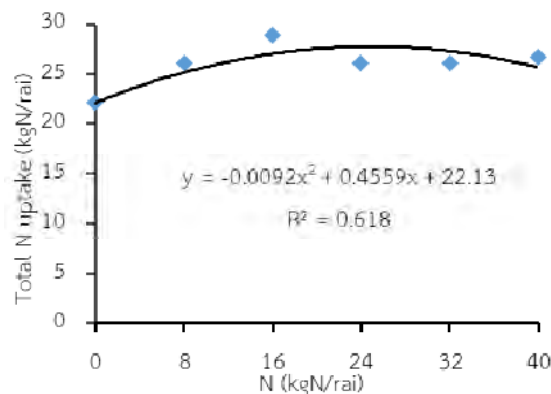


Figure 2 Relationship between total nitrogen uptake in plant (kg N/rai) and amount of nitrogen application (kg N/rai)

ความเข้มข้นของธาตุอาหารในส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพด

การจัดการปุ๋ยไนโตรเจนไม่ทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในเมล็ด ลำต้น ใบ ช่ และกาบฝักแตกต่างกัน โดยมีความเฉลี่ยสำหรับไนโตรเจน 1.80 1.14 2.03 0.89 และ 0.81% ตามลำดับ ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบสูงกว่าเมล็ด>เมล็ด>ลำต้น>ช่>กาบฝัก ส่วนฟอสฟอรัสในเมล็ดและใบ>ช่>กาบฝักและลำต้น มีความเฉลี่ย 0.29 0.13 0.26 0.18 และ 0.15% ตามลำดับ ในขณะที่ค่าเฉลี่ยของโพแทสเซียม 1.02 1.48 1.89 0.92 และ 0.76% ตามลำดับ และในใบ>ลำต้น>เมล็ด>ช่>กาบฝัก (Table 2) โดยความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม

และแมกนีเซียมในใบระดับที่พอเพียง คือ 2.7-3.5 0.2-0.4 1.7-2.5 0.2-1.0 และ 0.2-0.6% ตามลำดับ (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2564)

เมล็ดมีความเข้มข้นของไนโตรเจน>โพแทสเซียม>ฟอสฟอรัส คิดเป็นสัดส่วน 6:4:1 ลำต้นมีความเข้มข้นของโพแทสเซียม>ไนโตรเจน>ฟอสฟอรัส ในสัดส่วน 11:9:1 ขณะที่ใบมีความเข้มข้นของไนโตรเจน>โพแทสเซียม>ฟอสฟอรัส เป็นสัดส่วน 8:7:1 ส่วนช่และกาบฝักมีความเข้มข้นใกล้เคียงกับไนโตรเจน>ฟอสฟอรัส โดยมีสัดส่วน 5:5:1 และ 5:5:1 ตามลำดับ (Table 2) เมื่อประเมินสัดส่วนของธาตุอาหารที่พืชต้องการเห็นได้ว่า ข้าวโพดหวานต้องการไนโตรเจนและโพแทสเซียมในปริมาณที่สูงกว่าฟอสฟอรัส แต่

คำแนะนำการใช้ปุ๋ยสำหรับข้าวโพดหวานยังเป็น
สูตรนำไปใช้กับทุก ๆ กลุ่มเนื้อดินหรือสภาพพื้นที่
จึงให้ธาตุอาหารไม่สอดคล้องกับความต้องการของ

พืชและยังทำให้เกิดการตกค้างของธาตุอาหารในดิน
โดยเฉพาะฟอสฟอรัส พบว่า มีปริมาณสูงมากในดิน

Table 2 Nutrient concentrations in each part by sweet corn

N rate (kg N/ai)	N concentration (%)					P concentration (%)					K concentration (%)				
	Grain	Stalk	Leave	Cob	Husk	Grain	Stalk	Leave	Cob	Husk	Grain	Stalk	Leave	Cob	Husk
0	1.75	1.15	2.01	0.90	0.79	0.28	0.15	0.26	0.19	0.18	0.95	1.56	1.84	0.94	0.82
8	1.78	1.14	2.02	0.83	0.79	0.30	0.13	0.25	0.18	0.15	1.07	1.35	1.80	0.86	0.76
16	1.84	1.06	2.07	0.92	0.83	0.31	0.12	0.27	0.20	0.14	1.07	1.39	1.86	0.97	0.73
24	1.74	1.11	2.04	0.93	0.82	0.30	0.13	0.25	0.19	0.14	1.04	1.53	1.90	0.97	0.80
32	1.84	1.23	2.02	0.93	0.83	0.27	0.13	0.27	0.18	0.14	1.04	1.64	2.04	0.94	0.74
40	1.87	1.14	2.03	0.87	0.83	0.28	0.13	0.27	0.18	0.14	0.96	1.39	1.91	0.87	0.69
Mean	1.80	1.14	2.03	0.89	0.81	0.29	0.13	0.26	0.18	0.15	1.02	1.48	1.89	0.92	0.76
F-test	ns	<1	ns	ns	<1	<1	ns	<1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV(%)	3.8	11.5	1.7	7.3	5.4	12.7	14.2	9.7	6.5	9.2	8.7	13.5	5.3	10.3	6.8

ns : not significant

ปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของข้าวโพด

การไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้ข้าวโพดหวาน
ดูดใช้ไนโตรเจนทั้งหมดต่ำสุด (21.99 กก.N/ไร่)
จึงส่งผลให้ปริมาณผลผลิตต่ำและต่ำกว่าการใส่
ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราอื่น ๆ (8-40 กก. N/ไร่) ทำให้
ข้าวโพดมีการดูดใช้ไนโตรเจนระหว่าง 25.34-26.30
กก.N/ไร่ ส่งผลให้ได้รับผลผลิตเพิ่มสูง 3,213-3,525
กก./ไร่ (Table 3) สอดคล้องกับกองวิจัยพัฒนา
ปัจจัยการผลิตทางการเกษตร (2564) ที่พบว่า
ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริด 3 มีการดูดใช้ไนโตรเจน
ทั้งหมด 6.90 กก.N/ไร่/ตันผลผลิต และยังใกล้เคียง
กับ Khan et al. (2018) ที่รายงานว่า การให้ไนโตรเจน
อัตรา 19.2 กก.N/ไร่ ทำให้ข้าวโพดหวานมีการดูด
ใช้ไนโตรเจนทั้งหมด 28.02 กก.N/ไร่

ในการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนสำหรับการผลิต
ข้าวโพดหวาน เมื่อนำผลผลิตออกไปนอกพื้นที่ทำให้
สูญเสียธาตุอาหารคิดเป็นปริมาณ 10.6 1.8 และ

7.8 กก.N P และ K/ไร่ ตามลำดับ ดังนั้น คำแนะนำ
การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในการผลิตข้าวโพดหวานที่ปลูก
ในชุดดินชั้นนาท ที่มีอินทรีย์วัตถุต่ำ ฟอสฟอรัสที่
เป็นประโยชน์สูงมากและโพแทสเซียมที่เป็น
ประโยชน์ปานกลาง คือ 16 กก.N/ไร่ ก็เพียงพอ
หรือสามารถชดเชยธาตุอาหารไนโตรเจนที่ถูก
นำออกไปพร้อมกับผลผลิตได้ คือ 10.6 กก.N/ไร่
แต่หากนำทั้งตอซังและฝักออกไปจากพื้นที่ทำให้
ปริมาณธาตุอาหารทั้งหมดที่สูญหาย 25.7 3.67
และ 23.65 กก.N P และ K/ไร่/ฤดู จะส่งผลให้
ปริมาณธาตุอาหารที่นำออกไปเกินดุลของปริมาณ
ธาตุอาหารที่ใส่ลงไปดิน คำแนะนำการใช้ปุ๋ย
ไนโตรเจนอัตราดังกล่าวที่ใช้ในพื้นที่นี้จึงไม่เพียงพอ
ดังนั้น จึงควรแนะนำการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนร่วมกับ
การจัดการตอซังข้าวโพดหลังการเก็บเกี่ยวด้วยการ
สับกลบลงดิน

Table 3 Nutrient uptake in each part by sweet corn

N rate (kg N/rai)	N uptake (kg/rai)					Total (kg/rai)	P uptake (kg/rai)					Total (kg/rai)	K uptake (kg/rai)					Total (kg/rai)
	Grain	Stalk	Leave	Cob	Husk		Grain	Stalk	Leave	Cob	Husk		Grain	Stalk	Leave	Cob	Husk	
0	5.33	5.21	7.68	1.25	2.53	21.99	0.89	0.76	0.99	0.27	0.57	3.47	3.04	7.79	7.08	1.30	2.63	21.98
8	6.41	5.22	9.80	1.40	2.77	25.34	1.06	0.68	1.18	0.30	0.52	3.72	3.88	7.01	8.50	1.44	2.65	23.47
16	6.36	5.88	9.75	1.51	2.82	26.30	1.06	0.68	1.27	0.32	0.49	3.80	3.75	8.04	8.81	1.59	2.47	24.65
24	6.15	5.80	9.72	1.54	3.02	25.92	1.05	0.66	1.15	0.31	0.52	3.70	3.66	8.12	8.78	1.59	2.95	25.11
32	6.35	5.44	9.04	1.51	3.04	25.38	0.97	0.63	1.20	0.29	0.52	3.60	3.60	8.11	9.11	1.52	2.71	25.13
40	6.85	4.71	9.06	1.85	2.96	25.42	1.05	0.58	1.21	0.37	0.49	3.71	3.59	6.39	8.52	1.86	2.48	22.03
Mean	6.24	5.33	9.17	1.51	2.86	25.06	1.01	0.66	1.17	0.31	0.52	3.67	3.60	7.52	8.47	1.55	2.65	23.86
F-test	ns	<1	ns	ns	<1	ns	<1	<1	ns	ns	<1	<1	<1	ns	ns	ns	<1	ns
CV(%)	15.4	15.1	12.0	11.7	15.0	10.2	27.9	25.0	9.7	9.7	19.5	13.4	16.9	17.1	12.3	11.1	14.1	10.2

ns : not significant

ประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนของข้าวโพดหวาน

ประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยแสดงถึงความสามารถของพืชในการให้ผลผลิตต่อหน่วยของปุ๋ยที่ใช้ เป็นความสามารถในการดึงดูดธาตุอาหารไปสะสมไว้ในต้นแล้วเปลี่ยนให้เป็นผลผลิต (Moll et al., 1982) จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการใช้นิโตรเจนพบว่า เมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้นในอัตรา 8 16 24 32 และ 40 กก./ไร่ ทำให้ประสิทธิภาพการใช้นิโตรเจนของข้าวโพดลดลง โดย ANUE มีค่า 54 39 23 22 และ 18 กก./กก.N ตามลำดับ (Table 4) เนื่องจากการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมากเกินไปเกินกว่าความต้องการของข้าวโพด ไนโตรเจนส่วนเกินไม่ได้ถูกนำมาใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิต แต่จะอยู่ในดินหรือสูญหายไปโดยกระบวนการต่าง ๆ จึงทำให้ ANUE ลดต่ำลง สอดคล้องกับประสิทธิภาพการดูดใช้ปุ๋ย ซึ่งพบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 8 กก./ไร่ มีค่า ANRE สูงสุด 50% แต่เมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้น กลับทำให้ ANRE ลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Johnson and Raun (2003) ซึ่งพบว่า การให้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่ำจะทำให้ ANUE มีค่าสูง แต่การให้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูง (7.2-17.9 กก./ไร่) มากจนเกินความต้องการของพืชจะทำให้ ANUE มีค่าต่ำ แต่ขัดแย้งกับ Oktem et al. (2010) ที่พบว่า

ANUE มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการให้ปุ๋ยไนโตรเจนแก่ข้าวโพดหวานในอัตราเพิ่มมากขึ้น ขณะที่ค่า ARNE นั้นขึ้นอยู่กับความต้องการไนโตรเจนของพืชและปริมาณไนโตรเจนที่ปุ๋ยปลดปล่อยออกมาให้แก่พืช (Dobermann, 2005) การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน อัตรา 8 16 24 32 และ 40 กก./ไร่ ทำให้ข้าวโพดมีการดูดใช้นิโตรเจนจากปุ๋ย (PNUE) ไปใช้ในการสร้างผลผลิตเฉลี่ย 92 166 113 225 และ 192 กก./กก.N ที่พืชดูดใช้ นั่นคือ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 32 กก./ไร่ ทำให้ข้าวโพดสามารถนำไนโตรเจนที่ดูดใช้ไปสร้างผลผลิตได้สูงสุด แตกต่างกับ Eivazi and Habibi (2013) รายงานว่าใส่ปุ๋ยไนโตรเจนสูงสุดที่ระดับ 17.6 กก./ไร่ แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทางสรีระขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพการใช้นิโตรเจนของข้าวโพด (Biswas and Ma, 2016) แนวทางการจัดการปุ๋ยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์และลดการสูญเสียของปุ๋ยไนโตรเจนให้ใส่ไบโอชาร์ร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจน เนื่องจากไบโอชาร์มีผลทำให้การสะสมของไนโตรเจนในดินเพิ่มมากขึ้น (เสาวคนธ์, 2557; ชัชชนพร และคณะ, 2564) หรือการให้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับการไถกลบเศษตอซัง (Liu et al., 2006; Gao et al., 2020)

Table 4 Nitrogen use efficiency on sweet corn production at Uthai Thani province in 2017

Item	Nitrogen level (kg N/rai)					P-value
	8	16	24	32	40	
N removal (kg/rai)	26	29	26	26	27	ns
Agronomic N use efficiency (kg/kg N)	54	39	23	22	18	*
Physiological N use efficiency (kg/kg N)	92	166	113	225	192	ns
Apparent N recovery efficiency (%)	50	28	10	9	5	ns

ns : not significant, * : significant at 5% level probability

ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

เมื่อพิจารณาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจโดยใช้อัตราส่วนระหว่างรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากการใช้ปุ๋ยต่อรายจ่ายจากการใช้ปุ๋ย หรือ ค่า value to cost ratio (VCR) (Table 5) พบว่า การให้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 16 กก./ไร่ ให้ผลตอบแทนสุทธิและค่า VCR (3.0) สูงสุด ดังนั้น การผลิตข้าวโพดหวานในดินร่วนเหนียวชุดดินชั้นนาท จ. อุทัยธานี ที่มีอินทรีย์วัตถุ 1.34% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 103 มก./กก. และโพแทสเซียมที่สกัดได้ 94 มก./กก. ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 16 กก./ไร่ ร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟต 5 กก./ไร่ และปุ๋ยโพแทช 10 กก./ไร่

K₂O/ไร่ ถือว่าคุ้มค่ากับการลงทุนและเป็นระดับธาตุอาหารที่เพียงพอกับความต้องการของข้าวโพดหวาน เนื่องจากการนำผลผลิตออกไปนอกพื้นที่คิดเป็นปริมาณธาตุอาหารที่สูญเสียเพียง 10.6 1.8 และ 7.8 กก. N, P และ K/ไร่ ตามลำดับ หรือคิดเป็นเนื้อปุ๋ย 10.6 4.1 และ 9.4 กก. N-P₂O₅-K₂O/ไร่ การให้ปุ๋ยข้าวโพดหวานในอัตราดังกล่าวสามารถชดเชยปริมาณของธาตุอาหารที่ติดไปกับผลผลิตที่ถูกนำออกไปจากพื้นที่ได้ จึงทำให้ระบบการผลิตในระยะยาวเกิดความยั่งยืนเมื่อมีการใส่ปุ๋ยเพิ่มเติมลงไปดิน สมดุลกับปริมาณของธาตุอาหารที่สูญหาย

Table 5 Value/cost ratio of nitrogen fertilizer application in sweet corn production at Uthai Thani province during 2017 cropping season

N-P-K rate (kg N-P ₂ O ₅ - K ₂ O/rai)	Yield (kg/rai)	Increased yield (kg/rai)	Gross return (Baht/rai)	Cost of fertilizer (Baht/rai)	Net return (Baht/rai)	VCR
T1 (0-5-10)	2,803	0	0	508	-	-
T2 (8-5-10)	3,213	410	2,050	770	1,280	2.7
T3 (16-5-10)	3,419	616	3,080	1,033	2,047	3.0
T4 (24-5-10)	3,353	550	2,750	1,296	1,454	2.1
T5 (32-5-10)	3,510	707	3,535	1,559	1,976	2.3
T6 (40-5-10)	3,525	722	3,610	1,822	1,788	2.0

Note: 21-0-0=6.90 Baht/kg N, 0-46-0=26.00 Baht/kg P₂O₅, 0-0-60=13.50 Baht/kg K₂O, Sweet corn price = 6.40 Baht/kg

สมบัติของดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพด

เมื่อเปรียบเทียบบิทธิพลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของดินหลังการเก็บเกี่ยว (Table 6) พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุไม่แตกต่างกัน

ดินก่อนปลูก มีค่าอยู่ในช่วง 1.29-1.45% เนื่องจากเศษตอซังส่วนเหนื่อดินถูกขนย้ายออกไปนอกพื้นที่และเหลือทิ้งไว้เฉพาะส่วนใต้ดินซึ่งมีปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงไม่มากพอต่อการเติมอินทรีย์วัตถุ

ลงไปดิน การจัดการปุ๋ยรวมกับการใส่เศษซากพืชในอัตราที่เหมาะสมจึงจะสามารถเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินได้ (Willigen et al., 2008) ถึงแม้ว่าอินทรีย์วัตถุในดินจะเพิ่มขึ้นประมาณ 1-10%/ปี (Gunina and Kuzyakov, 2022) ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนทำให้อินทรีย์วัตถุถูกย่อยสลายเร็ว การตกค้างของธาตุอาหารในดินจึงต่ำ ส่วนฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม

ไม่แตกต่างกันทางสถิติจากการจัดการปุ๋ยแบบต่าง ๆ เฉลี่ยอยู่ในช่วง 127-131 และ 88-105 มก./กก. ตามลำดับ แต่มีการตกค้างของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในดินสูง เนื่องจากการใส่ปุ๋ยสูตรเสมออย่างต่อเนื่องในการผลิตข้าวโพดหวานของเกษตรกร และฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่ถูกตรึงในดินได้ง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งดินที่มีเนื้อดินเป็นดินเหนียว

Table 6 Soil properties after harvesting sweet corn at Uthai Thani province in 2017

N rate (kg N/rai)	pH	OM (%)	Avail. P (mg P/kg)	Extr. K (mg K/kg)
0	5.5	1.45	125	97
8	5.3	1.34	131	96
16	5.2	1.36	127	88
24	4.8	1.45	129	105
32	5.2	1.35	127	91
40	4.4	1.29	120	96
Mean	5.1	1.38	127	96
F-test	ns	ns	<1	<1
CV (%)	9.8	8.2	13.8	28.1

^{ns} : not significant

สรุปผลการทดลอง

การปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริด 3 ในดินร่วนเหนียว จ. อุทัยธานี ซึ่งมีอินทรีย์วัตถุต่ำ (1.34%) พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน อัตรา 8-40 กก. N/ไร่ ให้ผลผลิตฝักทั้งเปลือกไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3,213-3,525 กก./ไร่ แต่สูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยเลย ข้าวโพดตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจน ดังสมการ $Y = -0.6989x^2 + 44.985x + 2803$ ($Y =$ ผลผลิตฝักทั้งเปลือก, $x =$ ปุ๋ยไนโตรเจน) โดยมีค่า $R^2 = 0.9106$ เมื่อวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ ด้วยวิธี VCR พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 16 กก./ไร่ ร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟตอัตรา 5 กก./ไร่ และปุ๋ยโพแทช อัตรา 10 กก./ไร่ ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าทางเศรษฐกิจมากที่สุด ข้าวโพดมีการดูดใช้ธาตุอาหารทั้งหมด 25.7 3.7 และ 23.7 กก. N, P และ K/ไร่ ตามลำดับ และธาตุอาหารที่สูญเสียไปกับผลผลิต 10.6 1.8 และ 7.8 กก. N, P และ K/ไร่ ตามลำดับ การจัดการปุ๋ยไนโตรเจนไม่

ทำให้ค่าพีเอชของดิน อินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และโพแทสเซียมที่สกัดได้ในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

- กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2564. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 105 หน้า.
- กองสำรวจดิน. 2523. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการเล่มที่ 2525. แผนที่ดินของประเทศไทยมาตราส่วน 1:500,000 กองสำรวจดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 78 หน้า.
- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 547 หน้า.

- ชัชชนพร เกื้อหนุน พิระพงษ์ เขาวนพงษ์ ปัญจพร เลิศรัตน์
บรรณพิชญ์ สัมฤทธิ์ และ สายน้ำ อุดพัวย. 2564.
ผลของไบโอชาร์ต่อการเปลี่ยนแปลงความอุดมสมบูรณ์
ดินทราย-ดินร่วนปนทรายและดินเหนียวในสภาพ
โรงเรือน. รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด
กรมวิชาการเกษตร. แหล่งข้อมูล: <https://www.doe.go.th/plan/wp-content/uploads/2021/05/8> ผลของ
ไบโอชาร์ต่อการเปลี่ยนแปลงความอุดมสมบูรณ์ดินทราย-
ดินร่วน.pdf. สืบค้น: 1 ตุลาคม 2566.
- นงเยาว์ จันทรอินทร์ ทะนงศักดิ์ ประระไทย สุวิมล
พุทธรธรรยาวงค์ พัทธภิรมณ์ ตีมุขชิตา ทองพูน
เฉิดสมบูรณ์ อภิไธย ไตรโชค อรรพวรรณ จินะใจหาญ
ปิยะพล ระเบียบ และ สุรศักดิ์ คำนันท์. 2558. การศึกษา
การใช้ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน
สำหรับข้าวโพด. แหล่งข้อมูล: <https://tarr.arda.or.th/preview/item/ceibvpYU9 X9 vBQmBynZf A?keyword=ทนงศักดิ์%20ประระไทย>. สืบค้น: 6
กันยายน 2566.
- สุรเดช จินตกานนท์ และ พัทธภิรมณ์ ไชริศมี. 2529.
อิทธิพลของอัตราและวิธีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อ
ปริมาณและคุณภาพของเมล็ดข้าวโพดหวานที่ปลูก
ในชุดดินกำแพงแสน. ใน: รายงานการประชุมวิชาการ
พืชผักแห่งชาติครั้งที่ 6, วันที่ 13-17 มกราคม 2529.
วิทยาเขตเกษตรนครศรีธรรมราช นครศรีธรรมราช.
- สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรที่ 6. 2562. ข้อมูล
เอกภาพพืชเศรษฐกิจ 17 จังหวัดภาคเหนือ: ข้อมูล
เอกภาพข้าวโพดหวาน. แหล่งข้อมูล: <https://ndoe.doe.go.th/plant-unity1.php?p=16>. สืบค้น: 10
พฤศจิกายน 2566.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. ส่งออกข้าวโพด
หวานทิศทางสดใส ครองแชมป์ส่งออกอันดับ 1 ของ
โลก. แหล่งข้อมูล: <https://www.oae.go.th/view/1/>
รายละเอียดภาวะเศรษฐกิจการเกษตร/30924/TH-H.
สืบค้น: 22 พฤษภาคม 2566.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. ตารางแสดงรายละเอียด
ข้าวโพดหวาน. แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th/view/ตารางแสดงรายละเอียดข้าวโพดหวาน/TH-TH>. สืบค้น: 22 พฤษภาคม 2566.
- สันติ ธีรภรณ์ และ ดิสสพันธุ์ ธรรมภิรมย์. 2549. การใช้ปุ๋ย
กับข้าวโพด. หน้า 1-17. ใน: เอกสารประกอบการ
ฝึกอบรมหลักสูตร การใช้ปุ๋ยอย่างมีประสิทธิภาพกับ
พืชเศรษฐกิจ. 23-24 พฤษภาคม 2549 สำนักวิจัย
พัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการ
เกษตร กรุงเทพฯ.
- เสาวคนธ์ เหมวงษ์. 2557. ผลของถ่านชีวภาพจากไม้ไผ่
และกลบต่อผลผลิตและประสิทธิภาพการดูดใช้
ไนโตรเจนของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1. วารสารวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 16(1): 69-75.
- Biswas, D.K. and B.L. Ma. 2016. Effect of nitrogen
rate and fertilizer nitrogen source on
physiology, yield, grain quality, and nitrogen
use efficiency in corn. Canadian Journal of
Plant Science. 96: 392-403.
- Bray, R.H. and N. Kurtz. 1945. Determination of
total, organic and available forms of phosphorus
in soil. Soil Science. 59: 39-45.
- Bremner, J.M. 1960. Determination of nitrogen in
soil by the Kjeldahl method. Journal of
Agricultural Science. 55: 11-33.
- Davis, L.E. 1943. Measurements of pH with the
glass electrode as affected by soil moisture.
Soil Science. 56(6): 405-422.
- Dobermann, A. 2005. Nitrogen Use Efficiency – State of
the Art. Available at: <https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1319&context=agronomyfacpub>. Accessed: November
10, 2023.
- Eivazi, A. and F. Habibi. 2013. Evaluation of nitrogen
use efficiency in corn (*Zea mays* L.) variety.
World Applied Sciences Journal. 21(1): 63-68.
- Fageria, N.K., V.C. Baligar and C. A. Jones. 1997.
Growth and Mineral Nutrition of Field
Crops, 2nd Ed. New York: Marcel Dekker.
494 p.
- Gao, L., W. Li, U. Ashraf, W. Lu, Y. Li, C. Li, G. Li, G. Li
and J. Hu. 2020. Nitrogen fertilizer management
and maize straw return modulate yield and
nitrogen balance in sweet corn. Agronomy.
10(3): 362.
- Gunina, A. and Y. Kuzyakov. 2022. From energy to
(soil organic) matter. Global Change Biology.
28: 2169-2182.
- Johnson, G.W. and W.R. Raun. 2003. Nitrogen
response index as a guide management.
Journal of Plant Nutrition. 26(2): 249-262.
- Kaweewong, J. and A. Moonta. 2020. Nitrogen
requirements of sweet corn grown on Mea

- Rim soil series. Thai Journal of Science and Technology. 9(6): 811-820.
- Khan, A.A., A. Hussain, M.A. Ganai, N.R. Sofi and S.T. Hussain. 2018. Yield, nutrient uptake and quality of sweet corn as influenced by transplanting dates and nitrogen levels. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 7(2): 3567-3571.
- Kuo, S. 1996. Phosphorus. pp. 869-919. In: D.L. Sparks (ed.). Methods of Soil Analysis, part 3: Chemical Methods. Soil Science Society of America Book Series No. 5. and ASA, Madison, Wisconsin, USA.
- Liu, X., S.J. Herbert, A.M. Hashemi, X. Zhang and G. Ding. 2006. Effects of agricultural management on soil organic matter and carbon transformation – A review. Plant Soil and Environment. 52(12): 531–543.
- Moll, R.H., E.J. Kamprath and W.A. Jackson. 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency to nitrogen utilization. Agronomy Journal. 74: 562-564.
- Nelson, D.W. and L.E. Sommer. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. pp. 539-579. In: Method of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiology Properties. Agronomy Monograph 9 (2nd) ASA-SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
- Oktem, A., A.G. Oktem and H.Y. Emeklier. 2010. Effect of nitrogen on yield and some quality parameters of sweet corn. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 41: 832–847.
- Piper, C.S. 1966. Soil and Plant Analysis: A Laboratory Manual of Methods for the Examination of Soils and the Determination of the Inorganic Constituents of Plant. Hans Publisher, Bombay. 368 p.
- Pratt, P.F. 1965. Potassium. pp. 1022-1030. In: C.A. Black. (ed). Methods of Soil Analysis. Part II. Amer. Soc. of Agron. Inc. Madison, Wisconsin.
- Richard, L.A. 1954. Diagnostic and improvement of saline alkaline soils. U.S. salinity laboratory, U.S. Dept. Agricultural Handbook No. 60. 160 p.
- Willigen, P., B.H. Janssen, H.I.M. Heesmans, J.G. Conijn, G.J. Velthof and W.J. Chardon. 2008. Decomposition and accumulation of organic matter in soil; Comparisons of some model. Altera, Wageningen, The Netherlands. 73 p.
- Wu, P., Q. Dai and Q. Tao. 1993. Effect of fertilizer rates on the growth, yield, and kernel composition of sweet corn. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 24: 237-253.

ความผันแปรของประชากรเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทย

Variability of *Pyricularia oryzae* Populations Causing Agents of Rice Blast in Thailand

อรยา ปานอ่อน^{1/} วรณวิไล อินทนู^{1/} ศิริภา กออินทร์ศักดิ์^{2/} จินตนา อันอาดมงาม^{1/*}
Oraya Phanon^{1/} Wanwilai Intanoo^{1/} Siripar Korinsak^{2/} Jintana Unartngam^{1/*}

Received 23 May 2023/Revised 26 Jul. 2023/Accepted 31 Jul. 2023

ABSTRACT

Rice blast, caused by *Pyricularia oryzae*, is an important disease of rice production in Thailand. This disease is distributed in all localities of the country. It affects the quality and quantity of rice production. The purpose of this research was to evaluate the variation of *P. oryzae* populations collected from major rice growing areas of the country by studying their pathogenicity towards 9 differential rice varieties that had single resistance genes (near isogenic lines; NILs): *Pi-7(t)*, *Pi9*, *Pi-a*, *Pi-b*, *Pi-i*, *Pi-kh*, *Pi-t*, *Pi-ta* and *Pi-sh*. Results revealed that from the 80 isolates studied, the pathogen could be identified into 47 races. When all isolates were clustered by UPGMA methods Past 4.10 program by using disease index data, the classical clustering analysis showed that *P. oryzae* races were grouped into 13 clades with cophenetic correlation at 0.80. However, race identification and clustering were not correlated with the sources of *P. oryzae*, more than one race could occur in one site. The results indicated that pathogenicity of the fungus was variable within the population as well as among populations. These results were informative for the planning of improvement of blast disease resistant rice varieties.

Keywords: blast disease; *Pyricularia oryzae*; population; diversity; rice

^{1/} ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

^{1/} Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

^{2/} ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

^{2/} Rice Science Center, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

* Corresponding author: agrjne@ku.ac.th

บทคัดย่อ

โรคไหม้ของข้าวเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* เป็นโรคที่สำคัญมีผลต่อคุณภาพและปริมาณผลผลิตข้าวของประเทศไทย พบการระบาดของโรคนี้ในพื้นที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความผันแปรของประชากรเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทย ทำการประเมินการเกิดโรคบนข้าวชุดทดสอบ (differential varieties) จำนวน 9 สายพันธุ์ที่มียืนต้นทานเดี่ยว (near isogenic lines; NILs) ได้แก่ *Pi-7(t)*, *Pi9*, *Pi-a*, *Pi-b*, *Pi-i*, *Pi-kh*, *Pi-t*, *Pi-ta* และ *Pi-sh* นำข้อมูลค่าดัชนีการเกิดโรค (disease index) มาจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม Past 4.10 ผลการทดลองพบว่า จากเชื้อราที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 80 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อราได้จำนวน 47 สายพันธุ์ และสามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อรา *P. oryzae* ได้ 13 กลุ่มโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (cophenetic correlation) เท่ากับ 0.80 อย่างไรก็ตาม การจำแนกสายพันธุ์และการจัดกลุ่มไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อรา โดยในแต่ละพื้นที่พบเชื้อรา *P. oryzae* มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เชื้อรามีความผันแปรภายในประชากรและระหว่างประชากรเชื้อรา ดังนั้น ข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการวางแผนเพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ของข้าวต่อไป

คำสำคัญ: โรคไหม้; *Pyricularia oryzae*; ประชากร; ความหลากหลาย; ข้าว

บทนำ

โรคไหม้ของข้าว (rice blast disease) เป็นโรคสำคัญโรคหนึ่งที่พบในพื้นที่ปลูกข้าวทั่วทุกภาคของประเทศไทยทั้งข้าวนาปีและนาปรัง โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (สมคิด, 2532) สามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึง

ระยะออกรวง โดยในระยะกล้า ถ้าอาการของโรครุนแรงจะทำให้ต้นกล้าพุดตาย ในระยะแตกกอ ข้าวแสดงอาการจุดสีน้ำตาลที่ใบข้าว ลักษณะคล้ายรูปตา มีสีเทาอยู่ตรงกลางแผล สามารถขยายลุกลามและกระจายทั่วบริเวณใบ เมื่อมีการระบาดที่รุนแรงจะพบจุดช้ำน้ำปริมาณมากทั่วทั้งใบ ทำให้ใบแห้งตายคล้ายถูกน้ำร้อนลวก นอกจากนี้ เชื้อรายังสามารถเข้าทำลายรวงข้าวจนถึงคอรวงได้ โรคไหม้ของข้าวในระยะนี้จึงเรียกว่า “โรคไหม้คอรวง” ทำให้รวงข้าวมีเมล็ดลีบ เปลือกเมล็ดข้าวมีสีเทาของเชื้อ นอกจากนี้ ถ้ามีการระบาดอย่างรุนแรงจะพบรวงข้าวลีบทั้งรวง และหักง่ายบริเวณที่เชื้อเข้าทำลาย (พูนศักดิ์ และวัฒนา, 2559) ในปีพ.ศ. 2535 ประเทศไทยพบการระบาดของโรคไหม้ของข้าวในระยะข้าวออกรวง ครอบคลุมพื้นที่การระบาด 1.2 ล้านไร่ ทำให้ผลผลิตเสียหาย 60% (Disthaporn, 1994) และในปี พ.ศ. 2562 พบการระบาดของโรคไหม้ของข้าวในพื้นที่ 12 จังหวัด ได้แก่ จ. ลำพูน ลำปาง แพร่ ตาก มุกดาหาร มหาสารคาม ชัยภูมิ ศรีสะเกษ สุรินทร์ กาฬสินธุ์ สระแก้ว และสงขลา จำนวน 575,837 ไร่ สร้างความเสียหายต่อผลผลิตข้าวเป็นจำนวนมาก (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2562)

วิธีการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยการใช้พันธุ์ข้าวต้านทานเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดการใช้สารเคมีและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่ในปัจจุบันพบว่า มีสายพันธุ์ใหม่ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจาก มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อรา (Jones and Dangl, 2006) พันธุ์ข้าวต้านทานจะสูญเสียความต้านทานภายในเวลาไม่กี่ปีหลังจากแนะนำพันธุ์ให้เกษตรกร (Bonman, 1992; Zeigler et al., 1995; Mekwatanakarn et al., 1999; Zhou et al., 2007; Koizumi, 2008) ทำให้เชื้อโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทยมีความผันแปรและเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม นอกจากนี้ การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา (Mekwatanakarn et al., 2000) และความหลากหลายของสายพันธุ์ข้าวก็เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิด

ความผันแปรของเชื้อราเช่นกัน ดังนั้น ในการศึกษา จึงได้ประเมินความผันแปรของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย ด้วยการทดสอบการก่อโรคบนข้าวชุดทดสอบ (differential varieties) ซึ่งข้อมูลความแปรผันของเชื้อราสาเหตุโรค จะเป็นประโยชน์ต่อการติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรของเชื้อรา และเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานครอบคลุมความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่พบในประเทศไทยได้ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ของข้าว

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ของข้าว ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2562 – 2564 จากแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญในพื้นที่ภาคกลาง ได้แก่ จ. สุพรรณบุรี สิงห์บุรี พระนครศรีอยุธยา ชัยนาท ในพื้นที่ภาคตะวันออก เชียงเหนือ ได้แก่ จ. อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ยโสธร ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ในพื้นที่ภาคใต้ ได้แก่ จ. นครศรีธรรมราช พัทลุง และในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ จ. เชียงราย กำแพงเพชร พิจิตร โดยเก็บใบข้าวที่แสดงอาการไหม้แล้วนำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรค ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2. การจำแนกเชื้อราโรคไหม้ของข้าวด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคที่เก็บจากพื้นที่ต่าง ๆ มาแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting method โดยการตัดชิ้นส่วนของใบข้าวให้มีขนาด 0.5x0.5 ซม. ให้มีส่วนที่แสดงอาการกับส่วนปกติอย่างละครึ่ง แล้วนำไปล้างใน 0.45% sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที จากนั้น นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที จากนั้น ซับชิ้นพืชให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ rice polish agar (RPA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้แสงจากหลอด

ฟลูออเรสเซนส์ 12 ชม. สลับกับความมืด 12 ชม. เป็นเวลา 7 วัน ทำการเตรียมสปอร์แขวนลอยโดยเติมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อลงบนผิวหน้าอาหาร RPA ที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลชุดผิวหน้าอาหารเบา ๆ และดูดสปอร์แขวนลอย 100 ไมโครลิตร นำไปเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) ให้ทั่ว บ่มไว้ 24 ชม. แล้วจึงนำเชื้อราที่เจริญมาตัดปลายเส้นใย (hyphal tip) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และย้ายปลายเส้นใยเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RPA นำเชื้อราที่ได้จากการแยกปลายเส้นใย มาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนี สี โคโลนี และบันทึกลักษณะ สี รูปร่าง และขนาดของโคโลนีเดียว โดยดูภายใต้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

3. การจำแนกสายพันธุ์ (race) ของเชื้อราโรคไหม้ของข้าวบนข้าวชุดทดสอบ

นำเชื้อราโรคไหม้ของข้าว *P. oryzae* จำนวน 80 ไอโซเลท ที่แยกได้จากใบข้าวที่เก็บจากพื้นที่ต่าง ๆ มาเลี้ยงบนอาหาร RPA เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ เป็นเวลา 12 ชม. สลับกับความมืด 12 ชม. จากนั้นใช้ spatula ขูดเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร นำเส้นใยไปไว้ฝังดึ่งหนึ่งของจานเลี้ยงเชื้อ บ่มภายใต้แสงแบล็คไลต์ เป็นเวลา 12 ชม. สลับกับความมืด 12 ชม. เป็นเวลา 2 วัน จากนั้น ล้างสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยเทน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลชุดผิวหน้าอาหาร ปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอยสปอร์ให้ได้ 10^5 สปอร์/มล. นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อแต่ละไอโซเลท ไปปลูกเชื้อโดยการพ่นลงบนข้าวชุดทดสอบ (differential varieties) ที่ใช้จำแนกสายพันธุ์ (race) ของเชื้อรา จำนวน 9 สายพันธุ์ โดยใช้ข้าวที่มีอายุ 21 วัน ข้าวชุดทดสอบที่ใช้ ได้แก่ IRBL7-M, IRBL9-W, IRBLa-A, IRBLb-B, IRBLi-F5, IRBLkh-K3, IRBLt-K59, IRBLta-CP1 และ IRBLsh-S ซึ่งข้าวดังกล่าวในแต่ละสายพันธุ์มียืนต้นต้านทานเดี่ยว (near isogenic

lines; NILs) คือ ยีน *Pi-7(t)*, *Pi9*, *Pi-a*, *Pi-b*, *Pi-i*, *Pi-kh*, *Pi-t*, *Pi-ta* และ *Pi-sh* ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังนำสปอร์แขวนลอยที่ได้จากแต่ละไอโซเลทไปปลูกเชื้อโดยการพ่นลงบนข้าวพันธุ์เปรียบเทียบที่มีลักษณะต้านทาน 1 สายพันธุ์ คือ ข้าวเจ้าหอมนิล และข้าว

ที่มีลักษณะอ่อนแอ 3 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ กข 6 KDML105 และ Sanceltic บันทึกผลการทดลองที่ 7 9 และ 11 วันหลังการปลูกเชื้อ โดยการประเมินระดับความรุนแรงการเกิดโรคไหม้บนข้าวชุดทดสอบ ดังนี้ (Roumen et al., 1997)

ระดับ	อาการ
0	ไม่มีแผลปรากฏ
1	แผลจุดกลมสีน้ำตาลเล็ก ๆ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5 มม. ไม่มีการสร้าง conidia
2	แผลกลมหรือรียาวาวเล็กน้อยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5-1 มม. แผลไม่มีการสร้าง conidia
3	แผลจุดเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1-3 มม. และมีจุดสีเทาตรงกลางแผล
4	แผลจุดเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 3 มม. หรือยาวกว่า แผลเป็นสีเทาและมีขอบแผลสีน้ำตาล
5	แผลสีเทาเกาะกันเป็นกลุ่ม มีขอบแผลสีน้ำตาล เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค
6	แผลลุกลามยาวติดต่อกันเป็นสีเทา ไม่มีขอบแผลที่แน่นอน เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค

จากนั้นนำจำนวนต้นที่มีคะแนนความรุนแรงการเกิดโรคระดับต่าง ๆ มาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรค (disease index) (McMaugh, 2008) โดยใช้สูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (disease index)} = \frac{[(na \times 0) + (nb \times 1) + (nc \times 2) + (nd \times 3) + (ne \times 4) + (nf \times 5) + (ng \times 6)]}{N \times 6} \times 100$$

เมื่อ na = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 0
 nb = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 1
 nc = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 2
 nd = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 3
 ne = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 4
 nf = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 5
 ng = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 6

ทำการประเมินลักษณะต้านทานต่อโรคไหม้แต่ละไอโซเลทในข้าวชุดทดสอบแต่ละสายพันธุ์ตามค่าดัชนีการเกิดโรค ดังนี้ ดัชนีการเกิดโรค 0% เป็นความต้านทานสูง (highly resistant: HR) ดัชนีการเกิดโรค 1-10% เป็นความต้านทาน (resistance: R), ดัชนีการเกิดโรค 11-25% เป็นความต้านทานปานกลาง (moderately resistant: MR), ดัชนีการเกิดโรค 26-50% เป็นความอ่อนแอปานกลาง (moderately susceptible: MS), ดัชนีการเกิดโรค 51-75% เป็นความอ่อนแอ (susceptible: S) และ ดัชนีการเกิดโรค

76-100% เป็นความอ่อนแอสูง (highly susceptible: HS) และนำข้อมูลที่ได้มาจัดจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา

4. การวิเคราะห์การจัดกลุ่มสายพันธุ์ (group of races) ของเชื้อราโรคไหม้ของข้าว

ทำการวิเคราะห์การจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อราโรคไหม้ของข้าวที่เกิดจาก *P. oryzae* โดยใช้วิธี UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic mean) ใช้โปรแกรม Past 4.10 โดยนำ

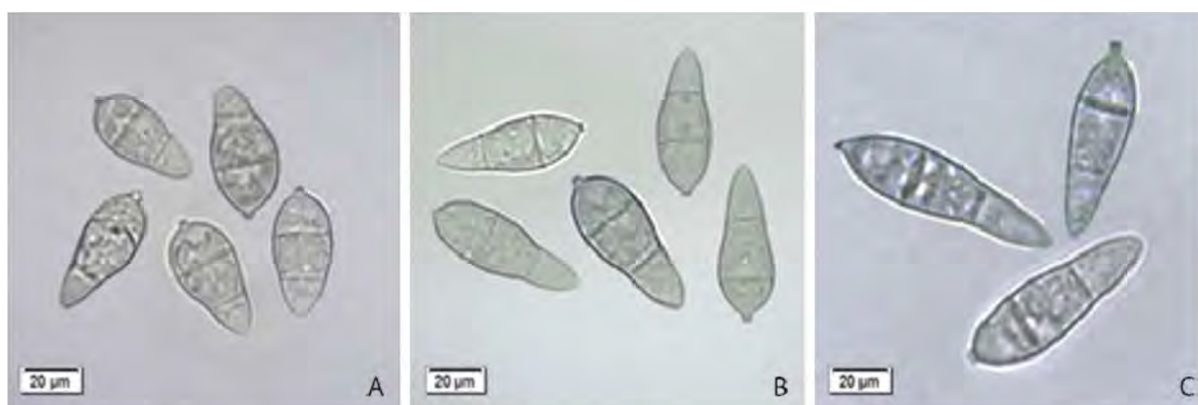


Figure 2 Conidial characteristics of *Pyricularia oryzae*; A: short pyriform conidia, B: pyriform conidia, C: long pyriform conidia

Table 1 Morphological characteristics based groups of *P. oryzae* isolated from different localities

Groups of colony color	Conidial shape	Isolate no.			Province
Group 1: cream color	Type2: pyriform	SSK010117,	UBN010103,	SPB010201,	Si Sa Ket, Ubon
	Type3: long pyriform	NSN010702,	PLK010501,	KPT040202,	Ratchathani, Suphan
		SPB020201,	CNT010802,	CNT010902,	Buri, Nakhon Sawan,
		CNT010102,	CNT010901,	NST010401,	Phitsanulok,
		CNT010403,	PLG010102,	SPB030102,	Kamphaeng Phet, Chai
		CNT010903,	SPB020204,	SPB020402,	Nat, Phatthalung,
		NST010403,	PLG010206,	PLG010207,	Nakhon Si Thammarat,
		PLK010901,	PLK010902,	PCT060601,	Phichit.
		PCT060301,	PLK010801,	PLK030401,	
		PLK040401,	PLK030402,	PCT060202,	
		PCT040401,	SKA010101		
Group 2: grey color	Type1: short pyriform	CRI010103,	CNT010104,	SPB020111,	Chai Nat, Suphan Buri,
	Type2: pyriform	MKM010101,	NST010501,	NST040201,	Maha Sarakham,
		PCT040301,	PLK050502,	KPT050403,	Nakhon Si Thammarat,
		CNT010401,	PLG010101,	NST010405,	Phichit, Phitsanulok,
		CNT010203,	CNT010501,	NST020406,	Kamphaeng Phet,
		PLG010205,	NST020408,	PLG010204,	Phatthalung.
		PCT020101,	PCT020102,	PLK020501,	
		PLK030701, PLK030702,	PLK010201, PLK020901		
Group 3: dark grey color	Type2: pyriform	SBR0105,	CNT010110,	SSK010110,	Sing Buri, Chai Nat, Si
	Type3: long pyriform	UBN010101,	MKM010110,	CNT010201,	Sa Ket, Ubon
		NST010202,	NSN010701,	KPT040204,	Ratchathani, Maha
		PCT040603,	SPB020401,	NST010404,	Sarakham, Nakhon Si
		NST020407,	PLK050501,	PLK050902	Thammarat, Nakhon
					Sawan, Kamphaeng
					Phet, Phichit, Suphan
					Buri, Phitsanulok.
Group 4: black color	Type2: pyriform	NST010201,	PCT040703,	PCT040701,	Nakhon Si Thammarat,
		SPB020302			Phichit, Suphan Buri.
Group 5: white color	Type2: pyriform	CRI010101, SPB020403, NST010402, PCT020201			Chiang Rai, Suphan
					Buri, Nakhon Si
					Thammarat, Phichit.

3. การจำแนกสายพันธุ์ (race) เชื้อราโรคไหม้ของข้าวบนข้าวชุดทดสอบ

จากการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* ที่สุ่มมาจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทยจำนวน 80 ไอโซเลทบนข้าวชุดทดสอบจำนวน 9 สายพันธุ์ พบว่า สามารถจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราได้ 47 สายพันธุ์ (race) ซึ่งมีการกระจายตัวในจังหวัดต่าง ๆ เช่น race 19 ประกอบไปด้วย ไอโซเลท MKM010101, NST010402, PLG010102 และ PLK010801 ที่มาจาก จ. มหาสารคาม นครศรีธรรมราช พัทลุง และพิษณุโลก และสามารถพบเชื้อได้มากกว่า 1 race ในพื้นที่เดียวกัน เช่น ในพื้นที่ จ. สุพรรณบุรี พบ race 17, race 21, race 28, race 1, race 36 และ race 41 โดยปฏิกิริยาการตอบสนองของสายพันธุ์ข้าวชุดทดสอบมีความแตกต่างกัน (Figure 3) แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา มีความผันแปรภายในประชากร ซึ่งสอดคล้องกับ

การรายงานของเสาวลักษณ์ และคณะ (2554) พบว่า เชื้อที่เก็บจากสถานที่ต่าง ๆ เมื่อนำมาทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคไหม้ในข้าวพันธุ์ทดสอบ เชื้อแต่ละสายพันธุ์มีรูปแบบของการก่อให้เกิดโรคต่อพันธุ์ข้าวที่ต่างกัน และสอดคล้องกับการรายงานของพูนศักดิ์ และคณะ (2550) ที่มีการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อโดยปลูกเชื้อลงบนพันธุ์ข้าวชุดทดสอบที่มียืนต้นทานเดียว (Near isogenic line) จำนวน 18 สายพันธุ์ จากเชื้อจำนวนทั้งหมด 2,476 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อได้ 623 สายพันธุ์ เชื้อราสาเหตุโรคไหม้มีความหลากหลาย โดยเชื้อที่มาจากจังหวัดเดียวกันหรือในแหล่งเดียวกันนั้นมีพันธุกรรมที่แตกต่างกัน และยังพบความแตกต่างของขนาดแผลในการก่อให้เกิดโรคบนข้าวชุด NILs ซึ่งเกิดจากสายพันธุ์ของเชื้อที่เข้าทำลายที่แตกต่างกัน

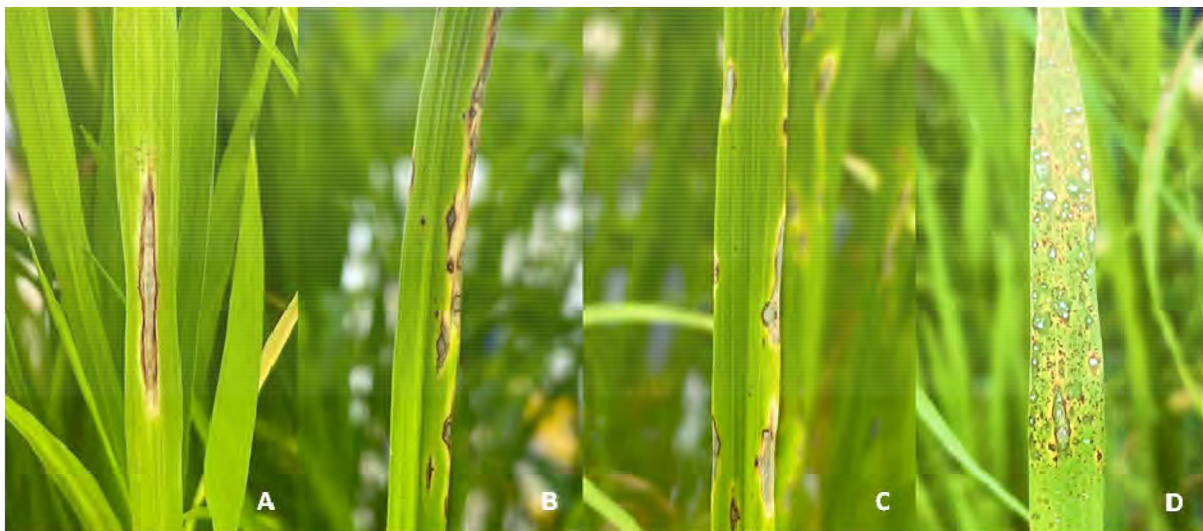


Figure 3 Blast disease symptom at 11 days after inoculation with isolate PLK030701 (race 46) on differential varieties of rice; A: IRBLa-A varieties, B: IRBLi-F5 varieties, C: IRBLt-K59 varieties, D: IRBLta-CP1 varieties

4. การจัดกลุ่มสายพันธุ์ (Physiological races) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว

เมื่อนำข้อมูลค่าดัชนีการเกิดโรคที่ได้จากการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* จำนวน 80 ไอโซเลทบนข้าวชุดทดสอบจำนวน 9 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์และจัดกลุ่ม (Figure 4) สามารถจัดกลุ่มของสายพันธุ์

เชื้อรา *P. oryzae* ได้ 13 กลุ่ม (Table 2) มีค่า cophenetic correlation เท่ากับ 0.80 การใช้ข้อมูลค่าดัชนีการเกิดโรคในการวิเคราะห์การจัดกลุ่มของสายพันธุ์เชื้อรานี้พบว่า กลุ่มที่ 9 ซึ่งประกอบไปด้วย race 20, race 32, race 35, race 44, race 40, race 28, race 31, race 30, race 26,

race 22, race 46, race 45, race 19, race 16 และ race 47 มีความผันแปรสูงที่สุด และพบ race 3 เพียงพื้นที่เดียว และแยกออกจากกลุ่มอื่นอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อที่อยู่ในสายพันธุ์เดียวกันก็ไม่ได้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันทั้งหมด เนื่องจากเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการเข้าทำลายข้าวได้แตกต่างกัน และการจัดกลุ่มเชื้อสายพันธุ์ต่าง ๆ ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อ โดยแต่ละพื้นที่สามารถพบเชื้อรา *P. oryzae* มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่าประชากรเชื้อรามีความผันแปรสูง นอกจากนี้ ยังพบอีกว่า เชื้อที่มาจากพื้นที่ภาคเหนือมีความรุนแรงในการเกิดโรคบนข้าวพันธุ์ทดสอบมากที่สุด ซึ่งสอดคล้อง

กับการรายงานของ นวรัตน์ และนงลักษณ์ (2557) ที่พบว่า ประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่มาจากพื้นที่ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการเกิดโรคที่รุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก และเชื้อที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันจะมีความสามารถในการก่อโรคที่รุนแรงคล้ายกัน ข้อมูลการจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้นี้เป็นประโยชน์สำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ข้าว ทำให้สามารถเลือกตัวแทนของกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อราสำหรับประเมินความต้านทานโรคไหม้ของข้าวได้อย่างเหมาะสม และสามารถปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่ระบาดในพื้นที่ต่าง ๆ ได้อย่างถูกต้อง

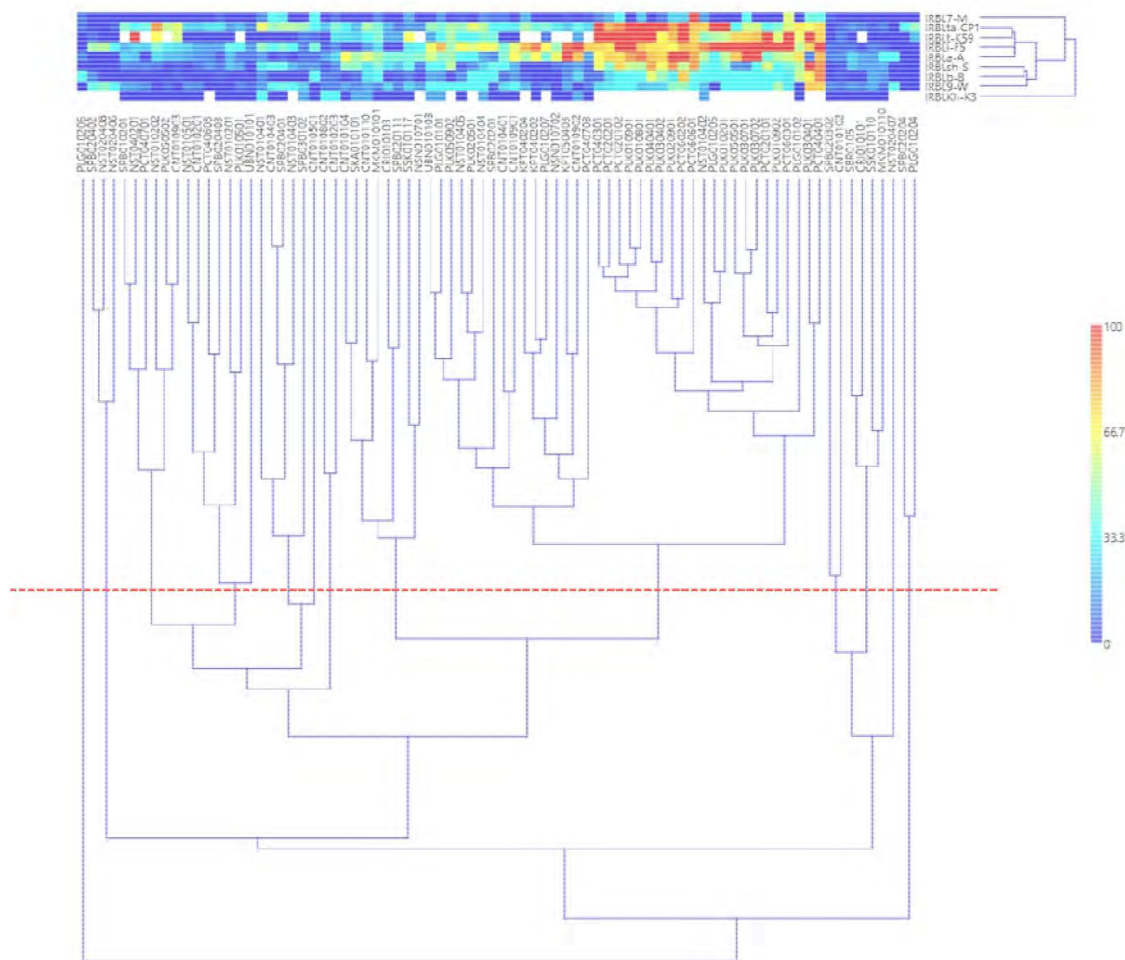


Figure 4 Dendrogram obtained from disease index of blast disease on 9 differential varieties after inoculation with 80 isolates of *Pyricularia oryzae* (47 races)

Table 2 Physiological races of *Pyricularia oryzae* obtained from UPGMA method using disease index evaluation on 9 differential varieties of rice

Race group	Races no. (Isolate no.)
group 1	race 3: PLG010206
group 2	race 41: SPB020402, NST020408, NST020406
group 3	race 21: SPB010201, PCT040701 race 23: NST040201 race 25: NST010202 race 27: PLK050502 race 38: CNT010903
group 4	race 1: UBN010101 race 21: SPB020403, PCT040603, CNT010201, NST010501 race 22: PLK010501, NST010201
group 5	race 33: NST010401 race 34: CNT010403 race 36: SPB020401 race 43: NST010403 race 21: SPB030102
group 6	race 39: CNT010501
group 7	race 29: CNT010802 race 37: CNT010203
group 8	race 15: CNT010104 race 14: SKA010101, CRI010103 race 16: CNT010110 race 19: MKM010101 race 17: SPB020111 race 18: SSK010117 race 26: NSN010701
group 9	race 20: UBN010103, CNT010401 race 32: PLG010101, PCT040301, PLK050902, PCT020201, PLK010201 race 35: NST010405 race 44: PLK020501, PLK050501 race 40: NST010404 race 28: SPB020201 race 31: CNT010901 race 30: KPT040204, KPT040202, PLG010207, NSN010702, CNT010902 race 26: KPT050403 race 22: PCT040703 race 46: PCT040401, PCT020102, PLK030701, PCT060301, PCT060601 race 45: PCT020101, PLK010902, PCT060202, PLK030702, PLK020901, PLK010901 race 19: PLG010102, PLK010801, NST010402, PLK040401, PLK030402 race 16: PLG010205 race 47: PLK030401
group 10	race 1: SPB020302, CNT010102
group 11	race 1: SBR0105, CRI010101, SSK010110 race 24: MKM010110
group 12	race 42: NST020407
group 13	race 21: SPB020204, PLG010204

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการเป็นโรคไหม้ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *P. oryzae* ในพื้นที่การปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทย และสุ่มเชื้อราที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 80 ไอโซเลต เพื่อประเมินการผันแปรของสายพันธุ์สามารถจำแนกเชื้อรา *P. oryzae* ได้ 47 สายพันธุ์ (race) และสามารถจัดกลุ่มของสายพันธุ์เชื้อรา *P. oryzae* ได้ 13 กลุ่ม แสดงให้เห็นว่า ประชากรเชื้อรา *P. oryzae* จากพื้นที่ปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทยมีความผันแปรแตกต่างกัน บางพื้นที่พบเพียงสายพันธุ์เดียว แต่บางพื้นที่พบหลายสายพันธุ์

ดังนั้น ข้อมูลนี้สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้ในประเทศไทยให้เหมาะสมกับสายพันธุ์ของเชื้อราที่ระบาดในแต่ละพื้นที่

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวและสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ภายใต้โครงการ “การพัฒนาระบบ RiceFit” แนะนำพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมสำหรับการ

ปลูกในพื้นที่และฤดูกาล” (รหัสโครงการ P-18-51456) และขอบคุณภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน ที่เอื้อเฟื้อด้านสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2562. สถานการณ์ศัตรูพืชระบาด. แหล่งข้อมูล: <http://www.moac.go.th>. สืบค้น: 15 กรกฎาคม 2566.
- พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และวิภา เมฆวัฒนากาญจน์. 2559. โรคไหม้ของข้าว. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัย อุบลราชธานี, อุบลราชธานี.
- พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ พะยอม โคเบลลี อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ ถนอมจิตร ฤทธิมนตรี กลุขนา เกศ สุวรรณ ชนสิริน กลั่นมณี และสงวน เทียงดีฤทธิ์. 2550. การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์ เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย. วารสารวิชาการข้าว. 1(1): 52-64.
- สมคิด ดิสถาพร. 2532. ขาวนาปราบโรคข้าว. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย. 116 หน้า.
- เสาวลักษณ์ อัคราช ประภา ศรีพิจิตร และธานี ศรีวงศ์ชัย. 2554. การวิเคราะห์จัดกลุ่มความต้านทานเชื้อโรคไหม้ของข้าวพันธุ์ปรับปรุงด้วยเชื้อที่เก็บรวบรวมใหม่. หน้า 581-588. ใน: เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 สาขาพืช. กรุงเทพฯ.
- นวรรตน์ ไจหอม และนงลักษณ์ เกรินทวงศ์. 2557. การประเมินความหลากหลายและการจัดกลุ่มความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย. หน้า 71-78. ใน: เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52: สาขาพืช. 2557. กรุงเทพฯ.
- Apinya, L., T. Sucheela and J. Chatchawan. 2020. Morphological characterization and genetic diversity of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*, from Thailand using ISSR and SRAP markers. Journal of Fungi. 6(1): 38.
- Bonman, J.M. 1992. Blast. pp 14–17. In: Webster, R.K. and P.S. Gunnell (eds). Compendium of Rice Diseases. APS Press, St. Paul. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K.
- Disthaporn, S. 1994. Current rice blast epidemics and their management in Thailand. pp. 333-342. In: R.S. Zeigler, S.A. Leong and P.S. Teng (eds.). Rice Blast Disease.
- Jones, J.D.G. and J.L. Dangl. 2006. The plant immune system. Nature. 444: 323–329.
- Koizumi, S. 2008. Durability of resistance to rice blast disease. pp 1-10. In: Differential Systems for Blast Resistance for Stable Rice Production Environment. Technical Report Vol. 53. Y. Fukuta, C.M. Vera Cruz and N. Kobayashi. (eds.) Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS). Tsukuba, Ibaraki, Japan.
- McMaugh, T. 2008. Guidelines for surveillance for plant pests in Asia and the Pacific. The Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR) Monograph 119, 199 p.
- Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, M. Levy and R.S. Zeigler. 1999. Sexual fertile *Magnaporthe grisea* rice pathogens in Thailand. Plant Disease. 83(10): 939-943.
- Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, M. Levy and R.S. Zeigler. 2000. Pathotype and avirulence gene diversity of *Pyricularia grisea* in Thailand as determined by rice lines near-isogenic for major resistance genes. Plant Disease. 84(1): 60-70.
- Roumen, E., M. Levy and J.L. Notteghem. 1997. Characterization of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA finger printing and pathotype analysis. European Journal of Plant Pathology. 103: 363-371.
- Zeigler, R.S., L.X. Cuoc, R.P. Scott, M.A. Bernardo, D.H. Chen, B. Valent and R.J. Nelson. 1995. The relationship between lineage and virulence in *Pyricularia grisea* in the Philippines. Phytopathology. 85: 443-451.
- Zhou, E., Y. Jia, P. Singh, J.C. Correll and F.N. Lee. 2007. Instability of the *Magnaporthe oryzae* avirulence gene AVR-Pita alters virulence. Fungal Genetics and Biology. 44(10): 1024–1034.

ข้อมูลสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในนิเวศการปลูกข้าว
ในจังหวัดเชียงราย

Physiological Race Profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolated from
the Rice Ecosystem in Chiang Rai Province

ไพเราะ ขวัญงาม^{1/} ลุศร ทุมอะริยะ^{2/} ธิติมา จินตกานนท์^{2/} Dany Thongkham^{1/}
จุฑาทิพย์ วัชรไชยคุปต์^{2/3/} สุจินต์ ภัทรภูวadol^{1/*}
Pairoh Khwanngam^{1/} Luksorn Tumariya^{2/} Thitima Chintaganon^{2/} Dany Thongkham^{1/}
Jutatape Watcharachaiyakup^{2/3/} Sujin Patarapuwadol^{1/*}

Received 13 Jul. 2023/Revised 26 Jul. 2023/Accepted 31 Jul. 2023

ABSTRACT

This study investigated the diversity and distribution of the bacterial leaf blight (BLB) pathogen, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (XOO) population in the diverse rice ecosystem of Chiang Rai province, Thailand. A total 274 XOO isolates were collected during 2016 to 2019 from 18 surveyed districts in the province. Representative isolates of each district were selected and physiological race analysis conducted on 11 near isogenic lines (NILs) with single BLB resistance genes. A total of 47 physiological races of XOO were identified, with the highest number of races found in Phan (26 races) and Chiang Saen (20 races). Rice with the *xa5* resistance gene had broad-spectrum resistance to the pathogen population (76.3%), followed by *Xa7* (62.4%), *Xa21* (33.6%), and *Xa11* (31.4%). Most of the isolates were in race 8 (SSSRSSSSSS) (27.37%), followed by race 27 (SSSRSSSSSR) (12.41%), and race 17 (SSSSSSRRSS) (10.22%). Sixteen races were found to be able to infect NILs with the *xa5* gene, and these isolates were isolated from rice varieties RD6 and KDML 105 in Phan and Chiang Saen districts. The 47 races were grouped into three clusters based on the similarity

Keywords: bacterial leaf blight; *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; physiological race; diversity

^{1/} ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

^{1/} Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{2/} ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม 73140

^{2/} Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{3/} ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

^{3/} Center of Excellence on Agricultural Biotechnology (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author: agrsujp@ku.ac.th

coefficient of the reaction response on rice with BLB resistance genes. The number of isolates and the effective controlling gene in cluster 1, 2, and 3 were 74 (*xa5*), 170 (*xa5*), and 30 (*xa5* and *Xa7*) isolates, respectively. This study provides valuable information on the diversity and distribution of XOO races in Chiang Rai province, which can be used to manage new rice resistant cultivars for a sustainable controlling of BLB.

บทคัดย่อ

ศึกษาความหลากหลายและการกระจายตัวของสายพันธุ์ (physiological race) เชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในข้าวที่เกิดจาก *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (XOO) ใน จ. เชียงราย ซึ่งมีความหลากหลายของนิเวศการปลูกข้าว ดำเนินการสำรวจและแยกเชื้อ XOO ระหว่างปี พ.ศ. 2559 ถึง 2562 คัดเลือกตัวแทนเชื้อจากทุกอำเภอ และบันทึกพันธุ์ข้าวที่พบโรค จากการสำรวจทั้งหมด 18 อำเภอ ได้ตัวแทนเชื้อจำนวน 274 ไอโซเลต แล้วนำไปทดสอบปฏิกิริยาการเกิดโรคกับสายพันธุ์ข้าวคู่แฝดที่มียืนต้านทานเดี่ยวต่อโรคขอบใบแห้ง (near isogenic lines, NILs) จำนวน 11 พันธุ์ เพื่อจำแนก race ของเชื้อ XOO ผลการศึกษาพบว่าสามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อได้จำนวนทั้งสิ้น 47 races โดยอำเภอที่พบว่ามีจำนวน race ของเชื้อมากที่สุด คือ อ. พาน (26 races) รองลงมา คือ อ. เชียงแสน (20 races) นอกจากนี้ยังพบว่า ข้าวที่มียืนต้านทาน *xa5* มีความต้านทานแบบกว้างต่อประชากรเชื้อ XOO (76.3%) รองลงมา ได้แก่ *Xa7* (62.4%) *Xa21* (33.6%) และ *Xa11* (31.4%) ตามลำดับ เชื้อที่พบเป็นกลุ่มใหญ่ที่สุดจัดอยู่ใน race 8 (SSSRSSSSSS) 27.37% รองลงมา คือ race 27

(SSSRSSSSSS) 12.41% และ race17 (SSSSSSRRSS) 10.22% โดยพบว่า เชื้อจำนวน 16 races ที่สามารถเข้าทำลายข้าว NIL ที่มียืน *xa5* ได้ ซึ่งเชื่อดังกล่าวแยกได้จากข้าวพันธุ์ กข6 และข้าวดอกมะลิ105 ที่ อ. พาน และ อ. เชียงแสน เมื่อทำการจัดกลุ่มเชื้อที่พบใน จ. เชียงราย ทั้ง 47 races โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนของปฏิกิริยาตอบสนองบนข้าวที่มียืนต้านทาน สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อได้เป็น 3 กลุ่ม ซึ่งแต่ละกลุ่มมีจำนวนเชื้อและมีการตอบสนองต่อข้าวที่มียืนควบคุมเชื้อในกลุ่ม 1 กลุ่ม 2 และกลุ่ม 3 เป็น 74 (*xa5*) 170 (*xa5*) และ 30 (*xa5* และ *Xa7*) ไอโซเลต ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงภาพรวมของความหลากหลายและการกระจายตัวของ physiological races ต่าง ๆ ของประชากรเชื้อ XOO ที่พบในระบบนิเวศการปลูกข้าวใน จ. เชียงราย ซึ่งข้อมูลนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการบริหารจัดการพันธุ์ข้าวต้านทานโรคที่เหมาะสมกับพื้นที่ จ. เชียงราย เพื่อลดการเข้าทำลายของโรคได้อย่างยั่งยืน

คำสำคัญ: โรคขอบใบแห้งของข้าว; *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; กลุ่มเชื้อตามปฏิกิริยาการเกิดโรคบนข้าวที่มียืนต้านทาน; ความหลากหลาย

บทนำ

โรคขอบใบแห้งเป็นโรคที่สำคัญของข้าว โรคนี้มีสาเหตุจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (XOO) สามารถเข้าทำลายข้าวได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง 10 - 20% หากเกิดโรคระบาดในระดับรุนแรงจะทำให้ผลผลิตข้าวลดลงมากถึง 50% (Mew, 1989) ในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวนอกจากการใช้สารเคมีและใช้วิธีทางเขตกรรมแล้ว การใช้พันธุ์

ด้านทานก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ซึ่งมีความสะดวก ปลอดภัย และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตาม การใช้พันธุ์ข้าวด้านทานยังมีข้อจำกัด เนื่องจากพบว่า ข้าวพันธุ์ด้านทานมักมียีนที่ด้านทานต่อประชากรของเชื้อ XOO เพียงกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งเท่านั้น (Ochiai et al., 2000) การที่เชื้อ XOO มีหลายกลุ่ม (race หรือ physiological race) เนื่องจากเชื้อมีความหลากหลายทางพันธุกรรม ทำให้มีความรุนแรงในการก่อโรคในข้าวแตกต่างกัน (ปริศนา และคณะ, 2558) ปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำให้เชื้อมีหลาย race ได้แก่ การกลายพันธุ์ การรวมกันของยีน และการเคลื่อนย้ายของเชื้อ โดยมีผลมาจากสภาพแวดล้อมและพันธุ์ข้าว (Leach et al., 1995) เช่น การใช้พันธุ์ข้าวที่มียีนด้านทานเพียงยีนเดียว หรือการปลูกข้าวเพียงพันธุ์เดียวเป็นระยะเวลานาน จะทำให้เชื้อเกิดการปรับตัวและเกิดการกลายพันธุ์ได้ ทำให้ข้าวสูญเสียความต้านทานและเกิดโรคได้ (แสงชัย, 2552)

ในประเทศไทยมีการศึกษาความหลากหลายของเชื้อ XOO ในหลายพื้นที่ โดยการศึกษาจะใช้ความแตกต่างของรูปแบบปฏิกิริยาการตอบสนองต่อการเกิดโรคของเชื้อ XOO กับยีนด้านทานในชุดข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (near isogenic lines; NILs) 9 สายพันธุ์ ที่มียีนด้านทาน *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *xa8*, *Xa10*, *xa13*, *Xa14* และ *Xa21* ผลการศึกษาความหลากหลายของเชื้อ XOO จำนวน 90 ไอโซเลท จากพื้นที่เพาะปลูกข้าวในภาคกลางเหนือ และ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า สามารถจัดแบ่งกลุ่มเชื้อได้ 25 กลุ่ม (race) และพบว่า ข้าว NILs ที่มียีนด้านทาน *xa5* สามารถต้านทานต่อเชื้อทุกกลุ่มได้ (แสงชัย, 2552) ต่อมา ปริศนา และคณะ (2558) ได้ศึกษาความหลากหลายในการก่อโรคของเชื้อ XOO จำนวน 60 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่ปลูกข้าว

26 จังหวัด โดยทดสอบกับสายพันธุ์ข้าว NILs จำนวน 11 สายพันธุ์ที่มียีน *Xa1*, *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *xa8*, *Xa10*, *Xa11*, *xa13*, *Xa14* และ *Xa21* สามารถจัดกลุ่มเชื้อได้ 13 race โดยพบว่า ข้าว NIL ที่มียีนด้านทาน *xa5* ยังคงมีความต้านทานต่อเชื้อเกือบทุก race ที่ทำการทดสอบ ยกเว้น race 11 และ 12 ที่เข้าทำลายข้าว NILs ที่มียีน *xa5* ได้

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความหลากหลายของเชื้อจากลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม และศึกษาโครงสร้างประชากรของเชื้อ XOO ในประเทศไทย โดย ธิติมา และคณะ (2565) พบว่า ประชากรเชื้อ XOO ของไทยส่วนใหญ่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับสายพันธุ์เชื้อต่างประเทศอย่างชัดเจน และพบว่า สายพันธุ์เชื้อ XOO จาก จ. สุโขทัย และสายพันธุ์เชื้อ 12 สายพันธุ์ จาก จ. เชียงราย สามารถเข้าทำลายข้าว NIL ที่มียีนด้านทานโรค *xa5* ได้ ซึ่งเชื่อดังกล่าวนี้นี้มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกับเชื้อ XOO สายพันธุ์ ITCCBB0002 จากอินเดีย จ. เชียงราย มีพื้นที่ปลูกข้าวกว่า 1 ล้านไร่ และมีระบบนิเวศการปลูกข้าวที่หลากหลาย รวมทั้งมีการใช้พันธุ์ข้าวปลูกที่หลากหลายด้วย (ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ, 2554) จึงอาจพบความหลากหลายของเชื้อ XOO มากในพื้นที่ของ จ. เชียงราย ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายและการกระจายตัวของสายพันธุ์ (physiological race) ของเชื้อ XOO ในพื้นที่ จ. เชียงราย ด้วยการประเมินปฏิกิริยาการเกิดโรคบนชุดข้าว NILs จำนวน 11 สายพันธุ์ เพื่อจัดทำข้อมูลความหลากหลาย และการกระจายตัวของประชากรเชื้อ XOO ในนิเวศการปลูกข้าวของ จ. เชียงราย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวหรือคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในเขตภาคเหนือให้มีประสิทธิภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ เก็บตัวอย่าง และการแยกเชื้อ XOO

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างข้าวที่ปลูก ช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายน ในปี พ.ศ. 2559 – 2562 จากแหล่งปลูกข้าวใน จ. เชียงราย จำนวน 18 อำเภอ ได้แก่ อ. เมือง พาน เถิง เชียงแสน เวียงชัย เวียงเชียงรุ้ง ขุนตาล พญาเม็งราย เวียงแก่น ดอยหลวง แม่ฟ้าหลวง เวียงป่าเป้า แม่สรวย แม่สาย แม่ลาว แม่ฟ้าหลวง แม่จัน และเชียงของ บันทึก ข้อมูลพันธุ์ข้าว และสถานที่เก็บตัวอย่าง โดยกำหนด พื้นที่สำรวจ และเก็บตัวอย่างแบบสุ่มเป็นจำนวน 10 จุดต่อแปลง โดยเดินในแปลงลักษณะตัวอักษร W ตามวิธีของ Delp et al. (1986)

นำตัวอย่างข้าวที่เก็บมาแยกเชื้อ โดยนำ ใบข้าวที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น และ แอลกอฮอล์ 70% ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงใน หลอดบรรจุน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่า และวางทิ้งไว้ 15 นาที ใช้ลูปแตะน้ำแช่ตัวอย่าง มา cross streak บนอาหาร nutrient agar (NA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 °ซ. เป็นเวลา 2 วัน คัดเลือก โคลนีเดี่ยวที่มีลักษณะคล้ายเชื้อ XOO ซึ่งมี ลักษณะกลมมน สีเหลืองอ่อน ผิวเรียบ มีเมือก ขอบ เรียบเป็นมันวาว แล้วนำโคลนีเดี่ยวมาทำซ้ำ จนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้น เก็บรักษาเชื้อใน กลีเซอรอล 20% (วิชัย, 2549) คัดเลือกตัวแทนเชื้อ จากทุกอำเภอที่พบโรคได้จำนวน 274 ไอโซเลท ทำการตรวจสอบยืนยันเชื้อ XOO ด้วยการศึกษาลักษณะสัณฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YDC (yeast dextrose calcium carbonate agar) ย้อมสีแกรม และตรวจสอบด้วยวิธี Bio-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ XOR-F (5' GCATGACGTCATCGTCCTGT-3') และไพรเมอร์ XOR-R2 (5' CTCGGAGCTATATGCCGTGC-3')

ที่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อ XOO (Adachi and Oku, 2000)

2. การจำแนก physiological race ของเชื้อ XOO จากความรุนแรงในการเกิดโรคกับข้าวสายพันธุ์ คู่แฝด (near-isogenic lines, NILs)

นำตัวแทนเชื้อ XOO จำนวน 274 ไอโซเลท ที่เข้าทำลายข้าวทุกพันธุ์ที่เก็บตัวอย่างจากอำเภอต่าง ๆ มาประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคบนข้าว NILs ที่มียืนด้านทานโรคเพียง 1 ยืน จำนวน 11 พันธุ์ ได้แก่ IRBB1 (*Xa1*) IRBB3 (*Xa3*) IRBB4 (*Xa4*) IRBB5 (*xa5*) IRBB7 (*Xa7*) IRBB8 (*xa8*) IRBB10 (*Xa10*) IRBB11 (*Xa11*) IRBB13 (*xa13*) IRBB14 (*Xa14*) และ IRBB21 (*Xa21*) รวมทั้งข้าวพันธุ์อ่อนแอ ได้แก่ IR24 และ TN1 โดยเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ แบคทีเรีย ที่เลี้ยงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 30 °ซ. ประมาณ 48 ชม. ปรับความเข้มข้นโดยวัดค่า Optical Density (OD) ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.2 (ความเข้มข้นเชื้อประมาณ 10^8 CFU/ml) ทำการปลูกเชื้อด้วยวิธี clipping method (Kauffman et al., 1973) โดยใช้กรรไกร จุ่มเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย ตัดปลายใบข้าวที่มีอายุ 30 วัน โดยตัดต้นละ 3 ใบจากส่วนยอด ประเมินผลหลังปลูกเชื้อแล้ว 10 วัน (ปริศนา และคณะ, 2558) โดยวัดความยาวแผลของใบข้าวที่เกิดจากเชื้อเข้าทำลาย ความยาวแผลน้อยกว่าหรือเท่ากับ 6 ซม. ปฏิกริยาที่เกิดจัดเป็นระดับต้านทาน (resistance; R) ต่อเชื้อ ถ้าความยาวแผลมากกว่า 6 ซม. จัดอยู่ในระดับอ่อนแอ (susceptible; S) ต่อเชื้อ จากนั้น นำผลการประเมินปฏิกริยาบนข้าวสายพันธุ์ คู่แฝดจำนวน 11 พันธุ์ ต่อเชื้อที่ทดสอบมาจัด physiological race หรือ race ของเชื้อตามวิธีของ Noda et al. (2001)

3. การจัดกลุ่มและศึกษาการกระจายตัวของ physiological race เชื้อ XO0

จัดกลุ่ม physiological race โดยการแปลงข้อมูลจากผลการประเมินความยาวแผลที่เกิดจากความรุนแรงของการเกิดโรคกับข้าว NILs ให้เป็นแบบ binary data หากความยาวแผล ≤ 6 ซม. แทนค่าเป็น 1 และความยาวแผล > 6 ซม. แทนค่าเป็น 0 (Tekete et al., 2020) ทำการวิเคราะห์จัดกลุ่มข้อมูลจากการประเมินความต้านทาน และอ่อนแอต่อโรคโดยหาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) ด้วยวิธี Jaccard coefficient ใช้โปรแกรม DARwin6 (version 6.0.21) (Perrier et al., 2003) จากนั้น สร้างแผนผังความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) ตามวิธี neighbor joining (NJ) แสดงการจัดกลุ่มในรูปของ dendrogram โดยใช้โปรแกรม iTOL (<https://itol.embl.de/>) (Letunic and Bork, 2007)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. พันธุ์ข้าวที่แสดงอาการโรค และการแยกเชื้อ XO0

ตัวอย่างโรคขอบใบแห้งในพื้นที่ จ. เชียงราย ที่สำรวจ ปี พ.ศ. 2559 - 2562 จาก 18 อำเภอ ทั้งหมด 745 แปลง พบโรคขอบใบแห้ง 16 อำเภอ จำนวน 637 แปลง มาพบโรคในแปลงข้าวที่ อ. แม่ฟ้าหลวง และ อ. เวียงแก่น โดยแปลงที่สำรวจส่วนใหญ่ในสองอำเภอนี้มีลักษณะการปลูกข้าวเป็นข้าวไร่ และนาขั้นบันได

พันธุ์ข้าวที่พบแสดงอาการโรคขอบใบแห้งมีจำนวน 20 พันธุ์ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ105 กข6 กข10 กข14 กข15 กข49 สันป่าตอง1 ข้าวญี่ปุ่นไรซ์เบอร์รี่ ปทุมธานี1 ข้าวเหนียว หอมนิล พิษณุโลก2 แม่โจ้2 ข้าวกำแพงเพชรแดง เหนียวอุบล เหนียวเขี้ยว

ธัญสิรินทร์ และข้าวเจ้าพื้นเมือง สามารถแยกเชื้อสาเหตุได้จำนวน 5,788 ไอโซเลต (Table 1) ผลการตรวจสอบลักษณะเชื้อทุกไอโซเลต มีลักษณะเหมือนกัน คือ โคโลนิบนอาหาร YDC มีลักษณะกลมมน มันวาว ขอบเรียบ เยิ้ม สีเหลืองฟางขาว ผลการย้อมติดสีแกรม พบว่า ติดสีแดงเป็นแกรมลบ ผลการตรวจด้วยวิธี Bio-PCR ด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับเชื้อ XO0 พบว่า เชื้อแบคทีเรียทุกไอโซเลตที่คัดเลือกสามารถเพิ่มปริมาณขึ้นดีเอ็นเอที่มีขนาด 470 คู่เบส สอดคล้องกับ รายงานของ Adachi and Oku (2000) (Figure 1) จากนั้น คัดเลือกตัวแทนเชื้อ XO0 จากทุกอำเภอที่พบโรค และทุกพันธุ์ข้าวที่สำรวจพบโรค จำนวน 274 ไอโซเลต มาจำแนก race ด้วยการประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคกับข้าว NILs ต่อไป

2. การจำแนก physiological race เชื้อ XO0 จากความรุนแรงในการเกิดโรคกับข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (near-isogenic lines, NILs)

ประเมินรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อ XO0 (Figure 2) จำนวน 274 ไอโซเลต บนชุดข้าว NILs จัดกลุ่มเชื้อได้ 47 race ประชากรเชื้อส่วนใหญ่จัดอยู่ใน race 8 (SSSRSSSSSS) มีจำนวน 75 ไอโซเลต รองลงมา คือ race 27 (SSSRSSSSSR) จำนวน 34 ไอโซเลต และ race 17 (SSSSSSRRSS) จำนวน 28 ไอโซเลต (Table2) โดยเชื้อทุกไอโซเลตสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน คือ IR24 และ TN1 มีความยาวแผลเฉลี่ย 15.8 ซม. และ 18.8 ซม. ตามลำดับ

การกระจายตัวของ race ต่าง ๆ ของเชื้อ XO0 ที่คัดเลือกมาจาก 16 อำเภอของ จ. เชียงราย พบว่า อ. พาน มีการกระจายตัวของกลุ่ม race สูงสุด จำนวน 26 race รองลงมา คือ อ. เชียงแสน มีจำนวน

Table 1 Infected rice varieties and XOO collection from 16 districts in Chiang Rai province, Thailand

Year (Isolates)	District (No. isolates collected)	Rice varieties showing XOO infection
2559 (1,198)	Chiang Sean (181)	RD6, RD14, RD15, RD49, San-pah-tawng 1
	Chiang Khong (83)	RD6, RD15, San-pah-tawng 1, Phitsanulok 2
	Doi Luang (29)	RD6, RD15
	Khun Tan (44)	RD6, RD15, Thunya-sirin
	Mae Chan (78)	RD6, RD10, RD14, Khao Yipun, Riceberry
	Mae Fah Luang (0)	na
	Mae Lao (22)	Khao Yipun
	Mae Sai (68)	RD6, RD14, Pathumthani 1, San-pah-tawng 1
	Mae Suai (62)	RD6, Khao Yipun, San-pah-tawng 1
	Mueang (123)	RD6, RD14, RD49, KDML105, Niaw Ubol, Riceberry
	Pa Daet (38)	RD6, RD14, RD15
	Phan (130)	RD6, RD15, Khao Yipun, Phitsanulok 2, KDML105, San-pah-tawng 1
	Phaya Mengrai (56)	RD6, Riceberry, San-pah-tawng 1
	Thoeng (86)	RD6, RD15, RD41
	Wiang Chai (79)	RD6, RD10, RD14, RD49, Red Glutinous rice, Mae Jo 2, Khao Yipun, Pathumthani 1, Phitsanulok 2
	Wiang Chiang Rung (94)	RD6, RD15, Khao Yipun
	Wiang kaen (0)	na
	Wiang Pa Pao (25)	Khao Yipun
2560 (1,535)	Chiang Sean (113)	RD6, RD15, Phitsanulok 2
	Chiang Khong (45)	RD6, RD15, San-pah-tawng 1
	Doi Luang (21)	RD6, RD15, KDML105
	Khun Tan (39)	RD6
	Mae Chan (104)	RD6, RD15, RD49, KDML105, San-pah-tawng 1, Rice berry, Pathumthani 1, DOA 2
	Mae Fah Luang (0)	na
	Mae Lao (31)	RD6, DOA 2
	Mae Sai (246)	RD6, RD49, San-pah-tawng 1, Pathumthani 1, Mae Jo 2, Phitsanulok 2, KDML105, Mali Dang
	Mae Suai (97)	RD6, RD15, San-pah-tawng 1, Rice berry, Thunya-sirin
	Mueang (105)	RD6, RD10, RD49, Mae Jo 2
	Pa Daet (141)	Niew Keiw Ngoo, RD6, RD15, San-pah-tawng 1, Phitsanulok 2, KDML105
	Phan (237)	RD6, RD15, RD10, Phitsanulok 2, KDML105, DOA 2, Rice berry, Hom Nil
	Phaya Mengrai (72)	Kaow Jao, RD6, RD15, San-pah-tawng 1, KDML105
	Thoeng (94)	RD6, RD15, San-pah-tawng 1
	Wiang Chai (75)	RD6, RD49, DOA 2, Rice berry, KDML105, Mae Jo 2
	Wiang Chiang Rung (81)	RD6, RD15, KDML105, Rice berry
	Wiang kaen (0)	na
	Wiang Pa Pao (34)	RD6, DOA 2,
2561 (2,843)	Chiang Sean (1593)	Pathumthani 1, RD6, RD15, KDML105
	Mae Sai (455)	Pathumthani 1, KDML105, RD6, Hom Nil, San-pah-tawng 1, Rice berry
	Mueang (186)	RD6, KDML105, Rice berry, Phitsanulok 2, Pathumthani 1
	Phan (436)	RD6, RD15, KDML105, DOA 2, San-pah-tawng 1
	Thoeng (173)	Rice berry, RD15, KDML105
2562 (212)	Chiang Sean (108)	KDML105, RD6, RD15, Mae Jo 2
	Mae Sai (20)	RD6
	Phan (84)	RD6, KDML105

na = not found *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

20 race และ อ. แม่สาย มีจำนวน 8 race (Figure 3A; Table 2) ซึ่งความหลากหลายที่พบอาจเนื่องมาจาก ใน อ. พาน มีการปลูกข้าวทั้งข้าวญี่ปุ่นข้าวเหนียว และ ข้าวเจ้าที่มีหลากหลายสายพันธุ์ รวมทั้งเป็นที่ตั้งของ ศูนย์วิจัยข้าวเชียงรายที่มีการทดสอบพันธุ์ข้าวต่าง ๆ อยู่ตลอดเวลา ที่ อ. เชียงแสน เป็นอำเภอที่มีชายแดน เชื่อมต่อกับประเทศลาวและประเทศเมียนมา เป็น ศูนย์รวมกลุ่มชาติพันธุ์ที่หลากหลายซึ่งมีวิถีและพันธุ์ ข้าวปลูกแตกต่างกันในแต่ละชาติพันธุ์ มีข้าวหลากหลาย สายพันธุ์ที่เป็นพันธุ์ท้องถิ่นที่ยังมีการเพาะปลูก อยู่กว่า 36 ชนิดพันธุ์ และมีนิเวศการปลูกข้าวที่ หลากหลาย (ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ, 2554)

จากการทดสอบ พบว่า ข้าวที่มีถิ่นกำเนิดใน *xa5* มีความต้านทานแบบกว้างต่อประชากรเชื้อ XOO ส่วนใหญ่ที่ทำการทดสอบคิดเป็น 76.3% รองลงมา ได้แก่ *Xa7* (62.4%) *Xa21* (33.6%) และ *xa11* (31.4%) (Figure 3C) และข้าวที่มีถิ่น *Xa1* อ่อนแอ ต่อการเข้าทำลายของเชื้อทุกสายพันธุ์ รองลงมา

เป็น *Xa3* และ *Xa10* ที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลาย ของเชื้อ XOO เกือบทุก race (Figure 3C) ซึ่งผล การศึกษาครั้งนี้พบว่า มีจำนวนถึง 16 race คือ race 11 - 21 23 24 25 26 และ 37 ที่สามารถเข้า ทำลายข้าวที่มีถิ่น *xa5* (IRBB5) ได้ (Table2) โดย พบว่า สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ กข6 ขาวดอกมะลิ 105 ที่ อ. พาน และเชียงแสน ซึ่งในอดีตพันธุ์ข้าว ที่มีถิ่นกำเนิดใน *xa5* สามารถต้านทานต่อเชื้อ XOO ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึง ประเทศไทยได้ ดังรายงานโดย Eamchit and Mew (1982); นงรัตน์ (2551) และแสงชัย (2552) จะเห็น ได้ว่า ในปัจจุบันประชากรของเชื้อ XOO ใน จ. เชียงราย จำนวนหลาย race ที่กระจายตัวอยู่ใน สองอำเภอมีการปรับตัวให้สามารถเข้าทำลายใน *xa5* ได้แล้ว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานสายพันธุ์เชื้อที่ พบในประเทศเมียนมาที่ส่วนใหญ่พบว่า เชื้อ XOO มีประสิทธิภาพสูงในการเข้าทำลายข้าวที่มีถิ่น *xa5* (Seint et al., 2008)

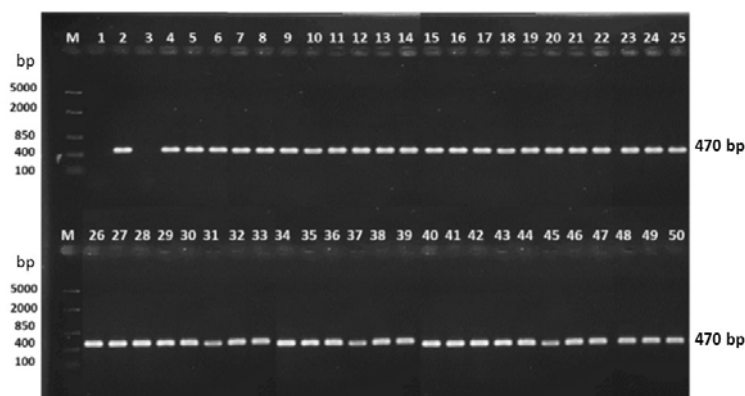


Figure 1 Agarose gel electrophoresis of products from polymerase chain reaction (PCR) performed on DNA of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (XOO) with 16S-23S rDNA specific primers of XOR-F and XOR-R2. lane M = Middle range markers; lane 1 = *X. oryzae* pv. *orizicola* TS8203, lane 2 = positive control (XOO-DOA), lane 3 = non template control and lane 4-50 = amplification products at approximately 470 bp of XOO samples



Figure 2 Examples of physiological race assessment based on XOO (59XOCRMS1-3) interactions with 11 near-isogenic lines (NILs) harboring XOO resistance genes *Xa1*(IRBB1), *Xa3* (IRBB3), *Xa4* (IRBB4), *xa5* (IRBB5), *Xa7* (IRBB7), *xa8* (IRBB8), *Xa10* (IRBB10), *Xa11* (IRBB11), *xa13* (IRBB13), *Xa14*

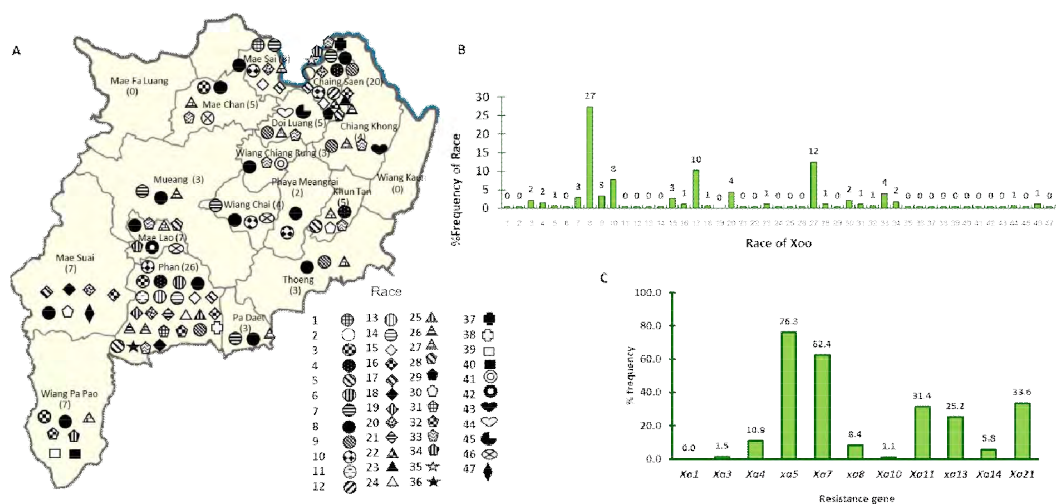


Figure 3 Frequency and distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* races in Chaing Rai and effectiveness of each resistant gene. (A) Distribution mapping of XOO races, (B) The frequency of 47 races, (C) Effectiveness of each resistant gene against XOO

Table 2 Race distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in each district in Chiang Rai province

Race ^{1/}	No. of isolate of each race / district																No. of isolate
	CS	CK	KT	DL	MJ	ML	MS	MSO	MU	PD	PA	PM	TE	WC	WR	WP	
Race 1 (SSRRSSRRRR)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 2 (SSRRSSRRSR)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 3 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	1	6
Race 4 (SSRRSSRRSS)	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	4
Race 5 (SSRRSSRRSS)	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
Race 6 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 7 (SSRRSSRRSS)	2	-	-	-	-	-	3	-	1	1	-	-	-	1	-	-	8
Race 8 (SSRRSSRRSS)	20	-	-	-	3	1	6	4	7	2	6	5	3	6	9	3	75
Race 9 (SSRRSSRRSS)	5	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	9
Race 10 (SSRRSSRRSS)	16	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	2	-	1	-	-	21
Race 11 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 12 (SSRRSSRRSS)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 13 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 14 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 15 (SSRRSSRRSS)	5	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	7
Race 16 (SSRRSSRRSR)	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	3
Race 17 (SSRRSSRRSS)	7	-	-	-	-	-	1	11	-	-	9	-	-	-	-	-	28
Race 18 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	2
Race 19 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 20 (SSRRSSRRSS)	1	-	-	-	-	-	3	2	-	-	6	-	-	-	-	-	12
Race 21 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 22 (SRPSRSRRSR)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 23 (SSRRSSRRSR)	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Race 24 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 25 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 26 (SSRRSSRRRR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 27 (SSRRSSRRSR)	10	5	2	1	4	2	2	-	1	1	2	-	3	-	-	1	34
Race 28 (SSRRSSRRSR)	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Race 29 (SSRRSSRRSR)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 30 (SSRRSSRRSS)	-	-	5	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	6
Race 31 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	3
Race 32 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	2
Race 33 (SSRRSSRRSR)	1	2	1	1	1	1	-	-	-	-	2	-	-	-	2	-	11
Race 34 (SSRRSSRRSS)	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5
Race 35 (SSRRSSRRSS)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 36 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 37 (SSRRSSRRSR)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 38 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
Race 39 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Race 40 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Race 41 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Race 42 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 43 (SSRRSSRRSR)	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 44 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Race 45 (SSRRSSRRSR)	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Race 46 (SRPSRSSRRSR)	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	3
Race 47 (SSRRSSRRSS)	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Total race no. in each district	20	4	5	5	5	7	8	7	3	3	26	2	3	4	3	7	
Total XO isolates in each district	82	9	11	6	10	9	18	21	9	4	51	7	7	9	12	9	

^{1/} Physiological race based on XO interactions with 11 near-isogenic lines (NILs) harboring XO resistance genes *Xa1*, *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *xa8*, *Xa10*, *Xa11*, *xa13*, *Xa14*, and *Xa21*

R = Resistance reaction, S = Susceptible reaction, CK = Chiang Khong, CS = Chiang Saen, DL = Doi Luang, KT = Khun Tan, MJ = Mae Chan, ML = Mae Lao, MS = Mae Sai, MSO = Mae Suai, MU = Mueang, PA = Phan, PD = Pa Daet, PM = Phaya Mengrai, TE = Thoeng, WC = Wiang Chai, WP = Wiang Pa Pao and WR = Wiang Chiang Rung

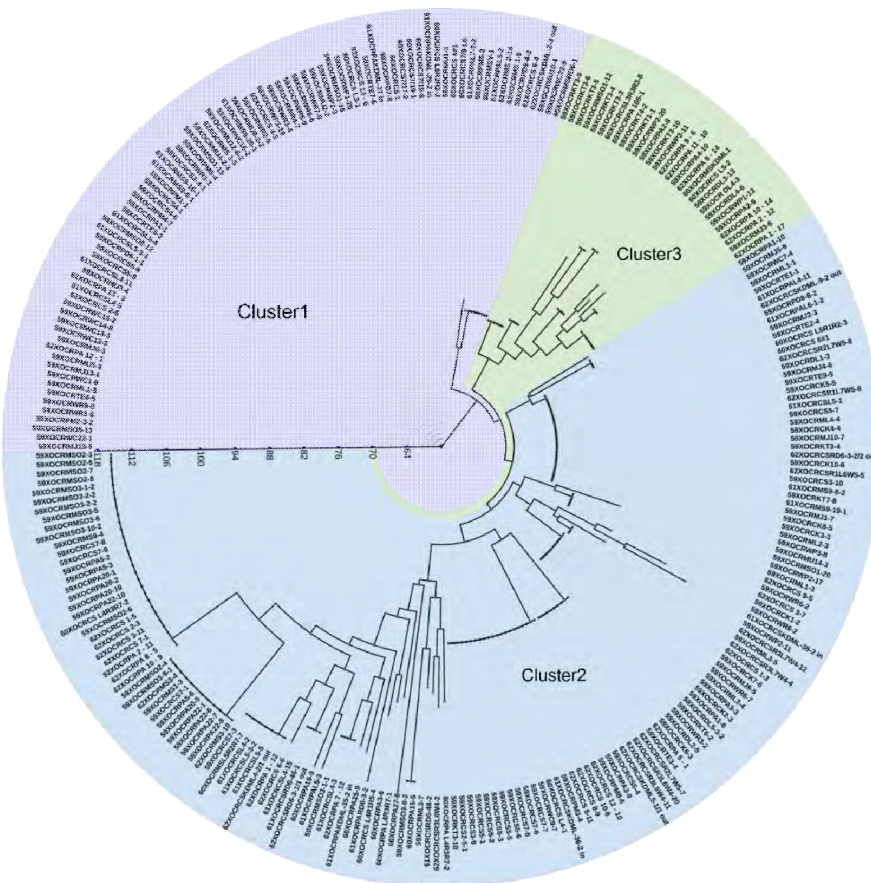


Figure 4 Dendrogram showing the similarity and clustering of 274 isolates of *X. oryzae* pv. *oryzae*, based on their virulence on 11 NILs rice lines. The dendrogram calculated by Jaccard similarity coefficient and clustering with neighbor joining method with DARwin6 program

3. การจัดกลุ่มเชื้อตามปฏิกิริยาความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวต่อเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

เมื่อนำข้อมูลเชื้อ XO0 ทั้ง 274 ไอโซเลทจำนวน 47 race มาวิเคราะห์จัดกลุ่มด้วยโปรแกรม DARwin6 โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) ด้วยวิธี Jaccard coefficient และจัดกลุ่มโดยวิธี NJ จากความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันของปฏิกิริยาตอบสนองบนข้าวที่มียีนต้านทาน (Figure 4) สามารถจัดกลุ่มของ race ได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ (cluster) คือ

เชื้อกลุ่มที่ I ประกอบด้วย race 12 13 14 15 16 17 19 20 21 22 23 24 25 26 29 35 36 37 38 41 42 43 46 และ 47 มีจำนวนเชื้อ 74 ไอโซเลท (27%) โดยเชื้อในกลุ่มนี้มียีนในข้าวที่ต้านทานเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ ยีน *xa13* และเชื้อกลุ่มนี้ส่วนใหญ่สามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีน *xa5* ซึ่งในอดีตมีประสิทธิภาพในการต้านทานเชื้อ XO0 ของไทยได้ดี ในขณะที่เชื้อ XO0 ไอโซเลท 59XOCRWR6-2 59XOCRML3-7 59XOCRCK1-2 59XOCRMLJ5-9 59XOCRML1-1 59XOCRWC7-4 และ 59XOCRMSO1-20 สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าว

ที่มียีน *xa13* ได้ แต่ไม่สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มียีน *xa5* *Xa7* *Xa21* และในการทดสอบนี้ ยังพบเชื้อใน race 21 จำนวน 1 ไอโซเลท ที่แยกได้จากข้าวพันธุ์ กข6 ใน อ. พาน เข้าทำลายข้าวทุกสายพันธุ์

เชื้อกลุ่มที่ II ประกอบด้วย race 1 2 3 4 5 6 7 8 11 18 27 28 30 31 32 33 34 39 40 44 และ 45 มีเชื้อในกลุ่มจำนวน 170 ไอโซเลท (62%) โดยเชื้อในกลุ่มนี้มียีนในข้าวที่ต้านทานเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ ยีน *xa5* ที่สามารถต้านทานเชื้อได้ทุกไอโซเลท

เชื้อกลุ่มที่ III ประกอบด้วย race 9 และ 10 จำนวน 30 ไอโซเลท (11%) โดยเชื้อในกลุ่มนี้มียีนในข้าวที่ต้านทานเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ *xa5* และ *Xa7* ที่ต้านทานเชื้อได้มากกว่า 95% ของประชากรเชื้อในกลุ่มนี้

จากผลการจัดกลุ่มเชื้อใน Figure 4 จะเห็นได้ว่าเชื้อส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มที่ II และ III ซึ่งมียีนในข้าวที่ต้านทานเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ ยีน *xa5* และ *Xa7* สอดคล้องกับการศึกษาของ ธิติมา และคณะ (2565) พบว่า โครงสร้างประชากรเชื้อ XOO ของประเทศไทย มีความสัมพันธ์โดยตรงกับพื้นที่ที่แยกเชื้อได้ แสดงให้เห็นว่าระบบนิเวศที่แตกต่างกันมีผลต่อความหลากหลายของเชื้อ XOO ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมเพื่อต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในอนาคต อาจจำเป็นต้องมีการผนวกยีนต้านทานเข้าด้วยกันเพื่อรองรับความหลากหลายของเชื้อ ดังรายงานของ กนกอรและคณะ (2560) ที่ปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมียีนต้านทานมากกว่าหนึ่งยีนช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านทานโรคขอบใบแห้งในแบบกว้าง (broad spectrum) ได้

สรุปผลการทดลอง

ได้จำแนก physiological race ของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในข้าวที่เกิดจาก *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (XOO) จากพื้นที่ต่าง ๆ ใน จ. เชียงราย ช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2559 – 2562 พบข้าวที่เป็นโรค 16 จาก 18 อำเภอ ยกเว้น อ. เวียงแก่น และแม่ฟ้าหลวง คัดเลือก เชื้อที่พบจำนวน 274 ไอโซเลท สามารถจำแนก race ของเชื้อ XOO ได้ 47 race โดยเชื้อกลุ่มใหญ่จัดอยู่ใน race 8 (SSSRSSSSSS) race 27 (SSSRSSSSSR) และ race 17 (SSSSSSRRSS) ตามลำดับ อำเภอที่พบความหลากหลายของ race มากที่สุด คือ อ. พาน เชียงแสน และแม่สาย และพบว่า ข้าวที่มียีนต้านทาน *xa5* (76.3%) มีความต้านทานแบบกว้างต่อประชากรเชื้อ XOO ส่วนใหญ่ รองลงมา ได้แก่ *Xa7* (62.4%) *Xa21* (33.6%) และ *Xa11* (31.4%) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันของปฏิกิริยาตอบสนองบนข้าวที่มียีนต้านทาน สามารถจัดกลุ่มของเชื้อทั้ง 47 race ที่ได้เป็น 3 กลุ่ม เชื้อกลุ่มที่ I มีจำนวน 74 ไอโซเลท โดยข้าว NIL ที่มียีน *xa13* สามารถต้านทานต่อเชื้อในกลุ่มนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นประชากรเชื้อกลุ่มใหญ่ที่ทำลายข้าวที่มียีน *xa5* ได้ ส่วนเชื้อกลุ่มที่ II มีจำนวนเชื้อ 170 ไอโซเลท โดยข้าว NIL ที่มียีน *xa5* สามารถต้านทานต่อเชื้อในกลุ่มนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเชื้อกลุ่มที่ III มีจำนวน 30 ไอโซเลท ข้าว NIL ที่มียีน *xa5* และ *Xa7* สามารถต้านทานต่อเชื้อในกลุ่มนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าว หรือคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อเชื้อ XOO race ต่าง ๆ ใน

เขตพื้นที่ จ. เชียงราย ซึ่งจะทำให้สามารถควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนโครงการ Real Time deployment of pathogen resistance genes in rice (รหัสโครงการ P-16-50284) ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนจาก สวทช. และ Newton Fund (Grant Ref: BB/N01362X) และ ทุนสนับสนุนการศึกษาของ Miss Dany Thongkham จากบริษัท ข.การช่าง จำกัด (มหาชน)

เอกสารอ้างอิง

กนกอร เยาว์ดำ ประภา ศรีพิจิตต์ ธานี ศรีวงศ์ชัย และ สุภาพร จันทน์บัวทอง. 2560. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานโรคขอบใบแห้งโดยวิธีการผสมกลับและคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 3: 595-604.

อติมา จินตกานนท์ จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์ ภัสสร วรรณพินิจ ภูมิพัฒน์ ทองอยู่ และสุจินต์ ภัทรภูวดล. 2565. ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมและโครงสร้างประชากรของเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวในประเทศไทย. วารสารวิชาการเกษตร. 40(1): 45 - 85

นงรัตน์ นิลพานิชย์. 2551. โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ปรีศนา วงศ์ล้อม จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์ สุจินต์ ภัทรภูวดล และวิชัย โหมสินรัตน์. 2558. การประเมินความหลากหลายในการก่อโรคของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 46: 165-175.

วิชัย โหมสินรัตน์. 2549. โรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย: บทปฏิบัติการ. ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 174 หน้า.

ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ. 2554. ข้าวกับวิถีกับวิถีชีวิตคนเจียงฮาย จากนวัตกรรมข้าวสู่คุณข้าวผลิตภัณฑ์ชุมชน. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย. บริษัท เชียงใหม่ ดอกคิวนวนทาร์ตดีไซน์ จำกัด. 32 หน้า.

แสงชัย ศรีประโคน. 2552. การจำแนกและจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) และการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานในข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงราย (Oryza sativa L.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Adachi, N. and T. Oku. 2000. PCR mediated detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by amplification of the 16S-23S rDNA spacer region sequence. Journal of General Plant Pathology. 66: 303-309.

Delp, B.R., L.J. Stowell and J.J. Marois. 1986. Evaluation of field sampling techniques for estimation of disease incidence. Phytopathology. 76: 1299-1305.

Eamchit, S. and T.W. Mew. 1982. Comparison of virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Thailand and the Philippines. Plant Disease. 66: 556-559.

Kauffman, H.E., A.P.K. Reddy, S.P.Y. Hsieh and S.D. Merca. 1973. An improved technique of evaluation of resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. Plant Disease Report. 57: 537-541.

Leach, J.E., H. Leung, R.J. Nelson and T.W. Mew. 1995. Population biology of *Xanthomonas oryzae* and approaches to its control. Current Opinion in Biotechnology. 6: 298-304.

- Letunic, I. and P. Bork. 2007. Interactive Tree of Life (iTOL): an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Bioinformatics*. 23: 127-128.
- Mew, T.W. 1989. An overview of the world bacterial blight situation, pp. 7-12. In: *Proceedings of the International Workshop on Bacterial Blight of Rice*. The International Rice Research Institute. Manila, Philippines.
- Noda, T., C. Li, H. Ochiai, K. Ise and H. Kaku. 2001. Pathogenic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strain from Yunnan Province, China. *Japan Agricultural Research Quarterly*. 35: 97 -103.
- Ochiai, H., O. Horino and K.H. Miyajima. 2000. Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Strain form Sri Lanka. *Phytopathology*. 90: 415-421.
- Perrier, X., A. Flori and F. Bonnot. 2003. Data analysis methods. pp. 43 – 76. In: Hamon, P., M. Seguin, X. Perrier and J.C. Glaszmann (Eds.), *Genetic diversity of cultivated tropical plants*. Science Publishers. Enfield, Montpellier.
- Seint San, A., M. Matsumoto, M.H. Kaku, T. Goto, N. Furuya and A. Yoshimura. 2008. Evaluation of resistance in rice plants to Myanmar isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 52(1), 17-21.
- Tekete, C., S. Cunnac, H. Doucouré, M. Dembele, I. Keita, S. Sarra, K. Dagno, O. Koita, and V. Verdier. 2020. Characterization of new races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Mali informs resistance gene deployment. *Phytopathology*. 110: 267-277.

น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังต่อการเจริญและผลผลิตอ้อย

Wastewater from Tapioca Starch Manufacturers Affecting Growth and Yield of Sugarcane

จूरีพร เกือบพิมาย^{1/} พิลานี ไถนอมสตัย^{1/} วราภรณ์ อภิวัฒนาภีวัต^{1/} ชนาพร ตระกูลแจะ^{1/} พรพิมล จันทร์ฉาย^{1/}
เอกพงษ์ ธนะวัต^{1/} จิราภรณ์ มีลักษณะ^{1/} อันธิกา บุญแดง^{1/*}
Jureeporn Keabpimai^{1/} Pilanee Vaithanomsat^{1/} Waraporn Apiwatanapiwat^{1/} Chanaporn Trakunjae^{1/}
Phornphimon Janchai^{1/} Eakpong Tanawat^{1/} Jiraporn Meelaksana^{1/} Antika Boondaeng^{1/*}

Received 24 May 2023/Revised 26 Sep. 2023/Accepted 11 Oct. 2023

ABSTRACT

The severe drought crisis in Thailand, which has been intensifying since the end of 2019 continuously resulting in water shortages. Therefore, utilizing industrial wastewater for beneficial purposes has been one of the strategies to address the drought problem. This research aimed to study the impacts of effluent wastewater from tapioca starch manufacturers on the growth and yield of sugarcane, comparing it with natural water and rainfed conditions. The quality of the effluent wastewater from the tapioca starch factory was assessed, revealing that the levels of total suspended solids (TSS), total dissolved solids (TDS), initial biochemical oxygen demand (BOD), and chemical oxygen demand (COD) exceeded the prescribed standard for discharge of tapioca starch effluent wastewater. The growth and biomass of sugarcane var. KhonKaen 3 were examined to investigate the effect of supplying effluent wastewater. The experimental design of the plot followed a randomized complete block design (RBD) with four replications and three treatments. The treatments included: 1) Supplemental water using factory effluent wastewater, 2) Supplemental water using natural water, and 3) No water (rainfed condition serving as the control) weekly measurements of crop water uptake for sugarcane var. KhonKaen3 was recorded and calculated based on crop water requirements handbook. The effect of water supply on sugarcane cultivation revealed no significant differences in growth and sugarcane yields including stem height (257.8-270 cm.),

Keywords: tapioca starch industrial effluent wastewater; nutrient elements; heavy metal; sugarcane; yield components

^{1/} สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

^{1/} Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute (KAPI), Kasetsart University, Bangkok 10900

* Corresponding author: aapakb@ku.ac.th

length of internode (8.38-8.94 cm.), number of internodes/stem (26.83-27.08 internodes/stem), weight/stem (1.85-1.87 kg/stem), and yield/rai (16.96-17.30 tons/rai) between the supply of factory effluent wastewater and natural water supply. The application of rainfed supply resulted in a decrease in both growth and sugarcane yield. However, the percentage of CCS (commercial cane sugar) exhibited no statistically significant difference across the treatments (12.38-13.40 °Brix). After harvesting, the accumulated levels of toxic substances and heavy metals in sugarcane and soil samples remained within the acceptable standard limits. The analysis of soil samples revealed relatively elevated levels of nutrient element accumulation, including potassium, calcium, magnesium, manganese, and iron, which remained below the standard value. Nonetheless, the extent of toxic substance accumulation in the soil is contingent upon the duration of the plantation period. In primary conclusion, the findings suggest that the effluent wastewater from the tapioca starch industry holds promise for plant cultivation during a drought crisis, as it does not exhibit any significant adverse effects on plant yields and soil quality.

บทคัดย่อ

จากวิกฤติภัยแล้งของประเทศไทย ที่เริ่มทวีความรุนแรงตั้งแต่ปลายปี พ.ศ.2562 อย่างต่อเนื่อง

ส่งผลให้น้ำแห้ง ขาดแคลนใช้อุปโภคและบริโภคในทุก ๆ พื้นที่ ดังนั้น การนำน้ำทิ้งจากภาคอุตสาหกรรมมาใช้ประโยชน์ จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาภัยแล้ง งานวิจัยนี้ จึงเป็นการศึกษาผลของการใช้น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตอ้อย เปรียบเทียบกับการใช้น้ำผิวดินจากแหล่งน้ำธรรมชาติ และสภาพน้ำฝนตามธรรมชาติ จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่ามีค่าพารามิเตอร์ที่เกินมาตรฐาน คือ ค่าของแข็งแขวนลอย ค่าสารละลายทั้งหมด ค่าบีโอดี และค่าซีโอดี เมื่อนำน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังไปใช้ในการปลูกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 วางแผนทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 1) ปลูกอ้อยโดยใช้น้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 2) ปลูกอ้อยโดยใช้น้ำผิวดิน 3) ปลูกอ้อยโดยน้ำฝนตามสภาพตามธรรมชาติ (ไม่มีให้น้ำเพิ่ม) มีการให้น้ำทุก 7 วัน ตามคู่มือการปฏิบัติงานด้านการคำนวณการใช้น้ำของพืช พบว่า การใช้น้ำทิ้งและน้ำผิวดิน ส่งผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตอ้อยได้แก่ ความสูง ความยาวปล้อง จำนวนปล้อง/ลำ น้ำหนักสด/ลำอ้อย น้ำหนักสด/ไร่ มีค่าอยู่ในช่วง 257.8-270 ซม. 8.38-8.94 ซม. 26.83-27.08 ปล้อง/ลำ 1.85-1.87 กก./ลำ และ 16.96-17.30 ตัน/ไร่ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่สภาพน้ำตามธรรมชาติต้นอ้อยมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตน้อยที่สุด ส่วนค่าความหวานของอ้อยของทั้ง 3 กรรมวิธีการทดลองนั้นไม่แตกต่างกัน (12.38-13.40 องศาบริกซ์) ผลการวิเคราะห์ค่าสารพิษและโลหะหนักต่าง ๆ ทั้งในอ้อยและในดินหลังการเพาะปลูก พบว่า ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กำหนด ส่วนการสะสมของธาตุอาหารในดินนั้น พบว่า ทั้ง 3 กรรมวิธีการทดลอง ส่งผลให้

มีปริมาณธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส และเหล็กค่อนข้างสูงกว่าก่อนการเพาะปลูก อย่างไรก็ตาม การสะสมของสารตกค้างและโลหะหนักในดิน ขึ้นอยู่กับระยะเวลา จากผลการทดลองพบว่า น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมแป่งมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้ในการเพาะปลูกได้ โดยไม่ก่อให้เกิดสารตกค้างและโลหะหนักในพืชและในดินในระยะเวลาที่ทดลอง

คำสำคัญ: น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมแป่งมันสำปะหลัง; ธาตุอาหาร; โลหะหนัก; อ้อย; องค์ประกอบผลผลิต

บทนำ

จากการศึกษาข้อมูลกรมโรงงานอุตสาหกรรม (2563) ประเทศไทยมีโรงงานแป่งมันสำปะหลัง 122 โรงงาน มีโรงงานที่ไม่สามารถระบายน้ำทิ้งออกสู่แหล่งน้ำได้ (zero discharge) เนื่องจากมีค่าสมบัติของน้ำทิ้งสูงกว่าค่ามาตรฐานโรงงานอุตสาหกรรมจำนวนทั้งหมด 31 โรงงาน แต่ละโรงงานมีกำลังการผลิตแป่งมันสำปะหลังไม่ต่ำกว่า 200 ตัน/วัน และมีกำลังการผลิตรวม 1.7-2.0 ล้านตัน ในกระบวนการผลิตแป่งมันสำปะหลัง 1 ตัน จะเกิดน้ำทิ้งซึ่งมีสารอินทรีย์ปะปน 5.8 ลบ.ม. หลังจากผ่านขั้นตอนของการบำบัดน้ำทิ้งแล้ว จะได้น้ำทิ้งเป็นปริมาณมาก ซึ่งลักษณะสมบัติของน้ำทิ้งในแต่ละโรงงานส่วนใหญ่จะมีค่า BOD (biochemical oxygen demand) และ COD (chemical oxygen demand) ในบางช่วงค่อนข้างสูง (โสภิตา, 2541) เนื่องจากน้ำทิ้งของโรงงานแป่งมันสำปะหลังมีปริมาณมากหลายประเทศจึงได้ให้ความสนใจในการใช้ประโยชน์จากน้ำทิ้งของโรงงาน จากรายงานที่ผ่านมา ได้มีการนำน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตแป่งมันสำปะหลัง

ไปใช้ในการผลิตก๊าซชีวภาพ (Setyawaty et al., 2011) ปุ๋ยอินทรีย์ชนิดน้ำ และปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ (Zhou et al., 2012) เห็นได้ว่าน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตแป่งมันสำปะหลัง สามารถนำมาใช้ส่งเสริมการเจริญของพืชได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า น้ำทิ้งจากโรงงานแป่งมันสำปะหลังยังสามารถนำมาใช้ในการปลูกหญ้าเนเปียร์ด้วย (Iwai et al., 2015; อาทิตย์, 2559)

อ้อย (*Saccharum officinarum* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลเพื่อใช้บริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออก ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อยมากกว่า 10 ล้านไร่ โดยเฉพาะในภาคตะวันออก เฉียงเหนือที่มีพื้นที่ปลูกถึง 42% ของพื้นที่ปลูกอ้อยทั้งหมด แต่อ้อยที่ปลูกมักได้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากสภาพดินขาดความอุดมสมบูรณ์ และอุ้มน้ำต่ำ รวมทั้งปริมาณน้ำฝนที่น้อย และกระจายตัวไม่สม่ำเสมอในแต่ละเดือน (สุดชล และธีรยุทธ, 2558) ในฤดูการผลิตในปี 2563/64 พบว่า มีผลผลิต 66.67 ล้านตัน ซึ่งนับว่าต่ำสุดในรอบ 10 ปี เนื่องจากได้รับผลกระทบจากวิกฤตภัยแล้ง (สำนักข่าวกรมประชาสัมพันธ์, 2565) และการขาดแคลนน้ำมีผลกระทบต่อการประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นอย่างมาก จึงควรได้รับการแก้ไขอย่างเร่งด่วน เช่น การหาแหล่งน้ำทดแทน หรือการใช้ประโยชน์จากน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรม งานวิจัยนี้ จึงศึกษาการนำน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป่งมันสำปะหลังจาก จ. นครราชสีมา มาใช้ในการปลูกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ในระดับแปลงทดลอง โดยเปรียบเทียบระหว่างอ้อยที่ปลูกโดยใช้น้ำทิ้ง ใช้น้ำผิวดิน และใช้น้ำฝนตามสภาพธรรมชาติ เพื่อเป็นแนวทางในการนำน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมแป่งมันมาใช้ประโยชน์ในภาคการเกษตรในช่วงฤดูแล้ง

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกโรงงานแป่งมันสำปะหลังใน จ. นครราชสีมา ที่ดำเนินมาตรการไม่ระบายน้ำทิ้ง ออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ เพื่อเป็นตัวแทนของ โรงงานแป่งมันสำปะหลังสำหรับศึกษาการนำน้ำทิ้ง มาใช้ในการเพาะปลูกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ทำแปลง ทดลองในพื้นที่ปลูกอ้อย จ. นครราชสีมา วางแผน การทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ มีการให้น้ำอ้อย ที่ปลูก 3 กรรมวิธี ทำการทดลองกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 (T1) ใช้น้ำทิ้งจากโรงงาน (น้ำบ่อ สุดท้ายที่ผ่านการบำบัดแล้ว)

กรรมวิธีที่ 2 (T2) ใช้น้ำผิวดิน (จากบ่อเก็บน้ำ ธรรมชาติ)

กรรมวิธีที่ 3 (T3) ใช้น้ำฝนตามสภาพตาม ธรรมชาติ (ไม่มีให้น้ำเพิ่ม)

การปลูกและการดูแลรักษา

เตรียมพื้นที่ปลูกอ้อยด้วยการไถตะ (ผาน 3) และไถแปร (ผาน 7) ให้ดินร่วนซุยอีก 1-2 ครั้ง จากนั้นยกร่องแบ่งเป็นแปลงย่อยจำนวน 12 แปลงย่อย แต่ละแปลงย่อยมีขนาดกว้าง 9 เมตร และยาว 7 เมตร เริ่มปลูกอ้อยในเดือนกุมภาพันธ์ 2564 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ 2565 โดยปลูกจำนวน 6 แถว ใช้ ระยะห่างระหว่างแถว 1.5 ม. และระหว่างต้น 0.5 ม. ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ซึ่งมีลักษณะเนื้อดินเป็น

ดินร่วนปนทราย มีค่าวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักอยู่ในเกณฑ์ปานกลาง (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ใส่ ปุ๋ย N-P-K จำนวน 12-6-6 กก./ไร่ แบ่งใส่จำนวน สองครั้ง ครั้งแรกเมื่ออายุ 1 เดือนหลังปลูก โดยใส่ ปุ๋ย 46-0-0 อัตรา 7.8 กก./ไร่ ปุ๋ย 16-20-0 อัตรา 30 กก./ไร่ และปุ๋ย 0-0-60 จำนวน 10 กก./ไร่ ครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 3 เดือนหลังปลูก โดยใส่ปุ๋ย 46-0-0 อัตรา 7.8 กก./ไร่

ทำการให้น้ำอ้อยที่ปลูกแบบน้ำหยดตาม วิธีการคำนวณตามแบบจำลองจากคู่มือการ ปฏิบัติงานด้านการคำนวณการใช้น้ำของพืช (กรม ชลประทาน, 2554) วางผังหัวจ่ายน้ำของระบบน้ำ หยดออกแบบได้ตามความเหมาะสมของไร่อ้อย โดยใช้ระบบการปั้มน้ำผ่านท่อที่มีตัวกรองตะกอนและ ส่งต่อไปยังระบบน้ำหยด แบ่งให้น้ำทุก 7 วัน โดย พิจารณาจากปริมาณน้ำฝนร่วมด้วย ในเดือนแรก ให้น้ำทุกกรรมวิธีการทดลอง เพื่อให้พืชตั้งตัวได้ ใน เดือนที่ไม่มีฝนตก ให้น้ำตามปริมาณที่คำนวณได้ (Table 1) ในเดือนที่ปริมาณน้ำฝนน้อยกว่า 150 มม. ให้น้ำ 50% ของปริมาณน้ำที่พืชต้องการทั้งหมด และ ในเดือนที่ปริมาณน้ำฝนมากกว่า 150 มม. ไม่ต้องให้น้ำ

การคำนวณหาการใช้น้ำของพืชจะเปรียบ เทียบกับปริมาณการใช้น้ำพืชอ้างอิง ดังนั้น การหา ค่าการใช้น้ำของพืชที่ต้องการทราบ (ET) หาได้จาก สูตร ดังต่อไปนี้

$$ET_c = K_c \times ET_p$$

เมื่อ ET_c คือ ค่าปริมาณการใช้น้ำของพืช (มม./วัน)

K_c คือ ค่าสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของพืช (Crop coefficient)

ET_p คือ ค่าปริมาณการใช้น้ำของพืชอ้างอิง (มม./วัน)

Table 1 Crop water requirement and summary of water quantity supplied for sugarcane throughout the study period in Nakhon Ratchasima province

Data	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Total
ETo Pen-Mon	4.05	4.76	5.11	4.74	4.47	4.35	4.09	3.83	3.82	3.55	-
Kc	0.65	0.86	1.13	1.35	1.56	1.29	1.20	0.93	0.63	0.52	-
ETc (mm/day)	2.63	4.09	5.77	6.40	6.97	5.61	4.91	3.56	2.41	1.85	-
ETc (mm/month)	73.7	126.9	173.2	198.4	209.2	173.9	152.1	106.9	74.6	55.4	1,344.3
Monthly rainfall for 2021	13.2	19.6	229.9	88.2	37.2	201.9	79.2	267.5	242.2	0.0	1,178.9
Water supply for sugarcane (m ³ /210 m ² /month)											
-Effluent wastewater (m ³)	15.46	34.10	-	17.55	17.55	-	11.8	-	-	23.64	120.10
-Natural water (m ³)	15.46	34.10	-	17.55	17.55	-	11.8	-	-	23.64	120.10
-Control (rainfed) (m ³)	15.46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.46

Note: During the first month of cultivation, natural water was provided for all treatments. If the monthly rainfall is less than 150 mm, the water was supplied at 50% of the water requirement. Conversely, if the monthly rainfall exceeds 150 mm, no additional water was supplied

การเก็บข้อมูล

เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานแปรงมันสำปะหลัง ตามวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ของกรมควบคุมมลพิษ (2548) และเก็บตัวอย่าง น้ำผิวดินจากบ่อเก็บน้ำธรรมชาติตามวิธีของสำนัก จัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ (2553) นำ ตัวอย่างน้ำผิวดินและน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ไปวิเคราะห์คุณภาพน้ำ โดยมีพารามิเตอร์ตาม เกณฑ์ตัวชี้วัดของ The Food and Agriculture Organization (FAO) (Ayers and Westcot, 1985) และประกาศ กระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง กำหนด มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากโรงงาน (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2560) ผลของคุณภาพน้ำ ผิวดินและน้ำทิ้งที่ใช้ในการทดลองแสดงใน Table 2

เก็บตัวอย่างดินก่อนปลูก และหลังเก็บ เกี่ยวอ้อย ตามวิธีของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการ พัฒนาที่ดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2547) นำไปวิเคราะห์ ปริมาณธาตุอาหาร สมบัติทางเคมีของดิน วิเคราะห์ สารตกค้างและโลหะหนักในดินตามประกาศ คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ เรื่อง กำหนด มาตรฐานคุณภาพดิน พ.ศ. 2564 (มาตรฐานคุณภาพ

ดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการค้าขาย เกษตรกรรมและ กิจการอื่น ๆ) และระดับเกณฑ์พื้นฐานของการ ปนเปื้อนของโลหะหนักในดินประเทศไทย (กรม วิชาการเกษตร, 2550)

เก็บข้อมูลอ้อยโดยสุ่มเก็บอ้อยในแต่ละ แปลงย่อยจากพื้นที่เก็บข้อมูล 6x5 ม. แปลงละ 20 กอ รวม 80 กอ ในแต่ละกรรมวิธีทดลอง โดยที่อายุ 1 2 4 6 9 และ 12 เดือน เก็บข้อมูลความสูงอ้อย และที่อายุ 12 เดือน เก็บข้อมูลด้านผลผลิต ได้แก่ จำนวนลำ/ไร่ ความยาวปล้อง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลางลำ จำนวนปล้อง/ลำ น้ำหนักสด/ลำอ้อย น้ำหนักสดอ้อย/ไร่ และค่าความหวานของอ้อย (CCS) วิเคราะห์สารตกค้างในอ้อยหลังเก็บเกี่ยวตาม มาตรฐานตามคำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ (กรมวิชาการเกษตร, 2548) และ Commission of the European Communities (CEC, 1993) วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

Table 2 Physicochemical and microbiological characteristics of factory effluent wastewater and natural water

Parameter	Natural water	Factory effluent wastewater	Standard
pH	7.92	8.67	6.5-8.4*
Electrical conductivity (dS/m)	0.24	3.91	0-3**
Total suspended solids (mg/L)	2	214	<50**
Total dissolved solids (mg/L)	150	2,565	<2,000*
BOD ₅ (mg/L)	<2	119	<20**
COD (mg/L)	22	464	<120**
Carbonate (mg/L as CaCO ₃)	<1	3.2	0-1*
Bicarbonate (mg/L as CaCO ₃)	2.75	21.21	0-10*
Chloride (mg/L)	2.93	6.77	0-30*
Sulfate (mg/L)	0.21	1.17	0-20*
Cyanide (mg/L)	<0.003	0.012	<0.2**
Total phosphorus (mg/L)	<0.01	0.35	-
Phosphate-phosphorus (mg/L)	<0.03	1.063	-
Ammonia-nitrogen (mg/L)	<0.05	7.33	-
Nitrate-nitrogen (mg/L)	0.13	8.667	-
Total nitrogen (mg/L)	9.2	63.33	-
Arsenic (mg/L)	<0.0003	<0.0003	<0.25**
Boron (mg/L)	0.012	0.182	0-2*
Cadmium (mg/L)	<0.003	<0.003	< 0.03**
Calcium (mg/L)	0.78	0.79	0-20*
Chromium (mg/L)	0.001	<0.001	-
Copper (mg/L)	0.005	0.006	<2.0**
Cobalt (mg/L)	<0.003	0.004	-
Total iron (mg/L)	0.16	0.197	-
Lead (mg/L)	<0.0005	<0.005	<0.2**
Magnesium (mg/L)	0.62	4.38	0-5*
Manganese (mg/L)	0.05	0.112	<5.0**
Nickel (mg/L)	<0.004	0.01	<1.0**
Sodium (mg/L)	4.06	7.52	0-40*
Mercury (mg/L)	<0.0005	<0.0005	<0.005**
Zinc (mg/L)	0.009	0.042	<5.0**
Potassium (mg/L)	28.9	485.33	-
Sodium absorption ratio (mg/L)	1.38	4.69	0-15*

* Ayers and Westcot (1985)

** Ministry of Industry (2017)

ผลการทดลองและวิจารณ์

คุณภาพน้ำทิ้งที่ใช้ในการศึกษา

ผลการวิเคราะห์น้ำทิ้งจากโรงงานแป่งมันสำปะหลังใน จ. นครราชสีมา พบว่า มีค่าความนำไฟฟ้า (electrical conductivity, dS/m) ค่าของแข็งแขวนลอย (total suspended solids, TSS) ค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total dissolved solid, TDS) ค่า BOD และ COD เกินค่ามาตรฐานตามประกาศของกระทรวงอุตสาหกรรม (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2560) การที่ค่าดังกล่าวเกินมาตรฐานนั้น อาจเนื่องมาจากน้ำทิ้งของโรงงานส่วนใหญ่เป็นน้ำทิ้งจากการล้างหัวมันสำปะหลัง กระบวนการผลิต และการล้างเครื่องมือ จึงทำให้ค่าดังกล่าวค่อนข้างสูง ส่วนค่าแร่ธาตุและโลหะต่าง ๆ ยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ได้แก่ สังกะสี สารหนู ทองแดง โปรท แคดเมียม ตะกั่ว นิกเกิล และแมงกานีส ส่วนค่าวิเคราะห์น้ำ

ผิวดินจากแหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่า มีปริมาณแร่ธาตุและโลหะต่าง ๆ ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ในน้ำทิ้งจะมีแร่ธาตุและโลหะหนักต่าง ๆ ไม่เกินมาตรฐาน การนำน้ำทิ้งไปใช้ในการเพาะปลูก จำเป็นต้องมีการศึกษาถึงผลกระทบในระยะยาวด้วย

การเจริญเติบโตของอ้อย

ผลการเจริญเติบโตของอ้อยในแปลงปลูกทดสอบที่อายุ 1 2 4 6 9 และ 12 เดือน โดยวัดจากระดับผิวดินถึงจุดคอใบ พบว่า อ้อยมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้น โดยการใช้ น้ำทิ้ง น้ำผิวดิน และสภาพน้ำฝนตามธรรมชาติ มีผลให้ความสูงอ้อยทุกช่วงอายุหลังปลูก แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3, Figure 1) เมื่ออายุ 12 เดือนหลังการปลูก การให้น้ำกับอ้อย



Figure 1 Botanic characteristic of sugarcane KhonKaen3 at 12 months based on factory effluent wastewater supply (a), natural water supply (b), and rainfed supply (c)

Table 3 Stem height of sugarcane at 1, 2, 4, 6, 9 and 12 months after planting

Treatment	Stem height (cm)					
	1 month	2 months	4 months	6 months	9 months	12 months
Effluent wastewater	15.08 a ^{1/}	23.04 b	51.24 a	132.65 a	252.75 a	270.12 a
Natural water supplies	15.53 a	26.19 a	52.95 a	123.75 a	237.60 a	257.75 a
Control (rainfed)	12.61 b	18.42 c	20.48 b	78.50 b	171.68 b	185.28 b

^{1/} Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

ทั้งการใช้น้ำทิ้งและการให้น้ำผิวดินส่งผลต่อการเติบโตของอ้อยดีกว่าการไม่ให้น้ำ (สภาพน้ำฝนตามธรรมชาติ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการให้น้ำทิ้งส่งผลให้อ้อยมีความสูงมากที่สุด 270 ซม. ขณะที่สภาพน้ำฝนตามธรรมชาติมีผลให้ความสูงน้อยที่สุด 185.28 ซม.

องค์ประกอบผลผลิตของอ้อย

การใช้น้ำทิ้ง น้ำผิวดิน และสภาพน้ำฝนตามธรรมชาติส่งผลให้จำนวนลำต่อไร่ของอ้อยที่อายุ 12 เดือนหลังปลูก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 4) การใช้น้ำทิ้งมีผลให้จำนวนลำต่อไร่มากที่สุด 12,855 ลำ/ไร่ ขณะที่สภาพน้ำฝนตามธรรมชาติ อ้อยมีจำนวนลำต่อไร่น้อยที่สุด 8,906.7 ลำ/ไร่ และการใช้น้ำทิ้งส่งผลให้ความยาวปล้องจำนวนปล้องต่อลำ น้ำหนักสดต่อลำ และน้ำหนักสดต่อไร่อ้อย 8.94 ซม. 26.83 ปล้อง/ลำ 1.87 กก./ลำ และ 16.94 ตัน/ไร่ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้น้ำผิวดิน แต่แตกต่างกับสภาพน้ำฝนตามธรรมชาติ ที่ทำให้ผลผลิตดังกล่าวน้อยที่สุด 7.53 ซม. 24.13 ปล้อง/ลำ 1.09 กก./ลำ และ 6.71 ตัน/ไร่ ตามลำดับ ในขณะที่เส้นผ่านศูนย์กลางลำและเปอร์เซ็นต์ความหวานของอ้อยจากการทดลองทั้ง 3 กรรมวิธีการทดลองไม่แตกต่างกัน โดยเส้นผ่านศูนย์กลางลำอยู่ในช่วง 2.83-2.93 ซม. และความหวานของอ้อยอยู่ในช่วง 12.38-13.40% จากกรรมวิธีการทดลองที่ใช้น้ำฝนตามสภาพธรรมชาติ เห็นได้ว่า ให้ผลผลิตต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้น้ำทิ้งและน้ำผิวดิน เนื่องจาก อ้อยเป็นพืชที่ต้องการน้ำในการเจริญค่อนข้างมาก ตั้งแต่ระยะงอกจนถึงระยะสุกแก่ (ประเสริฐ, 2542) ดังนั้นถ้าอ้อยขาดน้ำจะส่งผลให้อ้อยชะงักการเจริญเติบโตหรือเจริญเติบโตช้า ให้ผลผลิตต่ำ (เมธา และคณะ, 2536)

Table 4 Stem height, number of the stem, length of internode, stem diameter, number of internodes, weight and yield of sugarcane production under different water supply

Treatment	Stem height	Stem/rai	Length of internode	Stem diameter	Number of internodes/stem	Weight/ stem	Yield/ rai	CCS
	(cm)	(number)	(cm)	(cm)	(internode)	(kg)	(ton)	(%)
Effluent wastewater	270.12 a ^{1/}	12,855 a	8.94 a	2.93 a	26.83 a	1.87 a	16.94 a	13.01 a
Natural water supplies	257.75 a	10,133 b	8.38 a	2.93 a	27.08 a	1.85 a	17.30 a	13.40 a
Control (rainfed)	185.28 b	8,907 b	7.53 b	2.83 a	24.13 b	1.09 b	6.71 b	12.38 a

^{1/} Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

ผลการวิเคราะห์สารตกค้างในอ้อยหลังการเก็บเกี่ยว

จากผลการวิเคราะห์สารตกค้างในลำต้นและใบอ้อย พบว่า การใช้น้ำทิ้งจากโรงงาน น้ำผิวดิน และสภาพน้ำฝนตามธรรมชาติ ส่งผลให้มีปริมาณธาตุหลัก (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม) ธาตุอาหารรอง (แคลเซียม และแมกนีเซียม) และ

จุลธาตุ (สังกะสี ทองแดง แมงกานีส) สะสมในส่วนต่าง ๆ ของอ้อยเพียงเล็กน้อย ยกเว้นธาตุเหล็ก ที่พบการสะสมในลำต้นอ้อยจากการทดลองที่ใช้น้ำผิวดิน (34.29 มก./กก.) และในใบอ้อยจากทุกกรรมวิธีการทดลอง (27.18 31.79 และ 22.39 มก./กก.) (Table 5) ซึ่งมีปริมาณเหล็กเกินค่ามาตรฐาน Commission of the European Communities

(CEC, 1993) โดยพบปริมาณเหล็กที่มีอยู่ในน้ำทิ้งและน้ำผิวดิน 0.197 และ 0.16 มก./ล. ซึ่งปริมาณน้ำทิ้งหมดที่ใช้ตลอดการทดลองเฉลี่ย 98.84 ลบ.ม. ต่อพื้นที่การทดลอง ดังนั้น ปริมาณเหล็กทั้งหมดที่มีในน้ำทิ้งและน้ำผิวดิน 19,471.48 และ 15,814.4 มก./ล. ตามลำดับ รวมทั้งอาจมีการละลายของแร่ธาตุในดินให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ได้ ส่งผลให้มีการสะสมของเหล็กในลำต้นอ้อยและใบเกินค่ามาตรฐาน (Table 5) เช่นเดียวกับกรรมวิธีการทดลองที่ใช้น้ำฝนสภาพตามธรรมชาติ ที่มีการสะสมของปริมาณเหล็กในใบค่อนข้างสูงเช่นกัน เนื่องจากพืชสามารถดูดซับโลหะหนักไปสะสมในส่วนต่าง ๆ ของ

พืชได้ (เบญจกรณ์ และจิรวิรุ, 2559) อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ ไม่มีการใช้สารเคมีใด ๆ แต่มีการใช้ปุ๋ยเคมี น้ำทิ้งจากโรงงาน และน้ำผิวดินจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งปริมาณแร่ธาตุที่พบสะสมในอ้อยอาจมีสาเหตุมาจากแร่ธาตุในน้ำที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งปุ๋ยเคมีที่ใช้ ทำให้เกิดการสะสมในดินพืชดูดซึมและเกิดการสะสมไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช ส่วนปริมาณโลหะหนักและสารพิษ ได้แก่ สารหนู ไซยาไนด์ แคดเมียม โครเมียม ตะกั่ว และปรอทพบว่า ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดในทุกกรรมวิธีการทดลอง

Table 5 Nutrient element accumulation, level of toxic substances and heavy metals in sugarcane stem and sugarcane green leaves after harvesting

Parameter	Sugarcane stem			Sugarcane green leaves			Standard value
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	
Nitrogen (%)	0.10	0.10	0.10	0.30	0.30	0.40	-
Phosphorus (P ₂ O ₅) (%)	0.00	0.00	0.20	0.20	0.40	0.10	-
Potassium (%)	0.31	0.28	0.27	0.68	0.61	0.71	-
Calcium (%)	0.06	0.07	0.06	0.11	0.14	0.12	-
Magnesium (%)	0.03	0.03	0.03	0.05	0.04	0.05	-
Zinc (mg/kg)	13.73	14.35	11.2	19.51	15.56	17.57	<150*
Copper (mg/kg)	13.5	11.17	7.23	14.84	10.6	7.46	<20*
Iron (mg/kg)	9.94	34.29	14.47	27.18	31.79	22.39	<20*
Manganese (mg/kg)	8.33	7.9	7.51	11.54	29.06	21.08	-
Cobalt (mg/kg)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-
Nickel (mg/kg)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-
Cyanide (mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-
Arsenic (mg/kg)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<50**
Cadmium (mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<0.2*
Chromium (mg/kg)	2.28	<0.15	<0.15	0.21	0.366	<0.15	-
Lead (mg/kg)	ND	ND	ND	ND	<0.075	ND	<0.2*
Mercury (mg/kg)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-

* Commission of the European Communities (1993)

** Department of Agriculture (2005)

Note: T1= Effluent wastewater (m³), T2= Natural water supplies, T3= Control (rain fed)

ND = Not detected

ธาตุอาหารในดินก่อนและหลังการปลูก

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในดินหลังปลูกนั้น พบว่า ดินที่ใช้น้ำทิ้ง ค่า pH ของดินเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับดินที่ใช้น้ำผิวดิน และดินที่ใช้น้ำฝนตามสภาพธรรมชาติ (Table 6) เนื่องจากในน้ำทิ้งนั้น มีค่าไบคาร์บอเนตและคาร์บอเนตค่อนข้างสูง (3.20 และ 21.21 มก./ล. ตามลำดับ) ซึ่งทั้งไบคาร์บอเนตและคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบหนึ่งของความเป็นด่างในน้ำธรรมชาติ จึงทำให้ค่า pH ของน้ำทิ้งค่อนข้างสูง (pH 8.67) ส่งผลให้ค่า pH ของดินที่ใช้น้ำทิ้งมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีการทดลองอื่น ๆ ส่วนค่า BOD และ COD นั้นสูงกว่าค่ามาตรฐานเล็กน้อย ซึ่งค่า BOD บ่งบอกถึงปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายอินทรีย์ หากค่า BOD สูง แสดงว่ามีความต้องการออกซิเจนสูง นั่นคือน้ำสกปรกมาก ส่วนค่า COD บ่งบอกถึงปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในปฏิกิริยาออกซิเดชันทางเคมีของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในน้ำ โดยเป็นการประมาณปริมาณทั้งหมดของสารออกซิไดซ์ในน้ำ รวมทั้งสารประกอบที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพและไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ค่า COD สูงบ่งชี้ถึงมลพิษทางอินทรีย์ในปริมาณที่มากขึ้น ทั้งนี้ น้ำทิ้งที่มีค่า BOD สูง ๆ จะมีอินทรีย์วัตถุสูง ส่งผลให้มีความเป็นกรดสูง (pH ต่ำ) (Sánchez et al., 2021) ทำให้กลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนตาย แต่ค่า pH ของน้ำทิ้งจากโรงงานในการทดลองนี้ค่อนข้างเป็นด่าง บ่งบอกว่าค่า BOD ในการทดลองนี้ไม่ได้สูงมากจนมีผลต่อค่า pH

ดินจากการใช้น้ำทิ้งมีค่าไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม สูงกว่าดินที่ใช้น้ำผิวดิน และดินที่ใช้น้ำฝนตามสภาพธรรมชาติ ซึ่งอาจอธิบายได้ว่า การใช้น้ำทิ้งทำให้เพิ่มการดูดซึมเกลือแอมโมเนียม หรือเกลือของไนเตรทที่มีอยู่ใน

น้ำทิ้ง และเพิ่มการตรึงไนโตรเจนโดยกระบวนการ immobilization ซึ่งเป็นการดูดซับไนโตรเจนอนินทรีย์ในรูป แอมโมเนีย แอมโมเนียม ไนเตรท และไนเตรทของจุลินทรีย์ แล้วทำการเปลี่ยนรูปเป็นไนโตรเจนอินทรีย์ (Pierzynski et al., 2000) ส่งผลให้ดินที่ใช้น้ำเสียมีปริมาณไนโตรเจนสูง ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่เพิ่มขึ้นนั้น อาจเนื่องมาจากในน้ำทิ้งมีปริมาณธาตุเหล่านี้สูง จึงทำให้ธาตุดังกล่าวมีปริมาณสูงขึ้นในดินที่ใช้น้ำทิ้ง (Iwai et al., 2015) เช่นเดียวกับธาตุอาหารอื่น ๆ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม และแมงกานีส ที่พบในดินที่มีการใช้น้ำทิ้งสูงกว่าการใช้น้ำผิวดิน และน้ำฝนตามสภาพตามธรรมชาติ

นอกจากนี้ยังพบว่า ธาตุเหล็กในทุกระบวนการทดลอง มีปริมาณค่อนข้างสูง (5,279-5,447 มก./กก.) ซึ่งเนื่องมาจากการชะของน้ำฝน ทำให้มีธาตุเหล็กจากพื้นที่บริเวณใกล้เคียงมาสะสมในบริเวณแปลงทดลอง ปริมาณปุ๋ยที่ใช้ในการทดลอง รวมถึงแร่ธาตุที่อยู่ในดิน ซึ่งอาจจะละลายออกมาอยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ได้

ส่วนปริมาณโลหะหนักและสารพิษ ได้แก่ สารหนู โซดาไนต์ แคดเมียม โครเมียม ตะกั่ว และปรอท พบว่า ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดในทุกกรรมวิธีการทดลองตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน พ.ศ. 2564 (มาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการค้าขาย เกษตรกรรม และกิจการอื่น ๆ)

ผลการทดลองจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า น้ำทิ้งจากโรงงานแป่งมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้ในการเพาะปลูกอ้อยได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Iwai et al. (2015) ที่นำน้ำทิ้งจากโรงงานแป่งมันสำปะหลัง จ. กาฬสินธุ์ มาใช้ในการ

ปลูกหญ้าเนเปียร์ พบว่า ความเข้มข้นของน้ำเสีย 25-100% สามารถเพิ่มชีวมวลหญ้าเนเปียร์อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการสะสมในดิน พบว่า การใช้น้ำทิ้งทำให้ค่า pH ค่าการนำไฟฟ้า อินทรีย์วัตถุ ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเพิ่มขึ้นสูงกว่าดินที่ไม่ใช้น้ำทิ้ง โดยปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นมาจากการตรึงไนโตรเจนและการดูดซึมเกลือที่เพิ่มขึ้นของการใช้น้ำทิ้ง ปริมาณฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่เพิ่มขึ้นนั้นมาจากปริมาณธาตุ

ดังกล่าวที่มีอยู่ในน้ำทิ้งค่อนข้างสูง จึงส่งผลให้ดินที่มีการใช้น้ำทิ้งมีปริมาณธาตุเหล่านี้สูงขึ้นด้วย

นอกจากนี้ ยังมีรายงานการนำน้ำทิ้งจากโรงงานแป่งมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งไปใช้ประโยชน์โดย อาทิตย์ (2559) ได้ศึกษาการนำน้ำเสียจากโรงงานแป่งมันสำปะหลังเพื่อปลูกหญ้าเนเปียร์ในพื้นที่ดินเค็มและผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของดิน โดยใช้ 1) น้ำทิ้งก่อนผ่านการบำบัด 2) น้ำทิ้งหลังผ่านการบำบัด และ 3) น้ำชลประทาน

Table 6 Nutrient element accumulation, level of toxic substances and heavy metals in soil before and after harvesting

Parameter	Result of soil analysis				Standard value
	Before planting	After planting			
		T1	T2	T3	
pH	6.28	7.24	6.54	6.16	-
Electrical conductivity (dS/m)	0.07	0.08	0.06	0.07	-
Organic matter (%)	1.3	0.36	0.41	0.56	-
Total nitrogen (%)	0.07	0.28	0.21	0.21	-
Phosphorus (available) (mg/kg)	22	28	16	20	-
Exchangeable potassium (mg/kg)	109	269	139	137	-
Exchangeable magnesium (mg/kg)	16	77	26	58	-
Total zinc (mg/kg)	12	12	9.9	10	<70**
Total copper (mg/kg)	1.1	3.3	1.8	2	<35,040*
Total iron (mg/kg)	4,200	5,279	5,270	5,447	-
Cyanide (mg/L)	<0.06	<0.06	<0.06	<0.06	<138*
Total arsenic (mg/kg)	0.08	0.82	0.69	0.74	<25*
Total cobalt (mg/kg)	1.2	2.1	1.4	1.7	<20**
Total cadmium (mg/kg)	<0.3	0.49	0.21	0.18	<762*
Total lead (mg/kg)	4.3	11	8.5	10	<800*
Total chromium (mg/kg)	5.2	9.4	8.4	8.4	<80**
Total nickel (mg/kg)	1.7	3.1	2.5	2.6	<5,205*
Total mercury (mg/kg)	<0.05	0.16	<0.05	<0.05	<263*
Texture	Sandy Loam				
- Sand (%)	74.86				-
- Silt (%)	15.59				
- Clay (%)	9.55				

* National Environmental Board (2021)

** Department of Agriculture (2007)

(ตัวควบคุม) ซึ่งพารามิเตอร์ส่วนใหญ่ของน้ำทิ้งก่อนผ่านการบำบัดมีค่าสูงกว่าที่เกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งกำหนด ทั้งค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด ค่า BOD และค่า COD ส่วนน้ำทิ้งหลังผ่านการบำบัด มีค่า BOD และ COD เกินมาตรฐานที่กำหนด ผลการทดลองพบว่า น้ำแต่ละชนิดที่ใช้ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของหญ้าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนคุณสมบัติทางเคมีของดินก่อนและหลังการทดลอง ทั้งค่า pH ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ค่าอินทรีย์วัตถุ (OM) ค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) และค่าฟอสฟอรัส (P) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นค่าโพแทสเซียม (K) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งหลังการปลูกพบว่า ธาตุอาหารในดินคือ TKN, P มีค่าลดลง และค่า EC ลดลง ส่งผลให้ระดับความเค็มของดินลดลง

ผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าน้ำทิ้งจากโรงงานแปรงไม้สำหรับล้าง สามารถนำมาใช้ในการเพาะปลูกอ้อยได้ และให้ผลผลิตไม่แตกต่างกับการใช้น้ำผิวดิน หรือน้ำชลประทานอย่างใดก็ตาม เมื่อคำนึงถึงผลกระทบในระยะยาว อาจต้องพิจารณาการใช้น้ำทิ้งตามความเหมาะสม เพื่อไม่ให้เกิดการสะสมของสารหรือธาตุต่าง ๆ ในดินจนทำให้เกิดพิษต่อพืชได้

สรุปผลการทดลอง

การใช้น้ำทิ้งจากโรงงานแปรงไม้สำหรับล้าง ใน จ. นครราชสีมา ที่ไม่สามารถระบายน้ำทิ้งออกสู่แหล่งน้ำได้ ในการปลูกอ้อย เปรียบเทียบกับการใช้น้ำผิวดิน และสภาพน้ำฝนตามธรรมชาติ พบว่าการใช้น้ำทิ้ง 3 แหล่ง ส่งผลให้อ้อยมีการเจริญเติบโต

และผลผลิตแตกต่างกัน โดยภาพรวม การใช้น้ำทิ้งมีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตใกล้เคียงกับการใช้น้ำผิวดิน โดยความสูงของอ้อย และน้ำหนักสดต่อไร่ อยู่ในช่วง 257.75-270.12 ซม. และ 16.94-17.30 ตัน/ไร่ ตามลำดับ ขณะที่การปลูกในสภาพน้ำฝนตามธรรมชาติ อ้อยมีการเจริญเติบโตและผลผลิตน้อยที่สุด (185.28 ซม. และ 6.71 ตัน/ไร่) ส่วนเปอร์เซ็นต์ความหวานของอ้อยจากการใช้น้ำทิ้ง 3 แหล่ง มีค่าใกล้เคียงกัน (12.38-13.40%) เมื่อวิเคราะห์สารตกค้าง พบว่า การใช้น้ำทิ้ง 3 แหล่ง มีปริมาณเหล็กสะสมอยู่ในใบอ้อยเกินค่ามาตรฐานเล็กน้อย (22.39-31.79 มก./กก.) ส่วนโลหะหนักและสารพิษนั้น พบว่า ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด และเมื่อวิเคราะห์คุณภาพดินหลังการเก็บเกี่ยวพบว่า ในช่วงทำการทดลอง 1 ปี การใช้น้ำทิ้งส่งผลต่อการสะสมของปริมาณธาตุต่าง ๆ และโลหะหนักสูงกว่าน้ำผิวดิน แต่มีค่าไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด ข้อมูลจากงานวิจัยนี้ สามารถนำไปกำหนดเป็นแนวทางหรือแนวคิดของการนำผลการศึกษาไปใช้ในการแก้ปัญหาการขาดแคลนน้ำในภาคการเกษตรในช่วงฤดูแล้งได้

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.อว.(อ)(ภส)/90-2563) ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนการวิจัยในปีงบประมาณ 2563 ขอขอบคุณโรงงานแปรงไม้สำหรับล้าง จังหวัดนครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำทิ้งจากโรงงาน พื้นที่ทำการทดลอง และได้อำนวยความสะดวกช่วยเหลือดำเนินการในเรื่องต่าง ๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกหน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่ช่วยให้งานวิจัยลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงอุตสาหกรรม. 2560. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากโรงงาน พ.ศ. 2560. ประกาศ ณ วันที่ 30 พฤษภาคม 2560. ประกาศในราชกิจจานุเบกษา วันที่ 7 มิถุนายน 2560.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2548. คู่มือปฏิบัติการนํ้าทิ้งจากสิ่งแวดล้อม. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมกรุงเทพฯ. 34 หน้า.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2553. วิธีปฏิบัติสำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำ. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กรุงเทพฯ. 58 หน้า.
- กรมชลประทาน. 2554. คู่มือการหาปริมาณการใช้น้ำของพืช. แหล่งข้อมูล: http://kmcenter.rid.go.th/kchydhome/documents/2554/manual/Manual_07.pdf, 1. สืบค้น: 1 กุมภาพันธ์ 2564.
- กรมวิชาการเกษตร. 2548. คำแนะนำการใช้อยู่กับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 121 หน้า.
- กรมวิชาการเกษตร. 2550. ระดับเกณฑ์พื้นฐานของโลหะหนักในดิน และค่าสูงสุดของโลหะหนัก. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- กรมพัฒนาที่ดิน. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ยพืช วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า เล่ม 1. สำนักวิทยาศาสตร์ เพื่อการพัฒนาที่ดิน. กรุงเทพฯ. 184 หน้า.
- กรมโรงงานอุตสาหกรรม 2563. อุตสาหกรรมแปรรูปสำหรับ. แหล่งข้อมูล: http://www2.dlw.go.th/Standard/Web/pane_files/Industry2.asp. สืบค้น: 3 กุมภาพันธ์ 2564.
- คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2564. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน พ.ศ. 2564. ประกาศ ณ วันที่ 6 มกราคม พ.ศ. 2564. ประกาศในราชกิจจานุเบกษา วันที่ 11 มีนาคม 2564.
- เบญจรัตน์ ประภักดี และจิรัฐ สังฆทอง. 2559. แนวทางการฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อนแคดเมียมด้วยวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม จากขบวนการทดลองสู่พื้นที่จริง. วารสารสิ่งแวดล้อม. 20(1): 1-13.
- ประเสริฐ ฉัตรวิชระวงศ์. 2542. อ้อย หน้า 270-295. ใน: พืชเศรษฐกิจ. ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เมธา จันทร์ชื่น สุรศักดิ์ จอนเจดสิน และสุทธิวรรณ สุทธิสงค์. 2536. การออกแบบแปลงให้น้ำสำหรับพืชไร่. โครงการวิทยานิพนธ์ชลประทาน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุดชล วุ่นประเสริฐ และธีรยุทธ เกิดไทย. 2558. การจัดการดินและน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตอ้อยต่อ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. ใน: รายงานการวิจัย สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 48 หน้า.
- โสภิตา บุญเอกทรัพย์. 2541. การศึกษาคุณสมบัติน้ำทิ้งในขั้นตอนกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง. หน้า 818-819. ใน: การประชุมทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เพื่อการพัฒนาเศรษฐกิจ ครั้งที่ 24. ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพฯ.
- สำนักข่าวกรมประชาสัมพันธ์. 2565. ชาวไร่อ้อยได้ เฮ! อีกครั้ง หลังรัฐสนับสนุนการเข้าถึงเงินทุนในการพัฒนาการทำเกษตร. แหล่งข้อมูล: <https://thainews.prd.go.th/th/news/detail/TCATG220605145744588>. สืบค้น: 5 กุมภาพันธ์ 2566.
- อาทิตย์ หลอกกลาง. 2559. การใช้ประโยชน์น้ำเสียจากโรงงานแปรรูปสำหรับปลูกหญ้าเนเปียร์ในพื้นที่ดินเค็ม. วารสารราชภัฏธนบุรี. 2: 7-22.
- Ayers, R.S. and D.W. Westcot. 1985. Water quality for agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 174 p.
- CEC (Commission of the European Communities). 1993. Withdrawal of certain proposal and drafts from the Commission to the Council (93/C 228/04). Office Journal of the European Communities No. C 228/13.
- Iwai, C.B., M. Ta-Oun and N. Barry. 2015. Reuse of wastewater from cassava industry for Napier

- grass production. International Journal of Environmental and Rural Development. 6(2): 42-47.
- Pierzynski, M., J.T. Sims and G.F. Vance. 2000. Soil phosphorus and environmental quality. pp 155-207. In: Soils and Environmental Quality, CRC Press, Boca Raton, USA.
- Sánchez, M., O.G. Gonzalo, S. Yáñez, I. Ruiz and M. Soto. 2021. Influence of nutrients and pH on the efficiency of vertical flow constructed wetlands treating winery wastewater. Journal of Water Process Engineering. 42: 102103.
- Setyawaty, R., K. Katayama-Hirayama, H. Kaneko and K. Hirayama. 2011. Current tapioca starch wastewater (TSW) management in Indonesia. World Applied Science Journal. 14(5): 658-665.
- Zhou, C., S. Xu, M. Zhang, Y. Chen, X. Guan, S. Wu, Z. Bai. 2012. Utilization of sweet potato starch wastewater for biofertilizer production by *Bacillus amyloliquefaciens*. pp. 237. In: WIT Press. Dec. 11, 2012. Southampton, United Kingdom.

ผลของวิธีการปลูกต่อผลผลิตถั่วเหลืองหลังนา

Planting Methods Affecting Soybean Yields Grown after Rice

โสพิศ ใจपालะ^{1/*} จงรักษ์ พันธุ์ไชยศรี^{1/} พิมล ภาวดี^{1/} กัลยา วิธิ^{1/}
Sopit Jaipala^{1/*} Jongrak Phunchaisri^{1/} Pimol Pavadee^{1/} Kallaya Whitee^{1/}

Received 20 July 2023/Revised 22 Sept 2023/Accepted 11 Oct. 2023

ABSTRACT

Soybean cultivation in dry season is mostly done in irrigated areas and was planted in the field after harvesting rice. There are various of soybean planting methods. Different methods are suitable for areas with different plot preparations. The objective of this experiment was to investigate the most suitable planting method of soybean after rice production to obtain the highest yield and value for investment. The experiments were conducted at the Chiang Mai Field Crops Research Center in the dry season during 2018 - 2020. Chiang Mai 60 variety was used in this experiment. Randomized complete block design with 4 replications was set and different planting methods were arranged as treatments; 1) recommended method (pushing planting hole method), 2) pecking wheel method, 3) sowing method, 4) recommended + rice straw mulching methods, 5) pecking wheel + rice straw mulching methods, and 6) sowing + rice straw mulching methods. The results from combined analysis of yield from 3 years revealed that different planting methods was significantly affected soybean yield and growth. It was found that recommended + rice straw mulching methods, pecking wheel + rice straw mulching methods and sowing + rice straw mulching methods gave no difference in yields (447-449 kg/rai). These three methods, however, attained a significantly higher yield than the other methods tested. The increasing of number of pods/plant was a major yield component responsible for yield increase. The worth investment (benefit cost ratio, BCR) of all treatments were 1.06-1.66. The method of sowing followed by rice straw mulching had the highest value in terms of investment.

Key words: soybean; planting methods; soybean after rice; Chiang Mai 60 variety

^{1/} ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ 80 หมู่ 12 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

^{1/} Chiang Mai Field Crop Research Center, 80 moo 12, Nong Han, Sansai, Chiang Mai 50290

*Corresponding author: sopit267@hotmail.com

บทคัดย่อ

การปลูกถั่วเหลืองในฤดูแล้งส่วนใหญ่จะปลูกในเขตชลประทาน เป็นการปลูกในนาหลังจากเก็บเกี่ยวข้าว และมีวิธีการปลูกที่หลากหลายที่เหมาะสมกับการเตรียมแปลงของแต่ละพื้นที่ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาวิธีการปลูกถั่วเหลืองหลังนาที่เหมาะสมให้ผลผลิตสูง และคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด ดำเนินการทดลองในฤดูแล้ง ปี พ.ศ. 2561-2563 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ โดยใช้ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้ 1) ปลูกแบบกระทุ้งปลูก (วิธีแนะนำ) 2) ปลูกแบบใช้ล้อจิก 3) ปลูกแบบหว่าน 4) ปลูกแบบกระทุ้งปลูกร่วมกับการคลุมฟาง 5) ปลูกแบบใช้ล้อจิกร่วมกับการคลุมฟาง 6) ปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง ผลการทดลองจากการวิเคราะห์ข้อมูลรวม 3 ปี พบว่า วิธีการปลูกถั่วเหลืองหลังนาที่แตกต่างกันทำให้การเจริญเติบโต และผลผลิตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การปลูกแบบกระทุ้งร่วมกับการคลุมฟาง การปลูกแบบใช้ล้อจิกร่วมกับการคลุมฟาง และการปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (447-449 กิโลกรัมต่อไร่) แต่สูงกว่าวิธีการอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มขึ้นของผลผลิตของทั้ง 3 กรรมวิธีดังกล่าว ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของจำนวนฝักต่อต้น ขณะที่จำนวนเมล็ดต่อฝัก และขนาดเมล็ด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก และทุกกรรมวิธีมีอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน อยู่ระหว่าง 1.06 – 1.66 จึงถือว่าคุ้มค่าต่อการลงทุน โดยการปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง เป็นกรรมวิธีที่มีความคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด

คำสำคัญ: ถั่วเหลือง; วิธีการปลูก; ถั่วเหลืองหลังข้าว; พันธุ์เชียงใหม่ 60

บทนำ

การปลูกถั่วเหลืองในประเทศไทยมีทั้งฤดูฝนและฤดูแล้ง ในปี พ.ศ. 2564/65 มีพื้นที่ปลูก 81,094 ไร่ แบ่งเป็นการปลูกถั่วเหลืองฤดูฝน 21,020 ไร่ และฤดูแล้ง 60,074 ไร่ โดยพื้นที่ส่วนใหญ่อยู่ในเขตภาคเหนือ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) การปลูกถั่วเหลืองฤดูแล้งส่วนใหญ่มีแหล่งปลูกในเขตชลประทาน เป็นการปลูกในนาหลังจากเก็บเกี่ยวข้าว และมีวิธีการปลูกที่หลากหลาย เช่น การหยอดในตอซังข้าว การกระทุ้งหยอด การหยอดด้วยเครื่องและการหว่าน เป็นต้น (สมศักดิ์ และรัชนี้, 2541; ภิรมย์ และคณะ, 2558; ยุวรัตน์ และปรีชาติ, 2565) สำหรับการปลูกถั่วเหลืองในเขตภาคเหนือตอนบนเกษตรกรจะปลูกโดยไม่ไถพรวนดิน ซึ่งการปลูกโดยไม่ไถพรวนดินในแหล่งปลูกเขตชลประทาน อ.แม่ริม จ. เชียงใหม่ สามารถทำได้ทั้งแบบเผ่าฟางและไม่เผ่าฟางข้าว แต่จะมีการจัดการน้ำให้เหมาะสม เกษตรกรสามารถเพิ่มผลผลิตจาก 150-200 กก./ไร่ เป็น 350-400 กก./ไร่ โดยไม่จำเป็นต้องใช้ปุ๋ยเคมี (สมศักดิ์ และรัชนี้, 2541)

ส่วนการปลูกถั่วเหลืองโดยใช้ไม้กระทุ้งหยอดหรือการใช้ล้อจิก เป็นการปลูกแบบเป็นแถว โดยใช้แรงงานคนในการทำหลุมปลูกโดยไม่ไถเตรียมดิน ซึ่งล้อจิกเป็นเครื่องมือช่วยกระทุ้งหลุม เกษตรกรสามารถดัดแปลง และประดิษฐ์ใช้เองได้ คือ ใช้ล้อจิกยานติดปั๊มแหลมมนโดยรอบวงล้อให้มีระยะห่างกันปั๊มละประมาณ 25-30 ซม. วงล้อจิกยานนี้ที่ศูนย์กลางถูกยึด และต่อเป็นคานยาว

ประมาณ 2 ม. ให้ปลายอีกด้านหนึ่งวางพาดบนบ่าของผู้ใช้ โดยผู้ใช้จับยึดบังคับเครื่องมือนี้ที่คานอีกอันหนึ่งซึ่งยึดติดตรงจุดประมาณกึ่งกลางของคานตัวแรกเป็นลักษณะกากบาท ผู้ใช้จะยึดจับปลาย 2 ข้างของคานตัวนี้ได้อย่างถนัดมือ ล้อจิกสามารถปฏิบัติงานได้เร็วกว่าในขณะที่ใช้แรงงานเท่านั้น หลุมที่เกิดขึ้นจากการกระทำหลุมนี้จะปรากฏเห็นได้ชัด ทำให้ผู้มีหน้าที่หยอดเมล็ดที่เดินตามมาสามารถหยอดเมล็ดได้อย่างสะดวก (เจียรชัย, 2541) ขณะที่การปลูกแบบหว่านจะต้องทำการไถเตรียมดินก่อน แต่ถ้าไม่ไถเตรียมดินหลังจากหว่านสามารถใช้ฟางข้าวคลุมก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่เกษตรกรปฏิบัติ ซึ่งการใช้ฟางคลุมแปลงถั่วเหลืองจะให้ผลดี คือช่วยลดต้นทุนการผลิต ไม่ต้องกำจัดวัชพืช ประหยัดการใช้น้ำชลประทาน เนื่องจากฟางข้าวช่วยลดการระเหยของน้ำและลดจำนวนครั้งในการให้น้ำ และรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน นอกจากนี้ฟางที่คลุมดินสลายตัวผู้พังทำให้มีการสะสมอินทรีย์วัตถุในดินเพิ่มขึ้น ช่วยเพิ่มผลผลิตของถั่วเหลืองอีกด้วย (นริลักษณ์ และคณะ, 2535; สุธชล, 2539; เจียรชัย, 2541; สมศักดิ์ และรัชณี, 2541)

เห็นได้ว่าวิธีการปลูกถั่วเหลืองมีหลายวิธี ดังนั้น เพื่อส่งเสริมการพัฒนาการผลิตถั่วเหลืองหลังนาของเกษตรกรให้ได้รับผลตอบแทนที่เพิ่มขึ้นจากเดิม และเหมาะสมกับศักยภาพของพื้นที่ จึงทำการศึกษาวิธีการปลูกถั่วเหลืองหลังนาที่เหมาะสม ที่ให้ผลผลิตสูง และมีความคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด เพื่อเป็นข้อมูลให้เกษตรกรนำวิธีการปลูกที่ดีที่สุดมาปรับใช้ให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ของตนเอง

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมแปลงปลูก

ดำเนินการทดลองในฤดูแล้ง (เดือนพฤศจิกายน - เมษายน) ปี พ.ศ. 2561-2563 ที่แปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี เตรียมแปลงทดลองย่อยขนาด 4 x 6 ม. โดยใช้ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ก่อนปลูกถั่วเหลือง ตัดตอซังข้าวออกจากแปลง แล้วปล่อยน้ำท่วมแปลง 1 วัน แล้วระบายน้ำออกทิ้งแปลงไว้ประมาณ 15 วัน เพื่อรอให้ข้าวเรือและวัชพืชงอก จากนั้นพ่นสารกำจัดวัชพืชหลังงอก หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช 7 วัน จึงปลูกถั่วเหลืองตามกรรมวิธีที่กำหนด 6 กรรมวิธี ดังนี้

1. การปลูกแบบกระทุ้งปลูก หรือวิธีแนะนำ (กรมวิชาการเกษตร, 2545; สถาบันวิจัยพืชไร่, 2547; จงรักษ์, 2561)
2. การปลูกแบบใช้ล้อจิกใช้ระยะปลูก 50 x 20 ซม. หยอด 3-4 เมล็ด/หลุม และไม่ถอนแยก
3. การปลูกแบบหว่าน เตรียมแปลงปลูกโดยไถพรวนดินจำนวน 2 ครั้ง ปรับพื้นที่ให้สม่ำเสมอ
4. การปลูกแบบกระทุ้งปลูกรวมกับการคลุมฟาง
5. การปลูกแบบใช้ล้อจิกรวมกับการคลุมฟาง
6. ปลูกแบบหว่านรวมกับการคลุมฟาง ไม่ไถเตรียมดิน

โดยทุกกรรมวิธีใช้อัตราเมล็ดพันธุ์ 15 กก./ไร่ และคลุมเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมก่อนปลูก กรรมวิธีที่คลุมฟางใช้อัตราฟาง 1 ตัน/ไร่

การดูแลรักษาแปลงปลูก

หลังปลูกถั่วเหลืองพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชก่อนงอก พ่นสารป้องกันหนอนแมลงวันเจาะลำต้นหลังถั่วเหลืองงอกภายใน 7 วัน เมื่อถั่วเหลืองอายุได้ประมาณ 15-20 วันหลังงอก ใส่ปุ๋ยเคมีเกรด 12-24-12 อัตรา 25 กก./ไร่ และปฏิบัติดูแลรักษาตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ให้น้ำ 7-10 วัน/ครั้ง โดยปล่อยท่วมแปลงแล้วระบายออก

การเก็บเกี่ยวผลผลิต

เมื่อถั่วเหลืองถึงระยะสุกแก่ (R8) ทำการเก็บเกี่ยวในแต่ละแปลงทดลองย่อย โดยมีพื้นที่เก็บเกี่ยว 3 x 3 ม. ก่อนเก็บเกี่ยวสุ่มตัวอย่างวัชพืชในทุกกรรมวิธี ๆ ละ 2 จุด แต่ละจุดมีขนาด 0.5 x 0.5 ม. นำวัชพืชที่สุ่มไปอบที่อุณหภูมิ 80° ซ. เป็นเวลา 48 ชม. เพื่อหาน้ำหนักแห้ง

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูล ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต การเจริญเติบโตที่ระยะเก็บเกี่ยว ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนข้อ น้ำหนักแห้งของวัชพืชก่อนเก็บเกี่ยว ต้นทุนการผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ โดยคิดจากอัตราส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (benefit cost ratio: BCR) (ชูชีพ, 2540) ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบมูลค่าปัจจุบันของผลตอบแทนกับการลงทุนปัจจุบันของต้นทุน หลักเกณฑ์ในการตัดสินใจตามวิธีนี้คือค่า BCR ต้องมากกว่า 1 ซึ่งหมายความว่าผลตอบแทนที่ได้จะมีมากกว่าต้นทุนที่ต้องเสียไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเจริญเติบโตของถั่วเหลือง

ความสูงของถั่วเหลืองที่ระยะเก็บเกี่ยว จากวิธีการปลูกแบบต่าง ๆ พบว่า ในทั้ง 3 ปี มีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปี พ.ศ. 2561 การปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง การปลูกแบบกระทุ้งปลูกร่วมกับการคลุมฟาง การปลูกแบบใช้ล้อยึก และการปลูกแบบใช้ล้อยึกร่วมกับการคลุมฟาง มีความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ (43.6-47.8 ซม.) การปลูกแบบหว่านมีความสูงน้อยที่สุด 37.0 ซม. (Table 1) ปี พ.ศ. 2562 การปลูกแบบล้อยึกร่วมกับการคลุมฟาง การปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง การปลูกแบบกระทุ้งปลูกร่วมกับการคลุมฟาง และการปลูกแบบหว่าน มีความสูงมากที่สุด คือ 45.5 45.5 44.6 และ 43.8 ซม. ตามลำดับ และปี พ.ศ. 2563 การปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟางมีความสูงมากที่สุด คือ 55.9 ซม. แต่ไม่แตกต่างกับการปลูกแบบกระทุ้งปลูกร่วมกับการคลุมฟาง และการปลูกแบบล้อยึกร่วมกับการคลุมฟางที่มีความสูงต้น 55.4 และ 55.3 ซม. ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์รวม 3 ปี พบว่า วิธีการปลูกที่มีการคลุมฟางร่วม มีความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (48.1-49.7 ซม.) แต่แตกต่างกับวิธีการปลูกอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1)

เมื่อนับจำนวนข้อต่อต้น พบว่า ปี พ.ศ. 2561 และ 2562 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีจำนวนข้อเฉลี่ย 11.3 และ 11.1 ข้อ/ต้น ตามลำดับ (Table 1) ปี พ.ศ. 2563 พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยการปลูกแบบหว่าน มีจำนวนข้อน้อยที่สุด คือ 10.5 ข้อ/ต้น ซึ่งสอดคล้องกับความสูงของต้นที่มีความสูงน้อยเช่นกัน เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์รวม 3 ปี พบว่า จำนวนข้อไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีจำนวนข้อเฉลี่ย 11.4 ข้อ/ต้น (Table 1)

เห็นได้ว่าวิธีการปลูกที่มีการคลุมฟางร่วม มีการเจริญเติบโตดีกว่าการไม่คลุมฟาง โดยเฉพาะ

ความสูงต้น โดยทำให้ต้นถั่วเหลืองมีความสูงเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Anand et al. (2020) ที่รายงานว่า การคลุมฟางมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต ถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีความสูงของต้น (96.77 ซม.) และผลผลิตเมล็ด (408.7 กก./ไร่) เพิ่มขึ้น การคลุมฟางมีผลต่อการเจริญเติบโต

เนื่องจากฟางข้าวช่วยลดการระเหยของน้ำทำให้ดิน มีความชื้น ต้นถั่วเหลืองไม่เกิดการขาดน้ำ และยัง รักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินเนื่องจากฟางที่คลุม ดินสลายตัวพองทำให้มีการสะสมอินทรีย์วัตถุในดิน เพิ่มขึ้น (เจียรชัย, 2541)

Table 1 Plant height and number of nodes per plant of soybean at different planting methods at Chiang Mai Field Crops Research Center in dry season, 2018-2020

Planting method	Plant height (cm)			Mean	No. of nodes/plant			Mean
	2018	2019	2020		2018	2019	2020	
Recommended method ^{1/}	38.5 bc ^{2/}	40.7 b	52.5 bc	43.8 b	10.8	10.8	11.4 a	11.0
Pecking wheel method	44.8 a	40.9 b	52.1 c	45.9 b	11.2	10.6	11.6 a	11.2
Sowing	37.0 c	43.8 a	50.9 c	43.9 b	11.9	10.9	10.5 b	11.1
Recommend + rice straw mulching	46.8 a	44.6 a	55.4 ab	48.9 a	11.2	11.6	11.7 a	11.5
Pecking wheel + rice straw mulching	43.6 ab	45.5 a	55.3 ab	48.1 a	11.4	11.4	11.6 a	11.4
Sowing + rice straw mulching	47.8 a	45.5 a	55.9 a	49.7 a	11.7	11.2	11.7 a	11.5
Mean	43.1	43.5	53.7	46.8	11.3	11.1	11.4	11.4
F-test	**	**	*	**	ns	ns	**	ns
CV (%)	8.5	3.8	3.8	5.6	5.5	6.2	3.2	5.1

^{1/} Pushing planting hole method

^{2/} Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT
ns = not significant, ** = significant at $P < 0.01$, * = significant at $P < 0.05$

ผลผลิตของถั่วเหลือง

ผลผลิตถั่วเหลืองจากวิธีการปลูกแบบต่าง ๆ ของทั้ง 3 ปี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปี พ.ศ. 2561 พบว่า การปลูกแบบกระทุ้งปลูกร่วมกับการคลุมฟาง การปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง การปลูกแบบล้อยจิกร่วมกับการคลุมฟาง และการปลูกแบบล้อยจิก ให้ผลผลิต 389 - 494 กก./ไร่ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกัน และการปลูกแบบหว่านให้ผลผลิตน้อยที่สุด คือ 312 กก./ไร่ ปี พ.ศ. 2562 การปลูกแบบล้อยจิกและคลุมฟาง ให้ผลผลิตสูงที่สุด คือ 478 กก./ไร่ การปลูกแบบกระทุ้งหลุมให้ผลผลิตน้อยที่สุด คือ 294 กก./ไร่ และปี พ.ศ. 2563 การปลูกแบบกระทุ้งปลูกร่วมกับการคลุมฟาง

การปลูกแบบล้อยจิกร่วมกับการคลุมฟาง และการปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง ให้ผลผลิตสูงที่สุด คือ 441 444 และ 434 กก./ไร่ ตามลำดับ (Table 2)

เมื่อนำข้อมูลผลผลิตมาวิเคราะห์รวม 3 ปี พบว่า วิธีการปลูกที่แตกต่างกัน ทำให้ผลผลิตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการปลูกแบบกระทุ้งปลูกร่วมกับการคลุมฟาง ปลูกแบบใช้ล้อยจิกร่วมกับการคลุมฟาง ปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง ให้ผลผลิตสูงที่สุด คือ 447 448 และ 449 กก./ไร่ ตามลำดับ และการปลูกแบบกระทุ้งให้ผลผลิตน้อยที่สุด คือ 327 กก./ไร่ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการปลูกแบบอื่น ๆ ที่ไม่ได้

คลุมฟาง ซึ่งเห็นได้ว่าการคลุมฟางมีผลทำให้ถั่วเหลืองให้ผลผลิตสูงกว่าการไม่คลุมฟาง เช่นเดียวกับ Sekhon et al. (2005), Hisani and Kaimuddin (2015) และ Anand et al. (2020) ที่พบว่า การคลุมฟางช่วยเพิ่มผลผลิตของถั่วเหลือง และสอดคล้องกับ สุดชล (2539) ที่รายงานว่า การใช้ฟางคลุมผิวดินในแปลงถั่วเหลืองที่มีการให้น้ำเพียง 4-6 ครั้ง ตลอดฤดูปลูก มีส่วนช่วยให้ผลผลิตถั่วเหลืองสูงกว่าแปลงที่เผาฟางและไม่คลุมผิวดินด้วยฟาง หมายความว่า ในสภาพแล้งและในเขตที่มีน้ำชลประทานขาดแคลน การปลูกถั่วเหลือง แล้วคลุมพื้นดินด้วยฟางจะช่วยให้ผลผลิตถั่วเหลืองเพิ่มขึ้น ขณะที่นริลักษณ์ และคณะ (2535) พบว่า การเผาฟางก่อนปลูกแล้วคลุมฟางโดยไม่มีการกำจัดวัชพืช ถั่วเหลืองให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการปลูกถั่วเหลืองที่เผาฟางก่อนปลูกแล้วกำจัดวัชพืชอีกครั้ง ผลของการคลุมฟางมีผลทำให้การงอกของวัชพืชน้อยลง ช่วยลดต้นทุนการผลิต เนื่องจากไม่ต้องกำจัดวัชพืช และยังสามารถรักษาความชื้นในดิน ลดการระเหยของน้ำลดจำนวนครั้งในการให้น้ำ รวมถึงสามารถรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินด้วย ฟางที่คลุมดินสลายตัวผุพังทำให้มีการสะสมอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้น (เจียรชัย, 2541) นอกจากนี้ Kader et al. (2017) ยังพบว่า วัสดุคลุมดินนอกจากจะเหมาะสำหรับการรักษาความชื้นในดินและการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิแล้วยังสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองได้

องค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลือง

เมื่อเปรียบเทียบกับองค์ประกอบผลผลิตได้แก่ จำนวนต้นต่อไร่ จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด พบว่า ปี พ.ศ. 2561 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะจำนวนต้น/ไร่ และจำนวนฝัก/ต้น โดยการปลูก

แบบหว่านมีจำนวนต้นต่อไร่ต่ำที่สุด 30,450 ต้น/ไร่ ส่วนจำนวนฝัก/ต้น พบว่า การปลูกแบบหว่านมีจำนวนฝักมากที่สุด 45.2 ฝัก/ต้น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการปลูกวิธีอื่น ๆ ที่มีการคลุมฟาง และการปลูกแบบกระทุ้งหลุมมีจำนวนฝักต่อต้นน้อยที่สุด 34.5 ฝัก/ต้น สำหรับจำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 2.13 – 2.25 เมล็ด/ฝัก และ 17.1-18.0 กรัม/100 เมล็ด ตามลำดับ (Table 2-4)

ปี พ.ศ. 2562 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เฉพาะจำนวนต้นต่อไร่ โดยการปลูกแบบหว่านทั้งไม่คลุมและคลุมฟางมีจำนวนต้นต่อไร่มากที่สุด คือ 75,450 และ 67,850 ต้น/ไร่ ตามลำดับ ส่วนจำนวนฝักต่อต้นจำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่เฉลี่ย 27.9 ฝัก/ต้น 1.98 เมล็ด/ฝัก และ 17.0 กรัม/100 เมล็ด ตามลำดับ (Table 2-4)

ปี พ.ศ. 2563 จำนวนต้นต่อไร่ และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่เฉลี่ย 45,508 ต้น/ไร่ และ 2.32 เมล็ด/ฝัก ตามลำดับ ส่วนจำนวนฝักต่อต้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยการปลูกแบบกระทุ้งหลุมรวมกับการคลุมฟาง การปลูกแบบล้อยจกร่วมกับการคลุมฟาง และการปลูกแบบหว่านรวมกับการคลุมฟางมีจำนวนฝักต่อต้นมากที่สุด คือ 41.9 38.4 และ 37.5 ฝัก/ต้น ตามลำดับ และน้ำหนัก 100 เมล็ด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยการปลูกแบบกระทุ้งหลุม การปลูกแบบล้อยจก การปลูกแบบหว่าน และการปลูกแบบหว่านรวมกับการคลุมฟาง มีน้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด คือ 16.1 15.5 15.5 และ 15.5 ก./100 เมล็ด

ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกับการปลูกแบบกระทุ้ง หลุมร่วมกับการคลุมฟาง (Table 2-4)

เมื่อพิจารณาผลการทดลองทั้ง 3 ปี เห็นได้ว่าองค์ประกอบผลผลิตที่มีผลกระทบต่อผลผลิต คือ จำนวนฝักต่อต้น จากการวิเคราะห์ข้อมูลรวม 3 ปี พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธีการปลูกที่มีการคลุมฟางร่วมมีจำนวนฝักมากกว่าวิธีการปลูกที่ไม่ได้คลุมฟาง โดยมีค่าระหว่าง 35.5-38.5 ฝัก/ต้น ซึ่งมีทิศทางเดียวกันกับผลผลิตสอดคล้องกับ Sekhon et al. (2005) ซึ่งพบว่า

การคลุมด้วยฟางข้าวสาธิตทำให้ผลผลิตเมล็ด ถั่วเหลืองเพิ่มขึ้น 4.4 ถึง 68.3% ในฤดูปลูกที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังเพิ่มมวลชีวภาพ 17 ถึง 122% และเพิ่มมวลปม 8 ถึง 220% ดัชนีพื้นที่ใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบ และจำนวนฝักต่อต้น เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม องค์ประกอบผลผลิตมีลักษณะที่ยึดหยุ่นทดแทนและชดเชยซึ่งกันและกันได้ กล่าวคือ เมื่อองค์ประกอบผลผลิตหนึ่งลดลง ผลผลิตอาจไม่ลดลง เนื่องจากผลผลิตนั้นถูกชดเชยด้วยองค์ประกอบอื่นที่เพิ่มขึ้น (เฉลิมพล, 2542)

Table 2 Yield and no. of plants /rai of soybean at different planting methods at Chiang Mai Field Crops Research Center in dry season, 2018-2020

Planting method	Yield (kg/rai)			Mean	No. of plants /rai			Mean
	2018	2019	2020		2018	2019	2020	
Recommended method ^{1/}	347 b ^{2/}	294 d	342 b	327 b	47,950 a	48,700 b	49,150	48,600
Pecking wheel method	389 ab	356 c	354 b	367 b	47,600 a	47,658 b	50,450	48,569
Sowing	312 b	368 c	367 b	349 b	30,450 c	75,450 a	41,150	49,017
Recommend + rice straw mulching	494 a	407 b	441 a	447 a	47,650 a	47,500 b	42,750	45,967
Pecking wheel + rice straw mulching	422 ab	478 a	444 a	448 a	48,150 a	48,100 b	45,900	47,383
Sowing + rice straw mulching	485 a	426 b	434 a	449 a	41,050 b	67,850 a	43,650	50,850
Mean	408	388	397	398	43,808	55,876	45,508	50,850
F-test	*	**	**	**	**	**	ns	ns
CV (%)	19.7	6.1	11.2	13.8	8.3	15.8	15.8	13.4

^{1/} Pushing planting hole method

^{2/} Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT
ns = not significant, ** = significant at $P < 0.01$, * = significant at $P < 0.05$

น้ำหนักแห้งของวัชพืช

วิธีการปลูกที่แตกต่างกันไม่ทำให้น้ำหนักแห้งของวัชพืชราก่อนเก็บเกี่ยวแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีน้ำหนักแห้งของวัชพืชเฉลี่ย 58.7 92.4 และ 53.0 กรัม/ตร. ม. ตามลำดับ (Table 5) ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ เจริญชัย (2545) ที่พบว่า ในวิธีการเผาฟางตามวิธีเกษตรกรก่อนปลูกถั่วเหลือง แล้วใช้

สารเคมีกำจัดวัชพืชหลังออก มีน้ำหนักวัชพืชแห้งสูงกว่าเล็กน้อยเมื่อเทียบกับการปลูกถั่วเหลืองด้วยวิธีการไม่เผาฟางแต่ใช้ฟางคลุมผิวดินหลังปลูกถั่วเหลือง แต่ก็ไม่มีผลกระทบต่อผลผลิต แสดงให้เห็นว่าการคลุมฟางเป็นวิธีการที่สามารถช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของวัชพืชได้โดยไม่ต้องใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช (นริลักษณ์ และคณะ, 2535; สุขชล, 2539)

Table 3 Yield and yield components (no. of pods /plant and no. of seeds /pod) of soybean at different planting methods at Chiang Mai Field Crops Research Center in dry season, 2018-2020

Planting method	No. of pods /plant			Mean	No. of seeds /pod			Mean
	2018	2019	2020		2018	2019	2020	
Recommended method ^{1/}	34.5 c ^{2/}	25.5	28.0 b	29.4 b	2.13	2.03	2.35	2.17
Pecking wheel method	36.1 bc	27.1	31.7 b	31.6 b	2.23	1.72	2.30	2.08
Sowing	45.2 a	24.6	19.6 c	29.8 b	2.20	2.18	2.28	2.23
Recommend + rice straw mulching	40.6 ab	33.1	41.9 a	38.5 a	2.20	2.02	2.34	2.19
Pecking wheel + rice straw mulching	41.1 ab	27.1	38.4 a	35.5 a	2.18	2.00	2.28	2.15
Sowing + rice straw mulching	41.1 ab	29.8	37.5 a	36.2 a	2.25	1.97	2.36	2.20
Mean	39.8	27.9	32.9	33.5	2.20	1.98	2.32	2.17
F-test	*	ns	**	**	ns	ns	ns	ns
CV (%)	9.4	17.8	11.7	12.6	5.1	17.5	3.9	10.2

^{1/} Pushing planting hole method

^{2/} Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT
ns = not significant, ** = significant at $P < 0.01$, * = significant at $P < 0.05$

Table 4 Weight of one hundred soybean seeds of different planting methods at Chiang Mai Field Crops Research Center in dry season, 2018-2020

Planting method	100 seed wt. (g)			Mean
	2018	2019	2020	
Recommended method ^{1/}	17.1	17.0	16.1 a ^{2/}	16.7
Pecking wheel method	17.7	17.1	15.5 a	16.8
Sowing	17.3	16.8	15.5 a	16.6
Recommend + rice straw mulching	17.6	17.7	15.3 ab	16.6
Pecking wheel + rice straw mulching	18.0	16.9	14.7 b	16.6
Sowing + rice straw mulching	17.8	17.3	15.5 a	16.9
Mean	17.6	17.0	15.4	16.7
F-test	ns	ns	*	ns
CV (%)	4.7	3.7	3.2	4.0

^{1/} Pushing planting hole method

^{2/} Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT
ns = not significant, * = significant at $P < 0.05$

ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

จากผลผลิตเฉลี่ยที่ได้จากการทดลองทั้ง 3 ปี ราคาขายเมล็ดถั่วเหลืองเฉลี่ยกิโลกรัมละ 17.15 บาท (ราคาเฉลี่ยในเดือนเมษายน 2560 2561 และ 2563) (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร,

2564) เมื่อคิดรายได้จะเห็นว่าการปลูกแบบหว่าน ร่วมกับการคลุมฟางมีรายได้สูงที่สุด 7,700 บาท/ไร่ เนื่องจากมีผลผลิตสูงที่สุด รองลงมา คือ การปลูก แบบใช้ล้อจิกร่วมกับการคลุมฟาง มีรายได้ 7,683 บาท/ไร่ และการปลูกแบบกระถังหลุมมีรายได้น้อย

ที่สุด คือ 5,608 บาทต่อไร่ ส่วนต้นทุนการผลิต พบว่า การปลูกกระทุ้งหลุมรวมกับการคลุมฟาง มีต้นทุนการผลิตมากที่สุด คือ 5,606 บาทต่อไร่ รองลงมา คือ การปลูกกระทุ้งหลุม มีต้นทุนการผลิต 5,286 บาท/ไร่ และการปลูกแบบหว่านมีต้นทุนการผลิตน้อยที่สุด 4,489 บาท/ไร่ ดังนั้นเมื่อนำมาคิดค่า อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน พบว่า ทุกกรรมวิธี มีค่า BCR อยู่ระหว่าง 1.06 – 1.66 (Table 6)

Table 5 Dry weight of weed before harvesting in soybean plots at different planting methods at Chiang Mai Field Crops Research Center in dry season, 2018-2020

Planting method	Total weed dry weight before harvesting (g/m ²)			Mean
	2018	2019	2020	
Recommended method ^{1/}	66.0	100.4	42.2	69.5
Pecking wheel method	50.6	87.7	50.1	62.8
Sowing	65.3	62.4	53.1	60.3
Recommend + rice straw mulching	74.1	106.1	54.0	78.1
Pecking wheel + rice straw mulching	55.7	107.9	65.4	76.4
Sowing + rice straw mulching	40.7	89.9	53.2	61.2
Mean	58.7	92.4	53.0	68.1
F-test	ns	ns	ns	ns
CV (%)	47.9	42.8	57.4	48.6

^{1/} Pushing planting hole method

ns = not significant

Table 6 Yield, farm price, income, total cost and benefit cost ratio (BCR) of soybean at different planting methods at Chiang Mai Field Crops Research Center in dry season, 2018-2020

Planting method	Yield	Income	labor cost of	Total cost	BCR
	(kg/rai)	(baht/rai) ^{2/}	planting (baht/rai)	(baht/rai) ^{3/}	
Recommended method ^{1/}	327	5,608	1,000	5,286	1.06
Pecking wheel method	367	6,294	500	4,826	1.30
Sowing	349	5,985	31.2	4,489	1.33
Recommend + rice straw mulching	447	7,666	1,200	5,606	1.37
Pecking wheel + rice straw mulching	448	7,683	700	5,107	1.50
Sowing + rice straw mulching	449	7,700	231.2	4,639	1.66

^{1/} Pushing planting hole method

^{2/} Soybean farm price 17.15 baht/kg (OAE., 2021), average price 3 years in April (2018) April (2019) and April, 2020.

^{3/} Total cost: rice residue removal 350 baht/rai, soil preparation 600 baht/rai (sowing), soybean seed 375 baht/rai, watering 500 baht/rai, planting 31.2-1,000 baht/rai, weeding + labor cost 333.6 baht/rai, insecticide application + labor cost 510 baht/rai, fertilizer application + labor cost 592.0 baht/rai, harvesting 1,200 baht/rai and threshing 327-449 baht/rai

จึงถือว่าคุ้มค่าต่อการลงทุน โดยการปลูกแบบหว่าน ร่วมกับการคลุมฟาง เป็นกรรมวิธีที่มีความคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด ($BCR = 1.66$) ดังนั้นในการปลูกถั่วเหลืองหลังนา ให้ได้ผลผลิตสูงและคุ้มค่าต่อการลงทุน เกษตรกรสามารถเลือกใช้วิธีการปลูกที่ได้ทำการทดลองในครั้งนี้ได้ทุกวิธี ซึ่งขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ความสะดวก และเวลาการปฏิบัติงาน

สรุปผลการทดลอง

การเปรียบเทียบวิธีการปลูกถั่วเหลืองหลังนาที่เหมาะสม ให้ผลผลิตสูง และมีความคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด พบว่า วิธีการปลูกถั่วเหลืองหลังนาที่แตกต่างกัน มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง โดยวิธีการปลูกที่มีการคลุมฟางร่วม ทำให้ถั่วเหลืองมีการเจริญเติบโตดีกว่าการไม่คลุมฟาง การคลุมฟางทำให้ต้นถั่วเหลืองมีความสูงเพิ่มขึ้น มีค่าระหว่าง 48.1-49.7 ซม. และทำให้ผลผลิตสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งวิธีการปลูกแบบกระทุ้งร่วมกับการคลุมฟาง ปลูกแบบใช้ล้อจักรร่วมกับการคลุมฟาง และปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟาง ให้ผลผลิตสูงที่สุด คือ 447 448 และ 449 กก./ไร่ ตามลำดับ ส่วนองค์ประกอบผลผลิตที่มีผลกระทบต่อผลผลิต คือ จำนวนฝักต่อต้น นั้นพบว่า วิธีการปลูกที่มีการคลุมฟางร่วม ทำให้ถั่วเหลืองมีจำนวนฝักมากกว่าวิธีการปลูกที่ไม่ได้คลุมฟาง มีค่าระหว่าง 35.5-38.5 ฝัก/ต้น และทุกกรรมวิธีการปลูกมีอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุนอยู่ระหว่าง 1.06-1.66 จึงถือว่าทุกกรรมวิธีคุ้มค่าต่อการลงทุน โดยการปลูกแบบหว่านร่วมกับการคลุมฟางเป็นกรรมวิธีการปลูกถั่วเหลืองหลังนาที่มีความคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับ ถั่วเหลือง. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 26 หน้า.
- จงรักษ์ พันธุ์ไชยศรี. 2561. การเตรียมดินและการปลูก ถั่วเหลือง. หน้า 12-15. ใน: เอกสารประกอบการฝึกอบรมการผลิตถั่วเหลือง. 15-17 พฤศจิกายน 2561, เชียงใหม่.
- เฉลิมพล แชมเพชร. 2542. สรรพวิทยาพืชไร่. โรงพิมพ์นพบุรีการพิมพ์, เชียงใหม่. 276 หน้า.
- ชูชีพ พิพัฒนศิริ. 2540. เศรษฐศาสตร์การวิเคราะห์โครงการ. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเศรษฐศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 230 หน้า.
- เจียรชัย อารยางกูร. 2541. ทางเลือก: ลดต้นทุนการผลิต ถั่วเหลือง. ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่, เชียงใหม่. 62 หน้า.
- เจียรชัย อารยางกูร. 2545. การเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชของดินโดยการใส่ปุ๋ยในระบบปลูกพืชข้าว-ถั่วเหลือง. หน้า 74-85. ใน: รายงานการสัมมนา ระบบเกษตรแห่งชาติ ครั้งที่ 2: ระบบเกษตรเพื่อการจัดการทรัพยากรและพัฒนาชนบทเชิงบูรณาการ. ณ โรงแรมโฆษะ, ขอนแก่น. แหล่งข้อมูล: <http://www.mcc.cmu.ac.th/Seminar/pdf/1359.pdf>. สืบค้น: 12 มกราคม 2564.
- นริลักษณ์ วรรณสาย เพ็ญแข นารถไทรภาพ เจียรชัย อารยางกูร พงศ์พันธุ์ จ้อยสุข อำพัน พรหมศิริ และมาลี พึ่งเจริญ. 2535. ผลกระทบของการกำจัดวัชพืชในถั่วเหลืองหลังนาต่อสภาพแวดล้อมในระยะยาว. หน้า 41-49. ใน: รายงานผลการวิจัยประจำปี 2536. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร.
- ภิรมย์ ไสพส จินดา ขลิบทอง และสุนันท์ สีสั่งข์. 2558. การผลิตถั่วเหลืองและความต้องการการส่งเสริมการเกษตรของเกษตรกรในอำเภอสุวรรณภูมิ

- จังหวัดสุโขทัย. การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 12. 8 – 9 ธันวาคม 2558. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. แหล่งข้อมูล: https://kukr.lib.ku.ac.th/kukr_es/KPS/search_detail/download_digital_file/20002085/158847 สืบค้น: 6 มีนาคม 2567.
- ยุวรัตน์ บุญเกษม และปรีชาติ แสงคำเฉลียง. 2565. การวิเคราะห์ต้นทุนและผลตอบแทนจากการผลิตถั่วเหลืองฤดูแล้งในนาข้าวของเกษตรกรในจังหวัดขอนแก่น. วารสารแก่นเกษตร. 50(3): 682-689.
- สถาบันวิจัยพืชไร่. 2547. ถั่วเหลือง. หน้า 73-94. ใน: เอกสารวิชาการการปลูกพืชไร่. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ.
- สมศักดิ์ อธิพิงษ์ และรัชนิ โสภา. 2541. การปลูกและการดูแลรักษาถั่วเหลือง. หน้า 23-38. ใน: เอกสารวิชาการถั่วเหลือง. หจก. ไอเดีย สแควร์. กรุงเทพฯ.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. ถั่วเหลือง: ราคาถั่วเหลืองคละรายเดือนที่เกษตรกรขายได้ที่ไร่นาทั้งประเทศ ปี 2540-2564. แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/assets/portals/1/file/price/monthly_price/soybeans.pdf สืบค้น: 12 มกราคม 2564.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. ถั่วเหลืองรวมรุ่น: เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ระดับประเทศ ภาค และจังหวัด ปีเพาะปลูก 2564/65. แหล่งข้อมูล: <https://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/soybeans%2064.pdf>. สืบค้น: 15 กันยายน 2566.
- สุดชล วุ่นประเสริฐ. 2539. การศึกษาเทคโนโลยีการใช้น้ำอย่างประหยัด และมีประสิทธิภาพในการปลูกถั่วเหลือง. หน้า 35-41. ใน: รายงานประจำปี 2539. ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ สถาบันวิจัยพืชไร่กรมวิชาการเกษตร.
- Anand, D.D., S.M. Sumarjit, L. Jamkhogin, D.N. Surbala and S.N. Gopimohan. 2020. Effect of mulching on growth and yield of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 9(9): 3313-3318.
- Hisani, W. and G.S. Kaimuddin. 2015. Increasing the Production of soybean (*Glycine Max* L.) by using mulch of rice straw and applying POC (liquid organic fertilizer) from seaweed (*Gracilaria* sp.) and cattle's urine. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare. 5 (14): 1-7.
- Kader, M.A., M. Senge, M.A. Mojid and K. Nakamura. 2017. Mulching type-induced soil moisture and temperature regimes and water use efficiency of soybean under rain-fed condition in central Japan. International Soil and Water Conservation Research. 5(4): 302-308.
- Sekhon, N.K., G.S. Hira, A.S. Sidhu and S.S. Thind. 2005. Response of soyabean (*Glycine max*. Mer.) to wheat straw mulching in different cropping seasons. Soil Use and Management. 21: 422-426.

การผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดิน และวัสดุเพาะเห็ด

Enzyme Production of *Trichoderma* spp. Isolated from Soil and Mushroom Spawn

พยุ้งศักดิ์ รวยอารี^{1/*} ทศนาพร ทศกร^{2/}

Payungsak Rauyaree^{1/*} Tassanaporn Tassakorn^{2/}

Received 30 May 2022/Revised 7 Apr. 2023/Accepted 28 Apr. 2023

ABSTRACT

Twenty-nine isolates of *Trichoderma* spp. obtained from soil and mushroom spawn samples during 2019 to 2021 were used to evaluate their degrading-enzymes synthesis efficiency on selective media. Degrading-enzymes synthesis efficiency was done by zone clearing technique and by calculating hydrolysis capacity (HC) value. The results revealed that isolates T-1, T-14 and T-22 showed the highest efficiency to synthesize pectinase, cellulase and amylase enzymes at HC values of 7.73, 7.13 and 5.00 respectively. Isolates T-1, T-14 and T-22 were identified by ITS4 and ITS5 gene sequencing. The results showed that T-1, T-14 and T-22 were *Trichoderma asperellum* (Samuels) Lieckf. & Nirenberg with 100, 99 and 99% identity. T-1 and T-14 were isolated from soil in Photharam, Ratchaburi province and Dan Makham Tia, Kanchanaburi Province respectively. Whereas, T-22 was isolated from mushroom spawn in Damnoen Saduak, Ratchaburi Province.

Keywords: *Trichoderma* spp.; cellulase; pectinase; amylase

^{1/} สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

^{1/} Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, Thanyaburi, Pathum Thani, 12110

^{2/} สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

^{2/} Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Phahonyothin Road., Chatuchak, Bangkok 10900

* Corresponding author: prauyar032@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 29 ไอโซเลท ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน และวัสดุเพาะเห็ด ในปี พ.ศ. 2562-2564 นำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ ด้วยวิธี zone clearing technique และประเมินค่า hydrolysis capacity (HC value) ผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 สามารถสร้างเอนไซม์ เพคติเนส เซลลูเลส และอะไมเลสได้สูงที่สุด มีค่า HC เท่ากับ 7.73 7.13 และ 5.00 ตามลำดับ และสามารถระบุไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 ถึงระดับสปีชีส์ด้วยการหาลำดับเบสโดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS5 และ ITS4 พบว่า ไอโซเลท *Trichoderma* T-1, T-14 และ T-22 คือ เชื้อรา *Trichoderma asperellum* (Samuels) Lieckf. & Nirenberg ที่ระดับความเหมือน 100 99 และ 99% ตามลำดับ โดยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T-1 และ T-14 แยกมาได้จากตัวอย่างดินที่เก็บมาจาก อ. โพธาราม จ. ราชบุรี และ อ. ด่านมะขามเตี้ย จ. กาญจนบุรี ตามลำดับ ส่วน ไอโซเลท T-22 แยกได้จากวัสดุเพาะเห็ด อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี

คำสำคัญ: *Trichoderma* spp.; เซลลูเลส; เพคติเนส; อะไมเลส

บทนำ

วิธีการควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี (biocontrol agents) เป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ และสามารถทดแทนการใช้สารเคมี

ปัจจุบันมีการศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma* ซึ่งเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเจริญแข่งขันกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช เนื่องจากมีการเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว ทศนาพร และคณะ (2550) ได้ทำการแยกเชื้อรา *Trichoderma* จากวัสดุเพาะเห็ด และก้อนเชื้อเห็ดที่ปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดต่าง ๆ เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phomopsis asparagi* บนจานอาหาร PDA ในห้องปฏิบัติการ พบว่า มีประสิทธิภาพดี และสามารถคัดเลือกได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพ ดีจำนวน 18 ไอโซเลท โดยพบว่าทุกไอโซเลท คือ เชื้อรา *T. harzianum* จึงทำการศึกษาต่อในสภาพเรือนทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ไอโซเลท TS29 และ TS31 มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้ได้ดี

เชื้อรา *Trichoderma* สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อรากลุ่มโรคพืชต่าง ๆ ได้แก่ เอนไซม์ต่าง ๆ เช่น เซลลูเลส อะไมเลส เพคติเนส ไลเปส โคติเนส ไซลานเนส แทเนส โพลีกลาแลคโตไรเนส Carbohydrate-Active (CAZymes) โปรตีเอส β -1, 3 กลูคาเนส เป็นต้น (Gajera and Vakharia, 2012; Bech et al., 2015) การผสมเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในดินปลูกข้าวโพด ถั่วลิสง และยาสูบ พบว่า *Trichoderma* spp. สร้างเอนไซม์ประเภท lytic enzymes เป็นปริมาณมาก (Engelberth et al., 2003) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์เซลลูโลส (Do Vale et al., 2014) และ Adorada et al. (2000) รายงานว่า เอนไซม์เพคติเนส ที่เชื้อรา *Trichoderma* สร้างขึ้นสามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora infestans* ได้ เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* สามารถสร้าง cellulose-degrading enzymes ปริมาณมากได้หลายประเภท

ที่มีผลในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืช (Do Vale et al., 2014) นอกจากนี้ Vinale et al. (2014) รายงานในทางเดียวกันว่า เชื้อรา *Trichoderma* สามารถสร้างสารทุติยภูมิที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส เพคตินเอส และอะไมเลส เพื่อนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืชต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเชื้อรา *Trichoderma*

นำเชื้อรา *Trichoderma* จาก culture collections ของกรมวิชาการเกษตร ที่แยกเชื้อได้จากตัวอย่างดินและวัสดุเพาะเห็ดจาก จ. กาญจนบุรี จ. ราชบุรี จ. สุพรรณบุรี และ จ. นครปฐม (ทัศนพร และคณะ, 2550) จำนวน 29 ไอโซเลท นำมาเลี้ยงเพิ่มขยายในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ตามวิธีการของ จีระเดช และวรรณวิไล (2542) โดยนำเส้นใยเชื้อราบริสุทธิ์มาเลี้ยงให้เจริญบนอาหาร PDA จากนั้น นำเชื้อไปแยกเก็บบนอาหารเลี้ยงในหลอดทดลอง เพื่อเก็บรักษาเป็นเชื้อตั้งต้น (stock culture) ที่อุณหภูมิ 4° ซ. สำหรับนำไปใช้ในทดสอบการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส เพคตินเอส และอะไมเลส บนอาหารจำเพาะ (selective media) ต่อไป

2. การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายของเชื้อรา *Trichoderma* ด้วยวิธี zone clearing technique

2.1 ทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูโลส

ทดสอบความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* จำนวน 29 ไอโซเลท ในการสร้างเอนไซม์เซลลูโลส บนอาหารจำเพาะ carboxymethyl cellulose (CMC) โดยใช้ cork borer เจาะชิ้นวุ้นเชื้อราบนจานอาหาร PDA ที่มีการเจริญของเส้นใยแล้วนำชิ้นวุ้นที่เจาะไปวางบนตำแหน่งกลางจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร CMC บ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 72 ชม. จากนั้น เติมสารละลาย 1% congo red ปริมาตร 10 มล. ให้ท่วมหน้าผิวหน้าอาหารและโคโลนีเชื้อราเป็นเวลา 15 นาที แล้วเทออก และล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้น เติมสารละลาย 1M NaCl ปริมาตร 10 มล. เป็นเวลา 15 นาที บันทึกผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใสรอบโคโลนีและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเพื่อคำนวณอัตราส่วนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใสรอบโคโลนีต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (hydrolysis capacity value, HC value) ตามสูตรการคำนวณของ Taechapoempol et al. (2011)

$$HC \text{ value} = \frac{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณวงใส}}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา}}$$

บันทึกค่าคะแนนอัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (clear zone) และโคโลนี ตามวิธีการของ Xu and Yang (2010) และจัดระดับการสร้างเอนไซม์ ดังนี้

- 0 ; ไม่มีการสร้างเอนไซม์
- <1.00; มีการสร้างเอนไซม์น้อย
- 1.01-2.00; มีการสร้างเอนไซม์ปานกลาง
- 2.01-3.00; มีการสร้างเอนไซม์มาก
- >3.01 ขึ้นไป; มีการสร้างเอนไซม์มากที่สุด

2.2 ทดสอบการสร้างเอนไซม์เพคตินเอส

ทดสอบการสร้างเอนไซม์เพคตินเอสบนอาหารจำเพาะ Czapek-Dox agar +1% เพคติน

ตามวิธีการของ Phutela et al. (2005) โดยใช้ cork borer เจาะชิ้นวุ้นบนจานอาหารวุ้น PDA ที่มีการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละไอโซเลท นำชิ้นวุ้นที่เจาะไปวางบนตำแหน่งกลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 72 ชม. จากนั้น เติมสารละลาย iodine-potassium iodide ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 330 มล. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีและเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี คำนวณค่า HC value ตามสูตรเช่นเดียวกับข้อ 2.1

2.3 ทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลส

ทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสบนอาหาร starch agar ตามวิธีการของ เพชรลดา และ กำไล (2556) โดยใช้ cork borer เจาะชิ้นวุ้นบนจานอาหาร PDA ที่มีการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* แต่ละไอโซเลท วางบนตำแหน่งกลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 72 ชม. จากนั้น เติมสารละลาย 3% iodine (w/v) เป็นเวลา 15 นาที จึงเทออก ล้างจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ จากนั้น เติมสารละลาย 1M NaCl ปริมาตร 10 มล. เป็นเวลา 15 นาที วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีและเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี คำนวณค่า HC value ตามสูตรเช่นเดียวกับข้อ 2.1

3. การวิเคราะห์ชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ระดับสปีชีส์โดยการหาลำดับเบสบริเวณ ITS

เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T1-T17 และ ไอโซเลท T22 บนจานอาหารวุ้น PDA เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ระดับสปีชีส์ โดยการหาลำดับเบสตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS)

โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS5 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3' และ ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3' โดยส่งตัวอย่างเชื้อราไปยัง Macrogen company (Korea) เพื่อทำการหาลำดับเบส แล้วทำการเปรียบเทียบผลลำดับเบสที่ได้กับลำดับเบสที่ปรากฏในฐานข้อมูล GenBank ด้วยการใช้โปรแกรม BLAST

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Trichoderma* ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อรา *Trichoderma* จาก culture collections จำนวน 29 ไอโซเลท สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 28° ซ. เป็นเวลา 7 วัน เชื้อแต่ละไอโซเลทมีลักษณะโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน (Figure 1)

2. การสร้างเอนไซม์เซลลูเลส เพคตินเอส และอะไมเลสของเชื้อรา *Trichoderma*

2.1 เอนไซม์เซลลูเลส

เชื้อรา *Trichoderma* สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่ประกอบด้วย carboxymethyl cellulose (CMC) ที่เป็นแหล่งคาร์บอนและสามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดี *Trichoderma* จำนวน 5 จาก 29 ไอโซเลท ให้ค่า HC สูง ได้แก่ T-14, T-18, T-24, T-13, T-17 และ T-23 โดยมีค่า HC 7.13 6.40 6.40 6.13 5.93 และ 5.87 ซม. ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ พิมพ์ชนา และคณะ (2559) ที่รายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และ *T. Inhamatum* สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณสูง

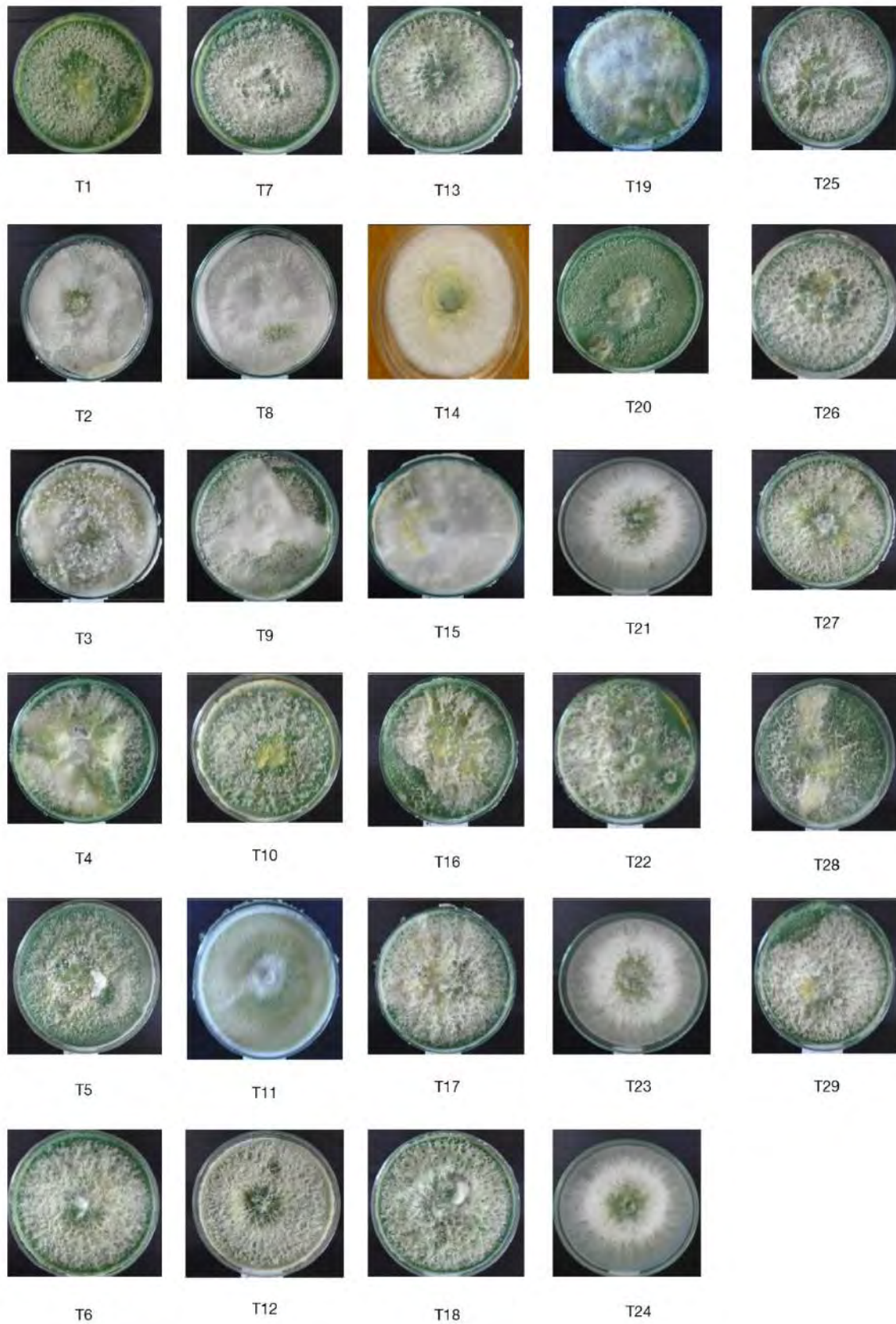


Figure 1 Morphology of *Trichoderma asperellum* colony of 29 isolates (TC-1 to TC-29) on PDA agar after 7 days incubation at 28°C

Table 1 Production in terms of hydrolysis capacity value (HC value) of cellulase, pectinase and amylase enzymes by 29 *Trichoderma* isolates on CMC, Czapek-Dox agar and starch-agar media

<i>Trichoderma</i> Isolate	HC value (cm.)		
	Cellulase	Pectinase	Amylase
T-1	2.23 fgh ^{1/}	7.73 a^{1/}	2.33 ghi ^{1/}
T-2	2.36 hi	6.40 abc	2.67 e-i
T-3	4.10 efg	5.60 bc	3.10 d-h
T-4	1.90 ghi	6.70 ab	2.67 e-i
T-5	1.30 i	1.35 e	2.40 f-i
T-6	2.23 hi	6.67 ab	2.83 d-h
T-7	1.83 hi	6.67 ab	2.33 ghi
T-8	2.83 ghi	6.50 abc	2.60 e-i-
T-9	4.60 c-f	1.35 e	1.82 hi
T-10	1.87 hi	5.27 cd	2.33 ghi
T-11	4.97 b-f	4.00 d	3.90 a-e
T-12	5.77 a-e	6.53 abc	3.07 d-h
T-13	6.13 abc	6.17 bc	3.50 b-g
T-14	7.13 a	6.50 abc	1.25 i
T-15	5.23 b-e	4.00 d	1.83 hi
T-16	5.43 b-e	5.40 bc	3.33 c-g
T-17	5.93 a-d	5.67 bc	4.87 ab
T-18	6.40 ab	1.35 e	4.70 abc
T-19	4.33 d-g	1.35 e	2.67 e-i
T-20	4.83 b-f	4.00 d	4.17 a-d
T-21	4.90 b-f	5.83 bc	4.67 abc
T-22	5.77 a-e	6.27 bc	5.00 a
T-23	5.87 a-d	6.60 abc	3.50 b-g
T-24	6.40 ab	6.63 abc	4.83 ab
T-25	5.73 a-e	6.37 bc	4.93 a
T-26	5.00 b-f	6.50 abc	4.10 a-d
T-27	2.40 hi	6.67 ab	4.93 a
T-28	5.80 a-e	6.17 bc	4.13 a-d
T-29	5.17 b-e	6.70 ab	3.77 a-f

^{1/} Means in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Note: T-1, T-14 and T-22 are *Trichoderma asperellum*

2.2 เอนไซม์เพคตินเนส

เชื้อราสามารถเจริญได้ในอาหารที่ประกอบด้วยเพคตินเป็นแหล่งคาร์บอนและมีการสร้างเอนไซม์เพคตินเนส จากการศึกษาพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ที่ให้ผลการเกิดวงใสรอบโคโลนี มากที่สุด 5 อันดับ ได้แก่ T-1, T-23, T-27 และ T-29 และ มีค่า HC 7.73 6.60 6.67 และ 6.70 ซม. ตามลำดับ (Table 1) เพชรลดา และ กำไล (2556) รายงานว่า การสร้างเอนไซม์สังเกตุได้จากวงใสรอบโคโลนีเมื่อทดสอบด้วยสีย้อมสารละลาย iodine-potassium iodide เนื่องจาก เชื้อราสร้างเอนไซม์มาย่อยเพคตินบริเวณรอบโคโลนีจึงไม่ติดสีย้อม Adorada et al. (2000) รายงานว่า เอนไซม์เพคตินเนส สามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora infestans*

2.3 เอนไซม์อะไมเลส

การสร้างเอนไซม์อะไมเลส เชื้อราสามารถเจริญได้ในอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง (starch) เป็นแหล่งคาร์บอน และมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลส เชื้อรา *Trichoderma* ที่ให้ผลการเกิดวงใสรอบโคโลนี มากที่สุด 5 อันดับ ได้แก่ T-22, T-27, T-25, T-17 และ T24 ที่ค่า HC 5.00 4.93 4.93 4.87 และ 4.83 ซม. ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งสังเกตุได้จากวงใสรอบโคโลนีเมื่อทดสอบด้วยสารละลาย 3% ไอโอดีน เชื้อราสร้างเอนไซม์มาย่อยแป้ง แต่บริเวณรอบโคโลนีจะไม่ติดสีย้อมไอโอดีน (เพชรลดา และ กำไล, 2556)

6. การวิเคราะห์ *Trichoderma* ในระดับสปีชีส์

การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Trichoderma* จำนวน 18 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท T1-T17 และไอโซเลท T22 ถึงระดับสปีชีส์ด้วยการหาลำดับเบสบริเวณ ITS โดยใช้คู่

ไพรเมอร์ ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3' และ ITS5 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3' และเปรียบเทียบผลการหาลำดับเบสด้วยโปรแกรม BLAST พบว่า สปีชีส์ของเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 มีความเหมือนกับ *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf & Nirenberg ที่ระดับความเหมือน 100 99 และ 99% ที่ค่าทางสถิติ E-value เท่ากับ 0.0 ดังนั้น *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 คือ *Trichoderma asperellum* Wu et al. (2017) รายงานว่า เชื้อราสายพันธุ์ใหม่ *Trichoderma asperellum* GDFS1009 เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพและมีคุณสมบัติต่อการเป็นปรสิตต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น โรคเหี่ยวในแตงกวา และโรคฝักและเมล็ดข้าวโพดเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* Owen เช่นเดียวกับการศึกษาการใช้ *Trichoderma asperellum* ในการควบคุมโรคเน่าดำในกล้วยไม้ ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. (กัญชลิทา และคณะ, 2562)

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูเลส เพคตินเนส และอะไมเลสของรา *Trichoderma* sp. จำนวน 29 ไอโซเลท ด้วยวิธี zone clearing technique พบว่า รา *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 มี HC value เฉลี่ยสูงสุดของเอนไซม์เซลลูเลส เพคตินเนส และอะไมเลส 7.13 7.73 และ 5.00 ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ระดับสปีชีส์ พบว่า *Trichoderma* ไอโซเลท T-1, T-14 และ T-22 คือ *Trichoderma asperellum* โดยไอโซเลท T-1 และ T-14 ที่แยกได้จากดิน ส่วนไอโซเลท T-22 แยกได้จากวัสดุเพาะเห็ด ซึ่งสามารถ

นำไปขยายผลในการผลิตเอ็นไซม์เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคพืชต่อไปได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายไกรสร ตาวงศ์ นักวิชาการสถิติ กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และนายอนุชา สุขสงวาลย์ นักวิชาการเกษตร กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือจัดเตรียมอุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีในงานทดลอง และเก็บบันทึกข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

กัญชลิกา รัตนเชตฉาย ทวีทรัพย์ ไชยรักษ์ และณัฐชัย จันทชุม. 2562. การทดสอบใช้เชื้อราและสารสกัดจากเชื้อรา *Trichoderma asperellum* ในการต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคเน่าดำของกล้วยไม้. วารสารเกษตรพระวรุณ. 16(1): 204-211.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2542. การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช. โครงการเกษตรสู่ชาติมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภาควิชาโรคพืช วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. 90 หน้า.

ทัศนพร ทัศคร อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และธารทิพย์ ภาสบุตร. 2550. ศึกษาผลการใช้วัสดุเพาะเห็ดร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่ง. หน้า 366-378. ใน: รายงานผลวิจัยประจำปี 2550 เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

พิมพ์ชนา วงศ์พิศาล พรศิลป์ สีเผือก ชัยสิทธิ์ ปรีชา และวุฒิชัย สีเผือก. 2559. การคัดเลือกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสจากซากใบปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.). แก่นเกษตร. 44(พิเศษ 1): 948-952.

เพชรลดา ปั่นหย้า และกำไล เลหาพัฒนาเลิศ. 2556. การคัดกรองและคัดแยกจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสอะไมเลส และเพคติเนสจากกากมันสำปะหลังสด. หน้า 175-180. ใน: การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2556.

Adorada, D. L. , C. L. Biles, C. M. Liddell, S. Fernandez-Pavia, K. O. Waugh and M. E. Waugh. 2000. Disease development and enhanced susceptibility of wounded pepper roots to *Phytophthora capsici*. Plant Pathology. 49: 719-726.

Bech, L., P.K. Busk and L. Lange. 2015. Cell wall degrading enzymes in *Trichoderma asperellum* grown on wheat bran. Fungal Genomics and Biology. 4(1):1-10.

Do Vale, L.H.F., E.X.F. Filho, R.N.G. Miller, C.A.O. Ricart, M.V. de Sousa, V.K. Gubta, M. Schmoll, A. Herrera-Estrella, R.S. Upadhyay, I. Druzhinina and M.G. Tuohy. 2014. Cellulase systems in *Trichoderma*: An Overview. pp. 299-244. In: Biotechnology and Biology of *Trichoderma*. Elsevier. Amsterdam.

Engelberth, J., E.A. Schmelz, H.T. Alborn, Y.J. Cardoza, J. Huang and J.H. Tumlinson. 2003. Simultaneous quantification of jasmonic acid and salicylic acid in plants by vapor-phase extraction and gas chromatography-chemical ionization-mass spectrometry. Analytical Biochemistry. 312: 242-250.

Gajera, H.P. and D.N. Vakharia. 2012. Production of lytic enzymes by *Trichoderma* isolates during in vitro antagonism with *Aspergillus Niger*, the causal agent of collar rot of peanut. Brazilian Journal of Microbiology. 43(1): 43-52.

- Phutela, U., V. Dhuna, S. Sandhu and B.S. Chadha. 2005. Pectinase and polygalacturonase production by a thermophilic *Aspergillus fumigatus* isolated from decomposing orange peels. *Brazilian Journal of Microbiology*. 36: 63-69.
- Taechapoempol, K., T. Sreethawong, P. Rangsunvigit, W. Namprom, B. Thamprajamchit, S. Rengpipat and S. Chavadej. 2011. Cellulase-producing bacteria from Thai higher termites, *Microcerotermes* sp.: enzymatic activities and ionic liquid tolerance. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 164(2): 204-19.
- Vinale, F., K. Sivasithamparam, E.L. Ghisalbert, R. Marra, S.L. Woo and M. Lorito. 2014. *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal*. 8 (Suppl-1, M5): 127-139.
- Wu, Q., R. Sun, M. Ni, J. Yu, Y. Li, C. Yu, K. Dou, J. Ren and J. Chen. 2017. Identification of a novel fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS1009, and comprehensive evaluation of its biocontrol efficacy. *PloS One*. 12(6): e0179957.
- Xu, J., and Q. Yang. 2010. Isolation and characterization of rice straw degrading *Streptomyces griseorubens* C5. *Biodegradation*. 21(1): 107-116.

Genome Wide Association Study (GWAS) for Southern Corn Rust (SCR) Disease Resistance in Maize

Nay Nay Oo^{1/} Vinitchan Ruanjaichon^{2/} Kularb Laosatit^{3/} Theerayut Toojinda^{2/} Jintana Unartngam^{4/*}

Received 31 Jul. 2023/Revised 8 Oct. 2023/Accepted 21 Oct. 2023

ABSTRACT

Southern corn rust (SCR), caused by *Puccinia polysora* Undrew, is one of the most important maize diseases threatening maize production. Growing resistant varieties is the most practical and cost-effective approach to controlling the disease. Identification of resistance genes would help in the development of high-yielding resistant maize hybrids. Genome-wide association studies (GWAS) can efficiently reveal genomic loci associated with the desired phenotypic traits. In this study, the phenotypes of 262 maize recombinant inbreds against two isolates of SCR disease, namely, Nakhon Pathom and Chiang Mai, were investigated. Using 434,871 single nucleotide polymorphism (SNP) markers obtained from the maize SNP 600K genotyping array, GWAS was performed with the Fixed and random model Circulating Probability Unification (FarmCPU) model. The results showed that 19 SNPs distributed on chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 9 and 10 were significantly associated with resistance to SCR disease. As a result, 19 quantitative trait loci (QTL)s and 36 candidate genes were identified. In addition, the three major QTLs/SNP loci which included AX-90915192 on chromosome 4, AX-91151225 on chromosome 9 and AX-91648757 on chromosome 5, could distinguish the disease-resistant from disease-susceptible lines. These identified SNPs and genes provide useful information for cloning genes and understanding disease resistance mechanisms to SCR, and can be used in marker-assisted breeding programs to develop SCR resistant maize.

Keywords: Genome-wide association study (GWAS); *Puccinia polysora*; Southern corn rust (SCR); single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping array

^{1/} Program in Agricultural Sciences, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{2/} National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), 632113 Thailand Science Park, Phahonyothin Road, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120, Thailand

^{3/} Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{4/} Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

* Corresponding author: agrjne@ku.ac.th

INTRODUCTION

Maize rust caused by *Puccinia* spp., is considered the most persistent and destructive maize disease. In Thailand, the rust disease in different regions, as identified by its morphology and molecular markers was southern corn rust (SCR) caused by *P. polysora* Undrew, (Unartngam et al., 2011). The SCR is an obligate parasite that damages the entire corn plant. Symptoms first appear on the leaves and spread to the entire plant at maturity, resulting in leaf necrosis and complete destruction of photosynthetic areas until the plant eventually dies (Cammack, 1958). Yield losses caused by SCR can be as high as 45-50% with destruction being greatest in late season corn planting (Raid et al., 1988).

The use of resistant varieties is the most practical and cost-effective approach to control yield loss from SCR disease. To obtain a genotype with a high degree of resistance to SCR for breeding program, knowledge of the gene activity involved in the expression of the resistance response in the plant materials is a prerequisite. The main obstacle in using the conventional selection process to identify genotype with SCR resistance is the difficulty in selecting the right genes expressed in their morphological or agronomic traits for selection (Ashkani et al., 2015). Using molecular markers associated with SCR resistance could be a

more convenient and time-saving approach for the selection of resistance genotypes. The mapping of quantitative trait loci (QTL) is the method that allows the discovery, localization, and characterization of genetic factors that contribute to polygenically inherited variation (Young, 1996). Researchers investigated the inheritance of resistance to SCR (Lv et al., 2021; Wanlayaporn et al., 2013) and suggested that the resistance mechanism is complex and polygenic.

Genome-wide association studies (GWAS) is an efficient approach to discover genomic loci associated with phenotypic traits (Ma et al., 2019). They involved high-resolution genome coverage using single nucleotide polymorphism markers (SNPs), and are the most recent approach for identifying natural variation and mapping chromosomal regions associated with traits of interest in plants, including maize (Elshire et al., 2011). GWAS utilizes different sets of inbred lines and provides a way to accurately locate QTLs for quantitative traits and identify candidate genes (Olukolu et al., 2016). Genetic studies of rust disease resistance in maize using GWAS were reported from the USA, Brazil and China (Olukolu et al., 2016; de Souza Camacho et al., 2019; Zhou et al., 2018). However, the maize germplasm of Thailand and Myanmar has less genetic information about SCR resistance for breeding programs

to develop resistant varieties. Therefore, the objective of this study was to identify the genomic regions and candidate genes associated with SCR disease resistance of maize by using SNPs markers in tropically adapted maize germplasm in Thailand.

MATERIALS AND METHODS

Phenotypic evaluation for SCR disease

In this study, 262 varieties and different recombinant inbred lines (RILs) of Thailand and Myanmar were evaluated. Of the 262 RILs, 188 lines were developed by the Department of Plant Science and Agricultural Resources of Khon Kaen University, 41 by Chai Nat Field Crop Research Center of the Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, 13 by Rajamangala University of Technology Lanna Lampang, 19 by Myanmar Agricultural Research Department, and Hybrix-3. Of 262 varieties, 71 were sweet corn, 168 were waxy corn and 23 were field corn. In these studies, Hybrix-3 was used as the susceptible and Ki-60 as the resistant controls for SCR.

Experiments were conducted using a randomized complete block design (RCBD) with three replicates. Disease screening was conducted 14 days after planting of the maize lines using two inoculum sources from Nakhon Pathom and Chiang Mai. For inoculation, the rust infected leaves were collected from the infected fields and the

uredospores were obtained by washing. Then, the uredospores were filtrated with Whatman filter paper No. 1. The filter paper containing the ureodospores was cut into 3-5 mm pieces. After that, the paper pieces were placed on two leaves of each plant. One night after inoculation, they were removed from the plants.

Twenty-one days after inoculation, the severity of the disease was recorded by using a score (0-3); where 0=no symptom, 1=pustules or uredospores 1-25% of leaf area, small pustules that did not erupt, and no further development of pustules, 2=pustules or uredospores 25-50% of leaf area, <1 times development of pustules and 3=pustules or uredospores >50% of leaf area, erupted pustules, further development of pustules, and spread across leaves. Then, percent disease index (PDI) for SCR disease was calculated. Subsequently, the phenotypes of the tested lines were evaluated as a function of PDI as 0: Highly resistant (HR), 1-10: Resistant (R), 11-25: Moderately resistant (MR), 26-50: Moderately susceptible (MS), 51-75: Susceptible (S) and 76-100: Highly susceptible (HS) (Unartngam, 2019).

Statistical analyses

The phenotypic data from all trials were analyzed using the R program (R Core Team, 2018). Comparison of means was performed at the 5% level of least significant

difference (LSD). Estimates of variance components σ^2_G (genotypic variance), σ^2_{ge} (G x E) (interaction variance), and σ^2_e (error variance) of the tested varieties were computed and the broad-sense heritability (h^2) was calculated using the following formula (Hallauer and Miranda, 1981).

$$h^2 = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + (\sigma^2_{ge}/e) + (\sigma^2_e/re))$$

Maize array genotyping and SNP calling

Genomic DNA was extracted using the magnetic bead method (Xin and Chen, 2012). Five plants per sample were pooled and used for DNA extraction. The pooled panel of 262 maize inbred lines was genotyped using the Axiom™ maize 600 K genotyping array with 616,201 variants (Thermo Fisher Scientific). To determine the quality of the data, quality control (Q.C.) was performed with a call rate of 90% (517,293 SNPs) (Axiom genomic suit). Subsequently, SNP markers with more than 10% missing data, 20% heterozygosity, less than 5% minor allele frequency (MAF) were excluded from the data set to obtain only bi-allelic sites (434,871 SNPs). These SNPs were used for GWAS analysis.

PCA and linkage disequilibrium analysis

Principal component analysis (PCA) was also performed to determine the relationship between samples using the software TASSEL (Bradbury et al., 2007),

removing SNPs with minor allele frequencies (MAFs) of 5% and limiting the number of components to three. Linkage disequilibrium (LD) of all SNP pairs on each chromosome was determined using the PopLDdecay (<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty875>), with the following parameters: MAF>5%; Hardy-Weinberg *P*-value cut-off, 0; and percentage of genotyped lines >0.75. In addition, SNPs with high LD were pruned using the in-depth-pairwise function implemented in PLINK (SNP window size: 50, shifted SNPs per step: 10, r^2 thresholds: 0.1) (Niu et al., 2019) resulting in 160,991 SNP markers. This set of SNPs was used for population structure analysis using STRUCTURE (Evanno et al., 2005).

Genome-wide association analysis and candidate genes association analysis

A genome-wide association study (GWAS) was then performed using GAPIT (Genomic Association and Prediction Integrated Tool) (Lipka et al., 2012) in R program (R Core Team, 2018). The *P* values of testing markers and the associated markers were unified at each interaction. The threshold for a significant association was set based on the Bonferroni correction level of *P*-value ($P < 1/n$; n = total markers used). To determine the amount of variance explained by each significant SNP, an analysis of variance was performed for each significant

SNP and the ratio between mean square of each SNP by error mean square was used to represent the variance percentage explained (Rossi et al., 2020). Single regression analysis in R program (R Core Team, 2018) was performed.

The available reference genome sequence of maize (B73) was used to identify candidate genes. SNP probe sequences of ~150 bp on Axiom[®] Maize 600K Genotyping Array (Thermo Fisher Scientific) were used as queries in a BLAST algorithm-based search against the reference genome sequence in MaizeGDB (<http://www.maizegdb.org/gbrowse>). The 200 bp source sequences of each significant SNP was used for BLAST against the ZmB73_RefGen_v4 genome sequence in MaizeGDB (Portwood et al., 2019). Within the local LD block of significant SNPs, the annotated genes that are likely involved in disease resistance were identified as the putative candidate genes.

RESULTS AND DISCUSSION

Phenotypic evaluation for SCR disease

Resistance to southern corn rust was evaluated using two isolates from Nakhon Pathom and Chiang Mai. The tested lines differed significantly in their phenotypic response depending on their percent disease indices (PDI) ($p < 0.01$) for both isolates. According to the results, the isolate from

Nakhon Pathom showed a stronger response to the tested lines than the isolate from Chiang Mai. However, Pearson correlation analysis showed a correlation between these isolates ($p \leq 0.05$), and the performance of the tested lines was not too different from these isolates (Table 1). It can be assumed that the pathogenicity of these isolates was not different and the tested varieties showed similar responses against these two isolates of SCR disease. The broad-sense heritability (h^2) was very low at 11.68%. This could be due to the fact that different isolates of the disease were used in these trials. The estimated heritability was low when the experiments were conducted in different environments (Brito et al., 2001). The low heritability implies that a great effort must be made in a breeding program to accumulate a large number of resistance alleles in the germplasm. However, because the probability of selecting superior genotypes (i.e. inbreds) is low, marker assisted selection (MAS) offers a strategy that could increase selection gain.

PDI from SCR against the two isolates ranged from 0-86.67% and 0-53.33% for Nakhon Pathom and Chiang Mai, respectively. The histogram for both isolates showed that most of the tested lines fell into the resistance class (Figure 1). For the isolate from Nakhon Pathom, 76 lines showed a highly resistant reaction, 54 were resistant, 53 were moderately resistant, 53 were

moderately susceptible, 21 were susceptible and 5 were highly susceptible. There was no highly susceptible line for the isolate from Chiang Mai. A total of 125 lines showed highly resistant reactions, 26 showed resistant, 70 showed moderately resistant, 39 showed moderately susceptible and only 2 lines showed susceptible reactions. The Ki-60, resistance check, showed high resistance to the isolate from Nakhon Pathom and moderately resistant to the isolate from Chiang Mai. Against the isolate from Nakhon Pathom, the commercial maize line Hybrix-3

showed moderate resistance, while it showed high resistance against the isolate from Chiang Mai (Figure 1). The population panel used in this study included tropical maize cultivars of waxy corn, sweet corn, and field corn, and association mapping was used to investigate the genetics of maize resistance to the disease SCR. The phenotypic responses of most RILs were resistance to the two isolates of SCR disease. These resistant lines can be used as the resistant source for the breeding program to develop SCR resistant varieties.

Table 1 Phenotypic variation for percent disease index (PDI) of SCR disease in 262 recombinant inbred lines of maize based on two inoculum sources (NP and CM)

Trait	Isolate	MEAN	MIN	MAX	SD	LSD _(0.05)	CV%	<i>P</i>
SCR	NP	19.17**	0	86.66	21.36	17.72	104.39	0.32**
	CM	10.41**	0	53.33	12.74	21.09	214.09	

SCR: Southern corn rust, NP: Nakhon Pathom, CM: Chiang Mai, MEAN: average, MIN: minimum, MAX: maximum, SD: standard deviation, *P*: Pearson correlation, **highly significant difference, CV: coefficient of variation, LSD: Least significant difference

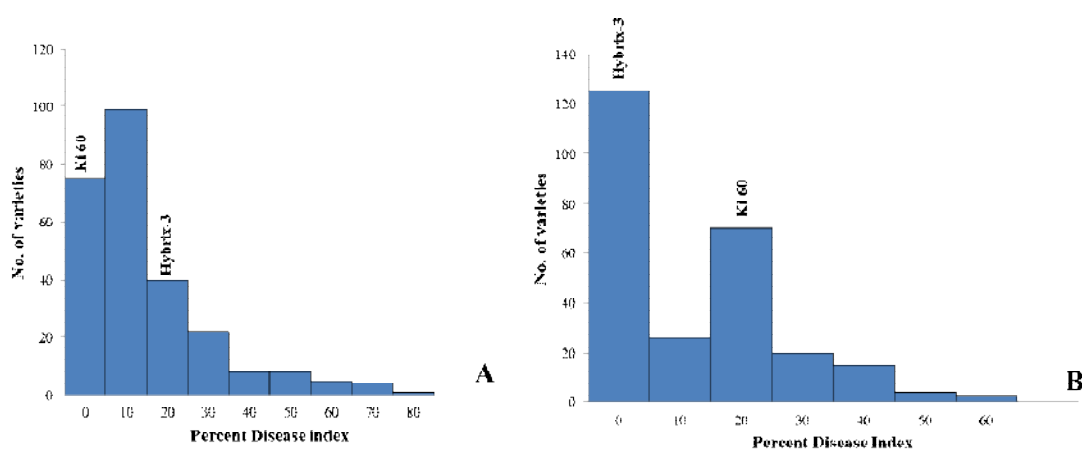


Figure 1 Frequency distribution of phenotypic variation in resistance to SCR. Frequency distribution of resistance to isolates from Nakhon Pathom (A) and Chiang Mai (B)

PCA and LD decay analysis

The genotype obtained from the high-density maize SNP array was analysed in a set of 262 maize lines using principal component analysis (PCA). Based on the genotyping of 434,871 SNPs from 262 maize lines after filtering with the parameters mentioned in materials and methods, PCA (total PCs=3) of all the genotype data was performed using the software PLINK. PC1 and PC2 explained most of the variation (16.6 and 12.1%, respectively) and were selected for visualization. Significant clusters were observed for corn

type, sweet corn, waxy corn, and field corn.

The average heterozygosity was 11.48 and ranged from 2.27 to 28.41. For linkage disequilibrium (LD) decay analysis, all 434,871 filtered SNPs were used as input data for calculating the genome-wide LD in the associated panel. The total LD decay in the genome of the 262 maize associated panel was 206 Kb at a cut-off $r^2 = 0.1$, so a 200 kb region flanking the left and right sides of an SNP was defined as a QTL (Figure 2). At a cut-off of $r^2 = 0.2$, the mean length of LD decay rapidly decreased to 48 kb.

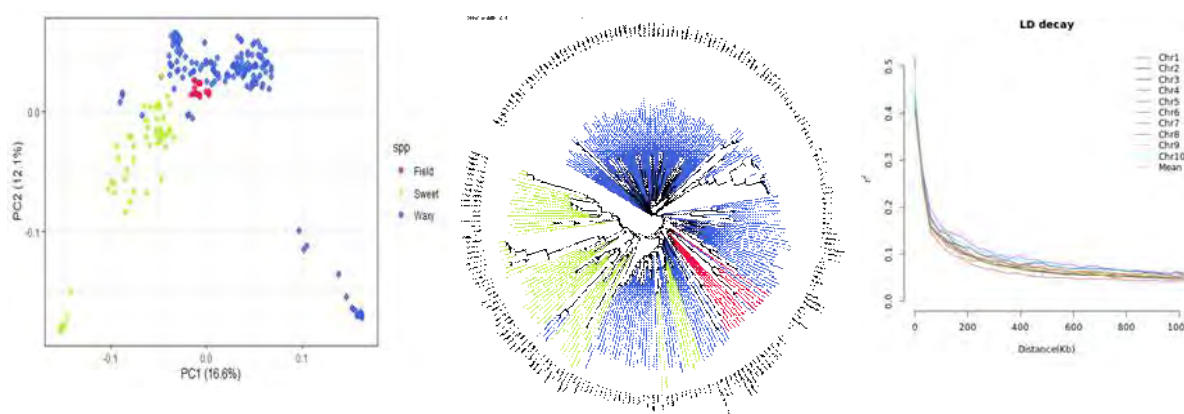


Figure 2 Principle component analysis of 262 recombinant inbred lines (RILs) of maize based on 434,871 SNP markers (A); Clustering of 262 RILs based on 434,871 SNP markers (B); LD, r^2 values versus physical distance (Mb) between all SNP pairs on the same chromosome (C). The total LD decay in the genome of 262 maize-associated panels using 434,871 SNP markers was 206 Kb at a cut-off $r^2 = 0.1$. At a cut-off of $r^2 = 0.2$, the mean length of LD decay rapidly decreased to 48 kb

GWAS analysis for marker trait associations

The responses of recombinant inbred lines against SCR disease were investigated

and the QTLs associated with resistance to this disease were revealed by GWAS. GWAS utilizes different sets of inbred lines and provides a way to accurately locate QTLs for

quantitative traits and identify candidate genes (Olukolu et al., 2016). Association mapping was performed using Fixed and random model Circulating Probability Unification (FarmCPU) method incorporating population structure (PCA) and relatedness (kinship) within the tested panel, using 434,871 SNPs with rare alleles (MAF < 5%). Based on the results presented in Mahantian plots and quantile-quantile (QQ) plots (Figure 3), the significant SNPs were observed at a Bonferroni correction of $P \leq 2.29 \times 10^{-6}$ ($P < 1/n$; n = total markers used).

In this study, the phenotypic data of two isolates, (Nakhon Pathom and Chiang Mai) of SCR disease were also used for GWAS with 434871 SNP markers. A total of 19 SNPs, 10 significant SNPs for Nakhon Pathom isolate and 9 significant SNPs for the Chiang Mai isolate, were identified with the SCR disease resistance (Table 2). The highest explained phenotypic variance (PVE) of these SNPs was 12%. For the isolate from Nakhon Pathom, the significant SNPs markers were identified on chromosome 1, 2, 3, 4, 5, 9 and 10. The most significant marker, S1_211766821, was

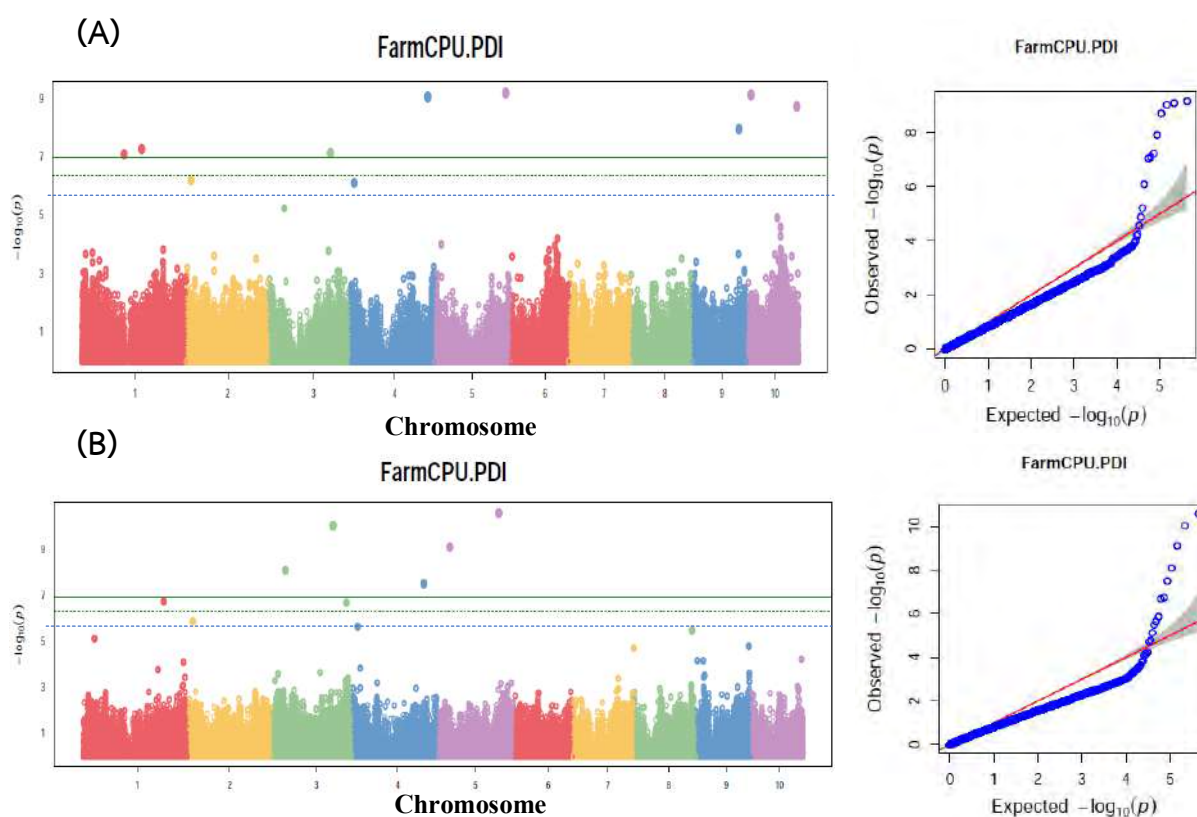


Figure 3 Manhattan plots and QQ plots from SNP-based GWAS for percent disease index (PDI) of rust disease, isolate Nakhon Pathom (A) and isolate Chiang Mai (B). The GWAS identified the most significant SNP markers that reached $p \leq 2.29 \times 10^{-6}$ (Bonferroni threshold=5.6) are listed using the FarmCPU model. The X axis indicates the physically mapped chromosomes. The Y axis indicates the significance calculated by $-\log_{10}(P)$

found on chromosome 5 and had *P*-value of 6.78×10^{-10} and a MAF of 0.02. For the Chiang Mai isolate, a total of nine significant SNP markers were identified on chromosome 1, 2, 3, 4 and 5. They included one SNP each on chromosomes 1 and 2, 2 SNPs each on chromosome 4 and 5 and 3 SNP markers on chromosome 3. The most significant associated SNP, S5_179463254, was found on chromosome 5; this SNP had a *P*-value of 2.68×10^{-11} and an

MAF of 0.08.

For SCR disease, 19 highly significant associated SNPs were detected on chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 9, and 10 for isolates from Nakhon Pathom and Chiang Mai. This result suggests that resistance to SCR disease is quantitatively inherited and controlled by many genes. Quantitative trait loci (QTL) conferring partial resistance to SCR were found on chromosomes 3 and 4 (Holland

Table 2 SNP markers associated with the trait of SCR disease resistant and their chromosomal location in 262 maize RILs by SNP-based GWAS

Trait	SNP Position(V4)	SNP Name	Chr	P-value	Allele	MAF	R ²
NP	S5_211766821	AX-90974807	5	6.78×10^{-10}	C/T	0.02	1.20
	S10_13757681	AX-91809638	10	7.86×10^{-10}	T/C	0.10	12.0
	S4_227597917	AX-90915192	4	9.22×10^{-10}	C/T	0.35	3.80
	S10_145635671	AX-91451802	10	1.93×10^{-9}	C/T	0.05	2.80
	S9_138444899	AX-91151225	9	1.22×10^{-8}	C/T	0.30	0.50
	S1_174752484	AX-91426201	1	5.78×10^{-8}	T/C	0.16	0.01
	S3_178254806	AX-91411063	3	7.81×10^{-8}	A/G	0.23	10.3
	S1_124668841	AX-90682835	1	8.68×10^{-8}	G/A	0.27	0.10
	S2_13599625	AX-90577822	2	6.55×10^{-7}	A/G	0.16	2.00
	S4_13128859	AX-90858848	4	8.02×10^{-7}	C/T	0.04	1.40
CM	S5_179463254	AX-90966401	5	2.68×10^{-11}	G/C	0.08	0.30
	S3_178600050	AX-90630900	3	9.39×10^{-11}	G/A	0.19	0.20
	S5_37538103	AX-91648757	5	8.02×10^{-10}	G/A	0.20	0.01
	S3_38803403	AX-91847440	3	8.16×10^{-9}	A/G	0.38	0.00
	S4_208062434	AX-91634643	4	3.18×10^{-8}	C/-	0.17	8.40
	S1_233445080	AX-90710167	1	1.87×10^{-7}	C/A	0.49	1.10
	S3_218037573	AX-91593556	3	2.09×10^{-7}	C/T	0.40	0.20
	S2_11930489	AX-91437579	2	1.39×10^{-6}	T/C	0.14	1.40
	S4_14738387	AX-90859313	4	2.30×10^{-6}	G/A	0.46	0.70

NP: Nakhon Pathom, CM: Chiang Mai, SNP: Single nucleotide polymorphism,
Chr: Chromosome, MAF: Minor allele frequency, R²: Phenotypic variance explained

et al., 1998); 3, 4 and 9 (Jiang et al., 1999); 9 (Brunelli et al., 2002); 4, 8, 9 and 10 (Jines et al., 2007); 6 (Brewbaker et al., 2011); 1, 2, 5, 6, 9 and 10 (Wanlayaporn et al., 2013); 6, 9 and 10 (Lv et al., 2021) by biparental QTL mapping and on chromosomes 4, 8, 9 and 10 (de Souza Camacho et al., 2019); 4, 8 and 10 (Zhou et al., 2018) by GWAS analysis. Lv et al. (2021) identified 3 QTLs expressing resistance to SCR on chromosomes 6, 9, and 10 with an explained phenotypic variation of 43-78% PVE using 138 of recombinant inbred lines derived from CML496 (SCR-resistant) and Lx9801 (SCR-susceptible) and 9.4K SNP genotyping array marker platform. The significant SNPs in this study were found on 7 chromosomes as in the previous different studies; however, the positions of these SNP were different. So, all SNP found in this study may be the novel ones.

Zhou et al. (2018) performed GWAS using the SNP3K bead chip for maize and identified 7 QTLs conferring SCR resistance on chromosomes 4, 8, and 10 with PVE% ranging from 4.72-6.71%. Eight SNPs significantly associated with SCR resistance were observed on the seven chromosomes, 4, 5, 6, 7, 8, 9, and 10 by GWAS (de Souza Camacho et al., 2019). In this study, the phenotypic explanatory value of the significant SNPs for the disease SCR was also very low. The highest PVE% was 12% for the disease SCR. This result suggests that MAS alone is not recommended

for routine use (Knapp, 1998). The best scheme should be the combination of MAS with conventional selection methods (ie: repeated selection) (Brito et al., 2001).

Candidate genes analysis

Version 4 of the B73 inbred line (RefGen_v4) available on MaizeGDB, was used to identify a candidate gene. A 200 kb radius around each SNP was searched for related genes involved in resistance to SCR. As a result, 19 QTLs were identified and 37 candidate genes encoding proteins related to the plant protection mechanism were selected for the rust isolates from Nakhon Pathom and Chiang Mai. However, the candidate genes linked to plant protection mechanism could not be identified in QTL_1.2_ AX-90682835 and the QTL_3.2_ AX-91847440. And then, the SNP markers on chromosome 3, AX-91411063 and AX-90630900, were located on the same gene, Zm00001d04270, therefore 36 candidate genes were identified.

On chromosome 1, the significant SNPs were located in 3 candidate genes annotating F-box domain containing protein expressed, Patatin-like protein 6, LysM domain containing protein. The significant SNPs on chromosome 2 were located in 6 genes encoding binding partner of ACD11 1, myb domain protein 58, NDR1/HIN1-like 8, S-norcochlorine synthase, MYB-related-

transcription factor 36 and 60S ribosomal protein L7-2. The associated SNPs on chromosome 3 were located in 9 genes, ethylene-responsive transcription factor ABR1, G-box-binding factor 4, histone H3, E3 ubiquitin-protein ligase PUB23, BTB/POZ domain-containing protein, GDSL esterase/lipase, phospholipase A1-II gamma and alpha/beta-hydrolases superfamily protein. The significant SNPs on chromosome 4 were in 7 genes containing F-box/kelch-repeat protein, AGP16, chitinase 2 and disease resistance protein RPM1. On chromosome 5, the associated SNPs were located in 6 candidate genes encoding peroxidase 65, Rho-related protein from plants 1, protease Do-like 9, probable protein kinase, E3 ubiquitin-protein ligase ATL6 and myosin-15. The SNPs on chromosome 9 were located in the gene encoding a TPR (Tetratricopeptide repeat) superfamily protein associated with abiotic stresses. TPR proteins, which mediate protein-protein interactions, assemble as multiprotein complexes to defend against external stresses (Cervený et al., 2013). On chromosome 10, the detected SNPs were located in 3 genes encoding soluble epoxide hydrolase, auxin response factor 2 and alpha/beta-hydrolases superfamily protein. Alpha/beta-Hydrolases superfamily protein, ABHs support a variety of unique catalytic functions for defense and hormone regulation. ABH esterase regulates the response of

salicylic acid in plants, which is a key hormone to plant immune responses (Mindrebo et. al., 2016). Subsequently, single candidate gene regions were found to contain significantly associated SNPs in the two isolates of SCR. The number of significant SNPs on candidate genes ranged from 19 to 128, and the phenotypic variance explained by these SNPs ($R^2\%$) ranged from 1.51% and 9.96%.

To verify whether these loci are associated with disease resistance of SCR, allelic variation of significant SNP loci studies in GWAS was analysed by examining the genotypes of five resistant lines (Bio 18-50, Bio 18-53, Bio 18-56, Bio 18-62 and Bio 18-64) and five susceptible lines (13A-2, C.13-1 White-3, DRW-12, 13A-5 and DRW-29) against Nakhon Pathom isolate and five resistant lines (Bio 18-56, Bio 18-59, Bio 18-64, 2A-3 and 2A-4-1) and five susceptible lines (DRW-6, 12A-2, 13A-1, DRW-29 and DRY-9) against Chiang Mai isolate. For disease resistance SCR, only 3 QTLs (two for Nakhon Pathom isolate and one for Chiang Mai isolate) showed a difference in allelic composition when comparing the most resistant and susceptible cultivars to SCR disease. On chromosome 4, a QTL_4.1 AX-90915192 (physical position: 227597917) (C/T, $P\text{-value}=9.22\times10^{-10}$), was identified. It can be observed that the average disease index of allele with C was 12.82%, which was

significantly lower than that of the allele with T (28.69%) ($p \leq 0.05$, Figure 4 (a)). Another QTL_9.1_AX-91151225 (physical position: 138444899) (C/T, P -value= 1.22×10^{-8}) was found on chromosome 9. In this QTL, the average percent disease index of the allele with C (11.34%) was significantly lower than that of allele with T (29.93%) ($p \leq 0.05$,

Figure 4 (b)). The third QTL_5.2_AX-91648757 (physical position: 14738387) (G/A, P -value = 8.02×10^{-10}) was observed on chromosome 5, and the average disease index for allele with G was 7.19%, while that of allele with A was 21.99% and significantly different from each other ($p \leq 0.05$, Figure 4 (c)).

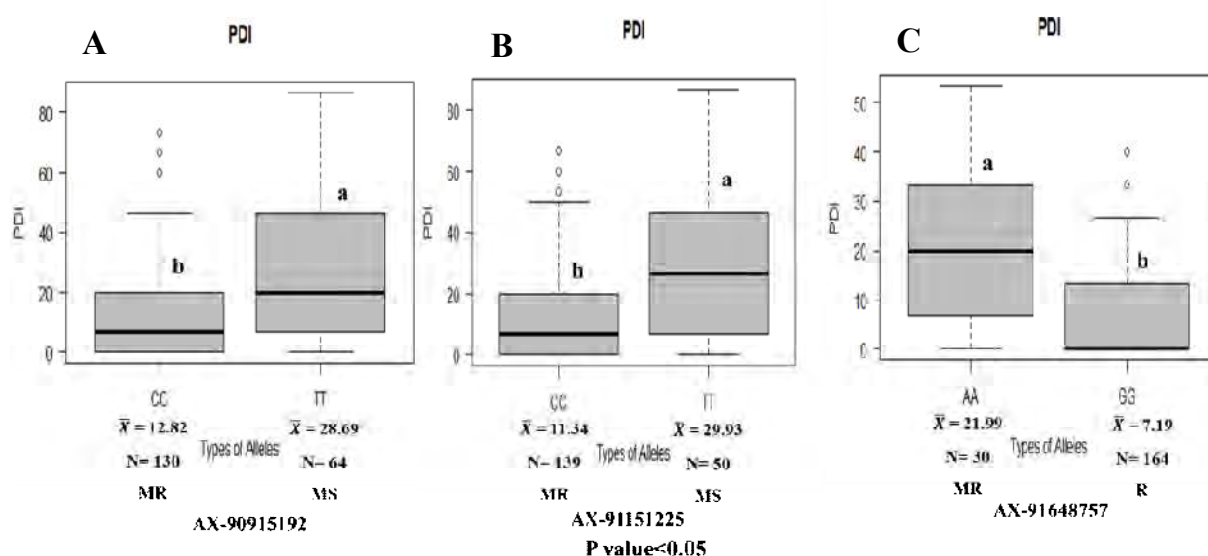


Figure 4 Allele effects of significant SNPs for the resistance trait SCR in waxy maize, (A) QTL_4.1_227597917_AX-90915192 (C/T), (B) QTL_9.1_138444899_AX-91151225 (T/C) and (C) QTL_5.2_14738387_AX-91648757 (G/A)

When comparing the genotypes of the five most resistant and susceptible lines to the disease SCR, three QTLs/SNP markers for waxy maize were identified in this study. The SNP locus, AX-90915192 on chromosome 4, has two alleles: CC, TT. In the resistant varieties, the CC accounts for 80% (number/total) and the TT accounts for about 20%. In the susceptible materials, the TT accounts for 100%. The second SNP locus, AX-91151225 on the chromosome 9, has three alleles:

CC, TT and CT. In the resistant varieties, the CC accounts for 80% and the TT for about 20%. In susceptible varieties, the TT is responsible for 60% and the CT for 40%. Therefore, the CC is responsible for much of the disease resistant materials at both SNPs. Another SNP locus, AX-91648757 on the chromosome 5, has three alleles: GG, AA and GA. The resistant materials contain 80% GG and 20% AA, whereas the susceptible materials contain 20% GG, 60% AA and

20% GA. Therefore, the GG allele accounts for a greater proportion of the disease-resistant materials. This information provides a scientific basis for a more detailed clarification of the mechanism of disease resistance SCR.

CONCLUSION

The genomic regions and candidate genes associated with SCR disease resistance in maize were investigated using SNPs markers. In this study, the resistant and susceptible RILs of maize against SCR disease were identified in the phenotypic evaluation. A GWAS was performed on a panel of 262 maize inbred lines using 434,871 SNP markers. Using FarmCPU model, a total of 19 SNP loci significantly associated with the disease SCR were identified. These SNP loci were located on chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 9 and 10, and a total of 19 QTLs and 36 candidate genes was detected at the SNP loci. These candidate genes are associated with biotic or abiotic stress. Analyses of allelic variation were also performed for the SNP loci selected by the GWAS and the results showed the three SNP loci, AX-90915192 on chromosome 4, AX-91151225 on chromosome 9 and AX-91648757 on chromosome 5 from top five resistant lines and that of susceptible ones of waxy corn. The candidate genes identified in this study could help future research to find resistance mechanism for

SCR disease and facilitate in marker-assisted breeding programs to develop SCR resistant maize.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Chai Nat Field Crops Research Centre, Department of Agriculture; Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture at Khon Kaen University; and SUWAN Farm, Kasetsart University for providing maize materials and the Department of Agricultural Technology; Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus for disease screening assistance. This research was funded by Innovation for Sustainable Agriculture (ISA) Program, the National Science and Technology Development Agency (NSTDA), grant number P-17-52167, and the Thailand Graduate Institute of Science and Technology (TGIST), National Science and Technology Development Agency (NSTDA), grant number TG-BT-KU-62-002D.

REFERENCES

- Ashkani, S., M.Y. Rafii, M. Shabanimofrad, G. Miah, M. Sahebi, P. Azizi, F.A. Tanweer, M. S. Akhtar and A. Nasehi. 2015. Molecular breeding strategy and challenges towards improvement of blast disease resistance in rice crop. *Frontiers in Plant Science*. 6: 886.
- Bradbury, P.J., Z. Zhang, D.E. Kroon, T.M. Casstevens, Y. Ramdoss and E.S. Buckler.

2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*. 23(19): 2633-2635.
- Brewbaker, J.L., S.K. Kim, Y.S. So, M. Logroño, H.G. Moon, R. Ming, X.W. Lu and A.D. Josue. 2011. General resistance in maize to southern rust (*Puccinia polysora* Underw.). *Crop Science*. 51(4): 1393-1409.
- Brito, D.P., D. Jeffers, D.G. de León, M. Khairallah, M.C. Cruz, G.V. Cardelas, S.A. Rivero and G. Srinivasan. 2001. Cartografía de QTL de la resistencia a la pudrición de la mazorca (*Fusarium moniliforme*) en maíz de Valles Altos, México. *Agrociencia*. 35(2): 181-196.
- Brunelli, K.R., H.P. Silva and L.E.A. Camargo. 2002. Mapeamento de genes de resistência quantitativa a *Puccinia polysora* em milho. *Fitopatologia Brasileira*. 27: 134-140.
- Cammack, R.H 1958. Studies on *Puccinia polysora* underw: I. The world distribution of forms of *P. polysora*. *Transactions of the British Mycological Society*. 41(1): 89-94.
- Cervený, L., A. Strásková, V. Danková, A. Hartlová, M. Cecková, F. Staud and J.J.I. Stulik. 2013. Tetratricopeptide repeat motifs in the world of bacterial pathogens: role in virulence mechanisms. *Infection and Immunity*. 81(3): 629-635.
- de Souza Camacho, L.R., M.M.D. Coan, C.A. Scapim, R.J. Barth Pinto, D.J. Tessmann and R.I. Contreras-Soto. 2019. A genome-wide association study for partial resistance to southern corn rust in tropical maize. *Plant Breeding*. 138(6): 770-780.
- Elshire, R.J., J.C. Glaubitz, Q. Sun, J.A. Poland, K. Kawamoto, E.S. Buckler and S.E. Mitchell. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One*. 6(5): e19379.
- Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*. 14(8): 2611-2620.
- Hallauer, A.R. and J. Miranda. 1981. Quantitative genetics in maize breeding. Ames, IA: Iowa State University Press.
- Holland, J., D. Uhr, D. Jeffers and M. Goodman. 1998. Inheritance of resistance to southern corn rust in tropical-by-corn-belt maize populations. *Theoretical and Applied Genetics*. 96(2): 232-241.
- Jiang, C., G. Edmeades, I. Armstead, H. Lafitte, M. Hayward and D. Hoisington. 1999. Genetic analysis of adaptation differences between highland and lowland tropical maize using molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 99(7): 1106-1119.
- Jines, M., P. Balint-Kurti, L. Robertson-Hoyt, T. Molnar, J. Holland and M. Goodman. 2007. Mapping resistance to Southern rust in a tropical by temperate maize recombinant inbred topcross population. *Theoretical and Applied Genetics*. 114(4): 659-667.
- Knapp, S.J. 1998. Marker-assisted selection as a strategy for increasing the probability of selecting superior genotypes. *Crop Science*. 38(5): 1164-1174.
- Lipka, A.E., F. Tian, Q. Wang, J. Peiffer, M. Li, P.J. Bradbury, M.A. Gore, E.S. Buckler and Z. Zhang. 2012. GAPIT: genome association and prediction integrated tool. *Bioinformatics*. 28(18): 2397-2399.
- Lv, M., C. Deng, X. Li, X. Zhao, H. Li, Z. Li, Z. Tian, A. Leonard, J. Jaqueth and B. Li. 2021.

- Identification and fine-mapping of RppCML496, a major QTL for resistance to *Puccinia polysora* in maize. *The Plant Genome*. 14(1): e20062.
- Ma, X., F. Feng, Y. Zhang, I.E. Elesawi, K. Xu, T. Li, H. Mei, H. Liu, N. Gao and C. Chen. 2019. A novel rice grain size gene *OsSNB* was identified by genome-wide association study in natural population. *PLoS Genetics*. 15(5): e1008191.
- Mindrebo, J.T., C.M. Nartey, Y. Seto, M.D. Burkart and J.P. Noel. 2016. Unveiling the functional diversity of the alpha/beta hydrolase superfamily in the plant kingdom. *Current Opinion in Structural Biology*. 41: 233-246.
- Niu, S., Q. Song, H. Koiwa, D. Qiao, D. Zhao, Z. Chen, X. Liu and X. Wen. 2019. Genetic diversity, linkage disequilibrium, and population structure analysis of the tea plant (*Camellia sinensis*) from an origin center, Guizhou plateau, using genome-wide SNPs developed by genotyping-by-sequencing. *BMC Plant Biology*. 19(1): 1-12.
- Olukolu, B.A., W.F. Tracy, R. Wisser, B. De Vries and P.J. Balint-Kurti. 2016. A genome-wide association study for partial resistance to maize common rust. *Phytopathology*. 106(7): 745-751.
- Portwood, J.L., M.R. Woodhouse, E.K. Cannon, J.M. Gardiner, L.C. Harper, M.L. Schaeffer, J.R. Walsh, T.Z. Sen, K.T. Cho and D.A. Schott. 2019. MaizeGDB 2018: the maize multi-genome genetics and genomics database. *Nucleic Acids Research*. 47(D1): D1146-D1154.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. In: R foundation for statistical computing Vienna, Austria.
- Raid, R., S. Pennypacker and R. Stevenson. 1988. Characterization of *Puccinia polysora* epidemics in Pennsylvania and Maryland. *Phytopathology*. 78(5): 579-585.
- Rossi, E.S., M.C. Kuki, R.J. Pinto, C.A. Scapim, M.V. Faria and N. De Leon. 2020. Genomic-wide association study for white spot resistance in a tropical maize germplasm. *Euphytica*. 216(1): 1-15.
- Unartngam, J. 2019. Inoculation techniques of plant pathogens to evaluate plant resistance. *The Thai Pytopathological Society*: 104-114. (in Thai)
- Unartngam, J., P. Janruang and C. To-anan. 2011. Genetic diversity of *Puccinia polysora* in Thailand based on inter simple sequence repeat (ISSR) markers analysis. *Journal of Agricultural Technology*. 7(4): 1125-1137.
- Wanlayaporn, K., J. Authrapun, A. Vanavichit and S. Tragoonrung. 2013. QTL mapping for partial resistance to southern corn rust using RILs of tropical sweet corn. *American Journal of Plant Sciences*. 4: 878-889.
- Xin, Z. and J. Chen. 2012. A high throughput DNA extraction method with high yield and quality. *Plant Methods*. 8: 1-7.
- Young, N. 1996. QTL mapping and quantitative disease resistance in plants. *Annual Review of Phytopathology*. 34(1): 479-501.
- Zhou, G., D. Hao, Y. Mao, Q. Zhu, G. Chen, H. Lu, M. Shi, X. Huang, Z. Zhang and J. Zhao. 2018. Identification of genetic loci conferring partial resistance to southern corn rust through a genome-wide association study. *European Journal of Plant Pathology*. 150(4): 1083-1090.

Path Analysis of Fresh Fruit Bunch and Bunch Weight in Oil Palm

Surakitti Srikul^{1/} Somkid Damnoi^{1/} Suteera Thawornrat^{2/} Peerasak Srinives^{3/}
Anek Limsrivilai^{4/} Patcharin Tanya^{5/*}

Received 9 Jul. 2023/Revised 23 Jul. 2023/Accepted 24 Jul. 2023

ABSTRACT

Income of oil palm planters comes from the quantity of fresh fruit bunch (FFB) combining with the bunch weight harvested. This study focused on the direct and indirect effects of fresh fruit bunch and bunch weight using path analysis. Ninety tenera oil palm bunches were counted, weighed and individually separated. The results showed that bunch number (BNO) was a factor effect directly more than the average bunch weight (ABW), while a negative correlation was found between BNO and ABW, confirming that if the number of bunches was high, the ABW was small. Bunch weight (BW) composed of 9 characters interesting in this study: rachis weight per bunch (RCIS/B), rachillae weight per bunch (RCHAE/B), fruit weight per bunch (FW/B), fruit to bunch (FTB), mesocarp to fruit (MTF), kernel to fruit (KTF), shell to fruit (STF) and mean nut weight (MNW) were highly significant. Bunch weight (BW) was used to determine which components were effective. Fruit weight per bunch (FW/B) had the highest direct effect, followed by rachillae weight per bunch (RCHAE/B). Therefore, BNO and FW/B were selected to focus on fresh fruit bunches in the oil palm breeding programs.

Keywords: correlation; regression; yield components; tenera

^{1/} Program in Agricultural Research and Development, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{2/} Program in Plant Breeding, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{3/} Academy of Science, The Royal Society of Thailand, Dusit, Bangkok 10300, Thailand

^{4/} Golden Tenera Company Limited, 12/9 Na Phlapphla, Krabi Yai, Mueang, Krabi 81000, Thailand

^{5/} Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

* Corresponding author: agrprt@ku.ac.th

INTRODUCTION

The oil palm is an oil crop that supports food, oil products, and energy worldwide. Palm oil was extracted from the mesocarp and kernels. The goal of oil palm production to support the worldwide demand for palm oil is to improve tenera with a high oil yield. The main challenge is to increase oil production by using good varieties and field practices.

Oil palm is a crop with low genetic diversity for selection; therefore, it is improved by concentrating on yield, bunch, and fruit components. Oil palm is an oil crop that supports food, oil products, and energy worldwide. Breeding of oil palm has been performed to study some traits to correlate yield production consisting of fresh fruit bunch, bunch number, and average bunch weight, while oil yield was focused on yield and oil to bunch. It is considered to be the ratio of the part of the mesocarp, endocarp, and kernel. The resolution to determine traits correlated to yield and yield components using correlation and path analysis to select the favored palm. The correlation coefficient displayed a value between -1 and 1, with positive and negative associations between independent variations (Steel et al., 1997).

Path analysis is a useful tool for calculating the direct and indirect effects of independent traits on dependent traits

(Jerrold, 1984). Balakrishna et al. (2018) studied the correlation and path coefficient in Indian oil palm and found that fresh fruit bunch (FFB) was positively correlated and path analysis with average bunch weight (ABW) and bunch number (BN). Tanya et al. (2013) found that the high positive correlation was between bunch weight and fruit weight per bunch (0.98), bunch weight and stalk weight per bunch (0.92), fruit weight per bunch and number of large size fruits (0.91), bunch weight and weight of large size fruits (0.88) and fruit weight per bunch and number of large size fruits (0.88), while the directly effecting influenced by bunch weight and bunch number. However, we had no clear information about traits correlated with yield among our tenera oil palms for breeding programs to improve for new varieties. The present study estimated phenotypic associations between yield-contributing characteristics along with path analysis to develop suitable selection criteria for oil palm improvement.

MATERIALS AND METHODS

Ninety tenera oil palm bunches were harvested at the Golden Tenera Company Limited, Krabi Province, Thailand. Traits were observed including fresh fruit bunch (FFB, kg/palm/year), bunch number (BNO, bunches), average bunch weight (ABW, kg), rachis weight per bunch (RCIS/B), rachillae weight

per bunch (RCHAE/B), fruit weight per bunch (FW/B), fruit to bunch (FTB), mesocarp to fruit (MTF), kernel to fruit (KTF), shell to fruit (STF), mean fruit weight and mean nut weight (MFW) (Rao et al., 1983).

The process of measuring the 10 traits of bunch components is shown in Figure 1. The bunches were weighed upon arrival, and the rachis was removed and weighed to obtain the RCIS/B (kg/bunch). The rachillae were then weighed to give RCHAE/B (kg/bunch). The fertile and parthenocarpic fruits with oil-bearing mesocarp were removed and weighed to obtain the FW/B (kg/bunch). FTB (%) can be calculated as the weight of the bunch. A sample of normal fertile fruits was also collected shortly after the arrival of the bunch. The fruit was weighed, the mesocarp

was scraped off, the nuts were weighed, and the weight of the mesocarp was calculated as the difference. This gives the weight of the mesocarp at the time of taking the fruit sample, that is, the weight unaffected by drying of the fruit before scraping and during scraping of the mesocarp. MTF (%) was calculated from the weight of the fruit sample and nuts. The nuts were air-dried for approximately three days to facilitate cracking. The shell was removed, and the kernels were weighed to calculate the KTF (%) and STF (%).

The correlation between 13 traits was estimated by Steel et al. (1997), whereas path analyses were calculated as direct and indirect effects according to Jerrold (1984), performed using R-Stat (R Core Team, 2022).

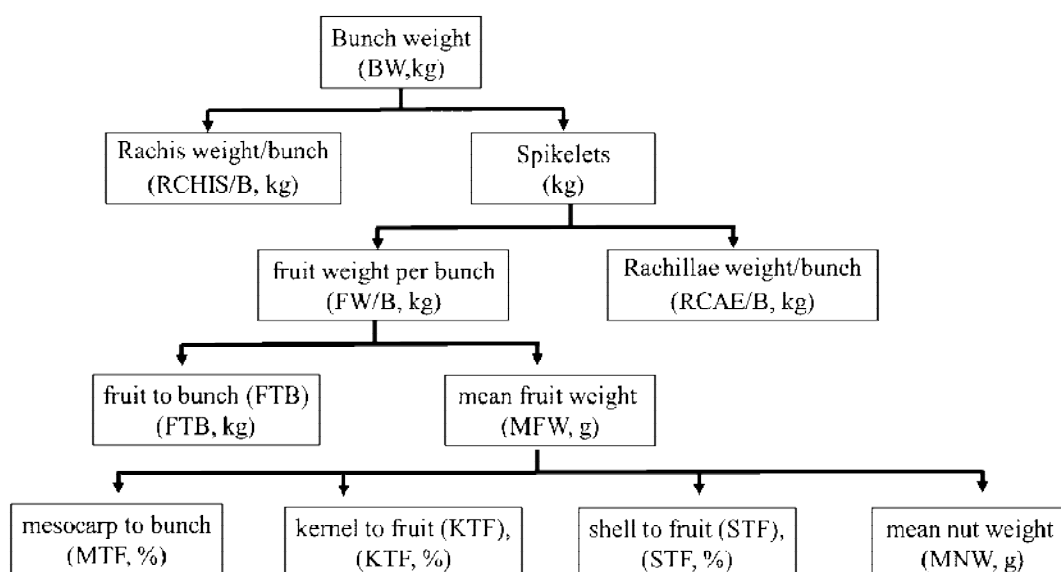


Figure 1 Diagram of measuring traits of bunch weight (BW)

RESULTS AND DISCUSSION

The correlation among the 13 traits showed that only bunch number (BNO) had the highest positive significance for fresh fruit bunch (FFB) ($r = 0.59^{**}$) (Table 1). The correlation analysis revealed that bunch weight (BW) displayed a substantial correlation coefficient value ($r = 0.15$) with FFB, although the results did not reach statistical significance. These findings imply that BW may possess the capacity to contribute to the observed variations in FFB. The result showed that the significant direct effect from BNO was $R^2 = 0.85$ and ABW was $R^2 = 0.15$ (Figure 2). BNO was highly negatively correlated with average bunch weight (ABW) with no significant difference ($r = -0.76$), as described by Obisesan and Fatunla (1982) regarding the correlation between the BNO and mean ABW, which was negative ($r = -0.41$) same as reported from Cedillo et al. (2018) the correlation between bunch number and average bunch weight was -0.368 in *dura* × *dura*. BW was highly negatively correlated with BNO ($r = -0.40^{**}$) and ABW ($r = 0.59^{**}$). Considering this, when BNO is high, in contrast to ABW, is low. These results are similar to report in *dura* palm by Tanya et al. (2013), who reported that FFB had a high correlation with BNO; however, the difference in ABW in this study was not significantly correlated because the palm materials were *tenera*. The same result

was reported by Okoye et al. (2009), who reported that only BNO was correlated with FFB and did not include ABW, with $r = 0.653^{**}$ of *dura* × *tenera*. Okwuagwu et al. (2008) reported highly significant positive relationships between FFB and BNO, whereas BNO showed strong negative correlations between BN and ABW in the 3 *dura* × *tenera* population, with correlation coefficients of -0.220^{**} , -0.260^{**} , and -0.368^{**} .

The correlation coefficients between different oil palm traits are presented in Table 1. The Rachis weight per bunch (RCIS/B), rachillae weight per bunch (RCHAE/B), fruit weight per bunch (FW/B), fruit to bunch (FTB), kernel to fruit (KTF), shell to fruit (STF), and mean nut weight (MNW) were significantly positively correlated with bunch weight (BW), whereas mesocarp to fruit (MTF) was significantly negatively correlated, and mean nut weight was not significantly correlated with BW, as shown in Figure 3. The highest direct effect on BW was FW/B ($r=0.777$ or $R^2 = 0.756$), followed by RCHAE/B ($R^2 = 0.165$) and RCIS/B ($R^2 = 0.078$). Bunch weight (BW) was strongly associated with RCIS/B ($r = 0.81^{**}$), RCHA/B ($r = 0.72^{**}$), and FW/B ($r = 0.92^{**}$), according to Corley and Tinker (2016), who explained the main traits of the oil palm bunch component. The percentages of RCIS/B: RCHA/B: FW/B were 10, 20, and 30%, respectively, composed of BW, so this

information will be considered for breeding tenera with high amounts of fruit set or big fruit.

Kernel to fruit (KTF) ($r = 0.39^{**}$), shell to fruit, (STF) ($r = 0.43^{**}$), and mean nut weight (MNW) ($r = 0.41^{**}$) were positively correlated with BW, whereas mesocarp to fruit (MTF) ($r = -0.45^{**}$) was negative. The bunch component showed that RCHAE/B was negatively correlated with fruit to bunch (FTB) ($r = -0.39^{**}$), FTB was correlated with fruit weight per bunch (FW/B) ($r = 0.51^{**}$), and MNW ($r = 0.42^{**}$). Oil palm fruit consisted of mesocarp, endocarp (shell), and kernel, in this study confirms the ratio of them that MTF had the strong negative

associated with KTF ($r = -0.90^{**}$) and STF ($r = -0.91^{**}$) and MNW ($r = -0.75^{**}$) same as the report of Okoye et al. (2009). This information will be supported by breeders aiming to breed a new tenera with a high benefit value of crude palm oil (CPO) or palm kernel oil (PKO).

The results showed a direct effect of BNO on FFB, while BW had a strong direct effect on FW/B. FW/B had a significant positive correlation with MNW, STF, and KTF MTF, whereas there was a significant negative correlation with MTF. It seems that when we breed a new variety of oil palm, we have to consider the fruit

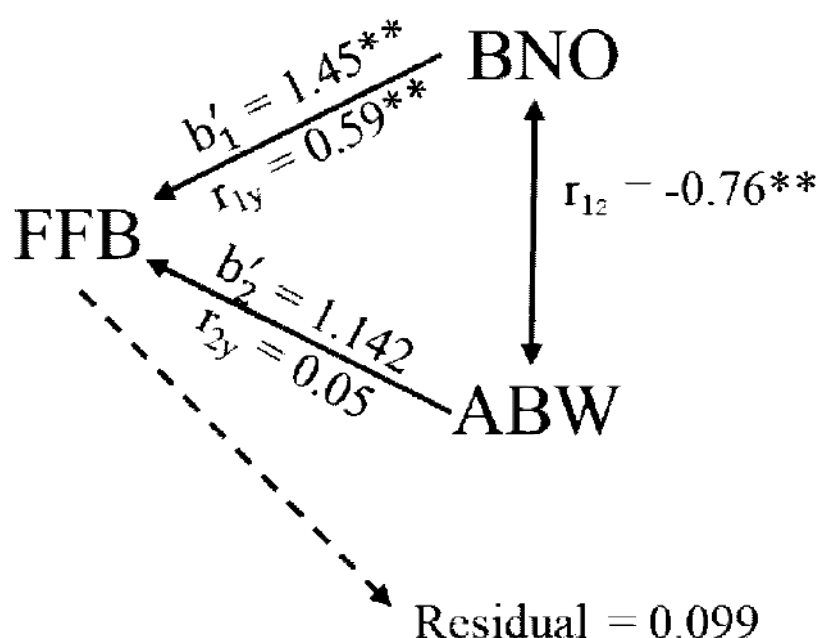


Figure 2 Path coefficient analysis of bunch number (BNO, bunches) and average bunch weight (ABW, kg) on the direct and indirect effects of fresh fruit bunch (FFB, kg/palm/year)

Table 1 Correlation coefficient among thirteen traits in tenera oil palm

	FFB	BNO	ABW	BW	RCIS/B	RCHAE/B	FW/B	FTB	MTF	KTF	STF	MFW
FFB	1											
BNO	0.59**	1										
ABW	0.05	-0.76	1									
BW	0.15	-0.40**	0.59**	1								
RCIS/B	0.32	-0.15	0.38**	0.81**	1							
RCHAE/B	0.12	-0.29	0.45**	0.72**	0.65**	1						
FW/B	0.12	-0.41**	0.57**	0.97**	0.72**	0.55**	1					
FTB	-0.12	-0.24	0.19	0.31	0.001	-0.39**	0.51**	1				
MTF	-0.05	0.52**	-0.69**	-0.45**	-0.39**	-0.36*	-0.43**	-0.1	1			
KTF	0.05	-0.52**	0.7**	0.39**	0.38**	0.31	0.37*	0.08	-0.90**	1		
STF	0.04	-0.43**	0.55**	0.43**	0.34*	0.34*	0.41**	0.1	-0.91**	0.65**	1	
MFW	-0.07	0.07	-0.17	0.001	-0.11	-0.13	0.05	0.21	0.17	-0.32	-0.003	1
MNW	0.01	-0.42**	0.49**	0.41**	0.28	0.23	0.42**	0.23	-0.75**	0.57**	0.79**	0.48**

Remark: Fresh fruit bunch (FFB), bunch number (BNO), average bunch weight (ABW), rachis weight per bunch (RCIS/B), rachillae weight per bunch (RCHAE/B), fruit weight per bunch (FW/B), fruit to bunch (FTB), mesocarp to fruit (MTF), kernel to fruit (KTF), shell to fruit (STF), mean fruit weight (MFW) and mean nut weight (MNW)

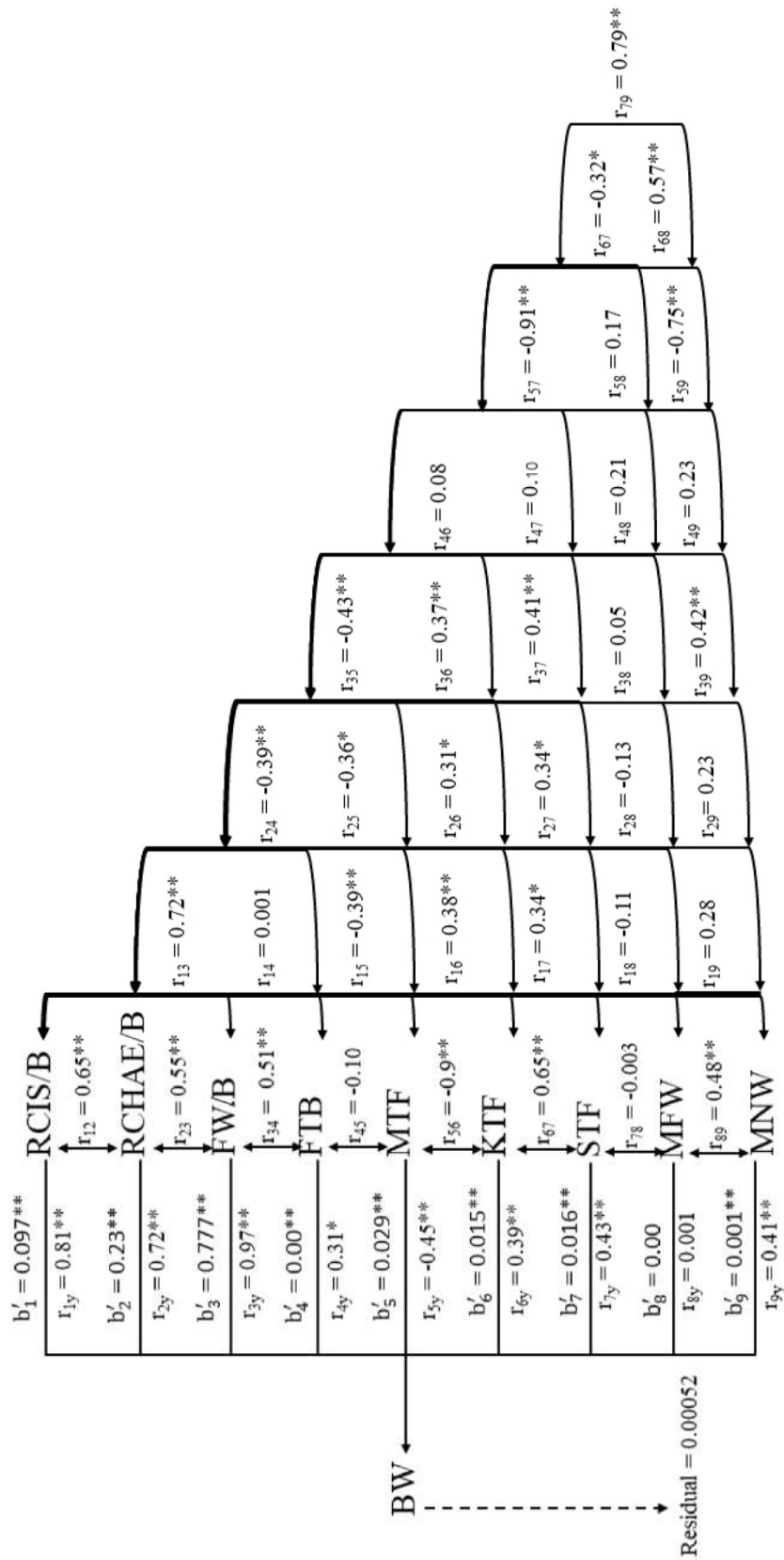


Figure 3 Path coefficient analysis of rachis weight per bunch (RCIS/B), rachillae weight per bunch (RCHAE/B), fruit weight per bunch (FW/B), fruit to bunch (FTB), mesocarp to fruit (MTF), kernel to fruit (KTF), shell to fruit (STF), mean fruit weight (MFW) and mean nut weight (MNW) on the direct and indirect effects of bunch weight (BN, kg)

component with a high level of mesocarp or kernel for the oil palm industry of CPO or PKO. This information will be used to support the oil palm industry in the future by zoning of oil palm fields with high mesocarps or kernels to support their products, which will increase the benefit value and the oil palm planter will earn more income.

CONCLUSION

In the breeding program, traits were correlated to yield production, which was used to consider for objective to project the point of traits for a new breed in tenera oil palm. In this study, we focused on BNO for FFB, in contrast to BNO and ABW. Moreover, BW should be emphasized to decrease the size of the rachis and rachillae with increasing FW/B. However, fruit components should be bred depending on the oil purpose from the mesocarp or kernel.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was partially supported by (1) the Center of Excellence on Biotechnology of Oil Palm for Renewable Energy, Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation, (2) the Center of Advanced Study on Agriculture and Food of Kasetsart University, Bangkok, Thailand (project no. CASAF147) and (3) the Golden Tenera Company Limited, Krabi Province, Thailand.

REFERENCES

- Balakrishna, P., R. Pinnamaneni, K.V. Pavani and R.K. Mathur. 2018. Correlation and path coefficient analysis in Indian oil palm genotypes. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 12(1): 195-206.
- Cedillo, D.O., C.F. Barrera, J.O. Cedillo, J.O. Carrera, M.D.V. de Resende and C.D. Cruz. 2018. Estimates of parameters, prediction and selection of an oil palm population in Ecuador. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 71(2): 8477-8487.
- Corley, R.H.V. and P.B. Tinker. 2016. *The Oil Palm*. 5th ed. Wiley Blackwell Publ. Co. Inc., USA. 680 p.
- Jerrold, H.Z. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, New Jersey.
- Obisesan, O. and T. Fatunla. 1982. Heritability of fresh fruit bunch yield and its components in the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theoretical and Applied Genetics*. 64(1) : 65-8.
- Okoye, M.N., C.O. Okwuagwu and M.I. Uguru. 2009. Population improvement for fresh fruit bunch yield and yield components in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *American-Eurasian Journal of Scientific Research*. 4(2): 59-63.
- Okwuagwu, C.O., M.N. Okoye, E.C. Okolo, C.D. Ataga and M.I. Uguru. 2008. Genetic variability of fresh fruit bunch yield in Deli/*dura* x *tenera* breeding populations of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Nigeria. *Journal of Tropical Agriculture*. 46 (1-2): 40-45.
- R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for

- Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <https://www.R-project.org/>. Accessed: December 18, 2022.
- Rao, V., A.C. Soh, R.H.V. Corley, C.H. Lee, N. Rajanaidu, Y.P. Tan, C.W. Chin, K.C. Lim, S.T. Tan, T.P. Lee and M. Ngui. 1983. A Critical reexamination of the method of bunch quality analysis in oil palm breeding. PORIM Occasional Paper No. 9: 1-28.
- Steel, R., J.H. Torrie and D. Dickey. 1997. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 3rd ed. McGraw Hill Book Com. Inc. New York. 666 p.
- Tanya, P., Y. Hadkam, P. Taeprayoon and P. Srinives. 2013. Estimation of repeatability and path coefficient of bunch and fruit traits in Bang Bort Dura oil palm. Journal of Oil Palm Research. 25(1): 108-115.

Hot Water Immersion Treatment of Nam Dorkmai Mango Infested with Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), for Export

Sunyanee Srikachar^{1/*} Korrakot Damrak^{1/}

Received 21 Aug. 2023/Revised 31 Oct. 2023/Accepted 3 Nov. 2023

ABSTRACT

Hot water immersion treatment is a post-harvest treatment for fruit fly disinfestation and widely used as quarantine treatment in many countries. This technique has not been previously employed in Thai mango exports. The objectives of this research were to examine optimum temperature and exposure period of hot water immersion treatment to eliminate fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, eggs and 1st instar larvae in mango variety Nam Dorkmai without affecting fruit quality. Procedures for hot water immersion treatments in small and large scale were arranged. Nam Dorkmai mangoes used for testing were infested with *B. dorsalis*, eggs or 1st instar larvae using artificial infestation and forced infestation methods. The results showed that hot water immersion treatment at the innermost of fruits at 46° C for 10 minutes was effective for elimination of both eggs and 1st instar larvae of *B. dorsalis* without impacting on fruit quality. This information can be applied to quarantine process of *B. dorsalis* infestation in exported Nam Dorkmai mangoes of Thailand.

Keywords: hot water immersion treatment; mango; *Bactrocera dorsalis*

^{1/} Plant Pest Management Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Phahonyothin Rd., Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author: sunyaneesrikachar@gmail.com

INTRODUCTION

Mango is one of economic crops of Thailand. According to the report from the Export Plant Quarantine Service Group, Office of Agricultural Regulation, Department of Agriculture; Thailand exported 98,140 tons of mangoes worth 1,694.43 million baht and 113,187 tons worth 2,027.63 million baht in 2015 and 2016, respectively. Among the cultivated mangoes, Nam Dorkmai variety is one of the best for domestic and export markets (Department of Agriculture, 1988). This variety is recognised as Queen of Thai mangoes with beautifully golden yellow pulp and sweet taste.

Fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), plays very important roles in the exportation of Thai mangoes because many countries have restriction for this insect in imported mangoes. Mango fruits imported from Thailand must be free from fruit flies because fruit flies can cause severe damage to many kinds of fruits. Jirasurat and Prachuabmoh (1998) reported that more than 1,000 million baht of Thai agricultural products were lost annually due to the damage caused by fruit flies. Fruit fly such as *Bactrocera dorsalis* (Hendel) is a quarantine pest of many countries as the eggs were laid in the fruits and the larvae feed inside the fruits that make them very difficult to detect and control. Fruit flies have very wide host ranges. Thus, many countries list them as

quarantine pests. This constrains the exportation of agricultural products, especially fresh fruits including fruits of vegetables that are the hosts of these flies. Some countries required phytosanitary measures against fruit flies for importing fresh fruits from Thailand. The post-harvest treatments that are effective against fruit flies are such as irradiation, fumigation, vapor heat treatment and hot water immersion treatment.

In recent years, Thailand has successfully used vapor heat treatment (VHT) against fruit flies in mango and mangosteen that are exported to Japan and Korea and used irradiation for mangosteen, rambutan, longan and lychee that are exported to the USA. However, the investment and operating cost for vapor heat treatment and irradiation are very high. Hot water immersion treatment is another viable option because it is equally effective but comparing to the two methods already mentioned, hot water immersion treatment is less expensive because of its lower investment and operational cost. The rate of heating from the fruit skin to the center of the fruit with hot water immersion is substantially faster than those of VHT and FHAT (Forced hot-air heating) to achieve the same temperature (Couey, 1989; Stewart et al., 1990; Jordan, 1993). However, hot water immersion treatment has not been applied in Thailand because of the export regulations imposed by destination countries.

For examples, Japan requires mangoes from Thailand to be treated by vapor heat treatment, whereas the United States requires irradiation treatment.

Hot water immersion treatment to control fruit flies in mangoes is widely used in many countries, especially in Latin America to control Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* (Loew). It has been accepted as quarantine treatment by the Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), United State Department of Agriculture (USDA) since 1987. Hot water treatment for Mexican fruit fly is conducted at water temperature of 46.1 - 46.5° C for 65 - 110 min depending on weight and varieties of mangoes (Sharp et al., 1989).

The temperature and duration of hot water immersion treatment for disinfestation of fruit fly vary among types of fruits depending on weight and varieties. In order to apply hot water immersion treatment to meet plant quarantine standard for disinfestation of *B. dorsalis* in Nam Dorkmai mangoes for exportation, the efficacy of this treatment needed to be comprehensively investigated in both small-scale and large-scale experiments. The aim of this research was to determine optimum temperature and duration of hot water immersion treatment for complete disinfestation of fruit fly larvae, *B. dorsalis*, in Nam Dorkmai mangoes. The information obtained can be applied to

quarantine process of fruit fly disinfestation for the exportation of Thai mangoes.

MATERIALS AND METHODS

1. Insects used in the experiments

Oriental fruit fly, *B. dorsalis*, used in this experiment was collected from infested mangoes, *Mangifera indica* L., in Pak Chong District, Nakhon Ratchasima Province and U Thong District, Suphan Buri Province. The insect colonies were reared at the laboratory of Pest Management Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok.

1.1 Fruit fly mass rearing technique

Rearing room condition: The colonies of oriental fruit flies were kept in temperature and humidity-controlled room at $26\pm1^{\circ}\text{C}$, with $69\pm3\%$ relative humidity (RH) and photoperiod of 12:12 (L:D) h.

Adult rearing: Adults of *B. dorsalis* flies were housed in each of the 16 mesh wire screen cages and fed with artificial diet (yeast : sugar = 1:1). About 5 cages (65.5x69x77 cm) with a population of approximately 20,000 flies per cage and 10 cages (35x50x35 cm) with a population of approximately 2,000 flies per cage were continuously maintained throughout the study.

Egg collecting: A perforated polyethylene container (17 cm in height, tapering downward from 7 to 5.5 cm. diameter) was used as an

egg receptacle inside each adult cage. Periodic checks on hatching rate were made by placing samples with a small camel hair brush on moist blotting paper held in petri dishes and recording the number of hatched eggs.

Larval rearing diet: Larval diet based on corn flour was used for rearing the *B. dorsalis* (Watanabe et al., 1973). The diet tray was covered by the inverted tray to maintain the humidity and was held for pupation.

Pupal handling: Mature larvae began leaving the diet at 6th day after egg transfer, and at this time the cover was removed, and trays were placed in pupae-collecting boxes (43x74x23 cm) containing moist sawdust (to encourage pupation). During pupal stage (8-10 days), at 2 days before expected adult emergence, the pupae were separated from the sawdust. Subsequently, 20,000 pupae were placed in plastic tray (23x32x5 cm.) and transferred to new cage for adult emergence.

Quality control of mass rearing: The laboratory colony of *B. dorsalis* have been routinely checked for quality in every generation. The hatching rate, emerging rate, pupae weight and sex ratio were examined for the quality of the flies.

1.2 Preparation of test insect

Two stages of fruit fly used in the experiment were egg stage and 1st instar larval stage.

1.2.1 Egg preparation: The 24 hours old eggs of *B. dorsalis* were used in disinfestation test. Eggs were collected from reared insect population by using previously mentioned techniques. Adult flies were allowed to lay eggs for 30 min. Eggs were then counted and one hundred eggs transferred to infest the mango pulp following experimental plan.

1.2.2 The 1st instar larvae preparation: The insects were obtained by collecting eggs 40 hours prior. After hatching, some 1st instar larvae burrowed through the muslin cloth into water and some remained on the cloth. The cloth was dipped in distilled water to collect more larvae. One hundred larvae were counted under magnifier and kept in petri dish containing water. The water with collected larvae were poured into fine mesh cloth and transferred into each tested fruit by using camel's hairbrush.

2. Mango fruits used in the experiments

Nam Dorkmai variety mangoes used in the experiment were from GMP farms. The 85% ripeness mango fruits were selected, cleaned, inspected for no symptoms or damage from fruit fly then sized and graded. After that, they were kept in the fruit fly free room. The fruits used in the experiment were of medium size (300 – 359 g) and large size (360 – 420 g), which aligns with the standard export sizes of Thai Nam Dorkmai mangoes.

3. Infestation methods

3.1 Artificial infestation method: This method followed the technique of Unahawutti et al. (1991). This technique was carried out by directly infesting certain developmental stage of fruit fly into the fruit flesh. Prior to artificial infestation, fruits were prepared by removing small piece of mango pulp using 1 cm diameter cork borer to pierce 1 cm deep into the fruit flesh (Figure 1). A thin layer of mango flesh was cut off from the plug so that there was some space for the eggs and larvae to be housed. The plug was inserted back into the hole after eggs

or larvae had been transferred into the fruits. Then masking tape was put on the plug to prevent the larvae leaving the fruit. Each fruit was infested with one hundred eggs or one hundred larvae as per experimental plan.

In the case of egg infested fruits, they were kept in temperature-controlled room at 25-27°C until used. They were kept for 1 hour before subjecting to treatments of the experiment.

All larvae infested fruits were kept for 3 hours to allow larvae to burrow inside the fruit before subjecting to treatments.

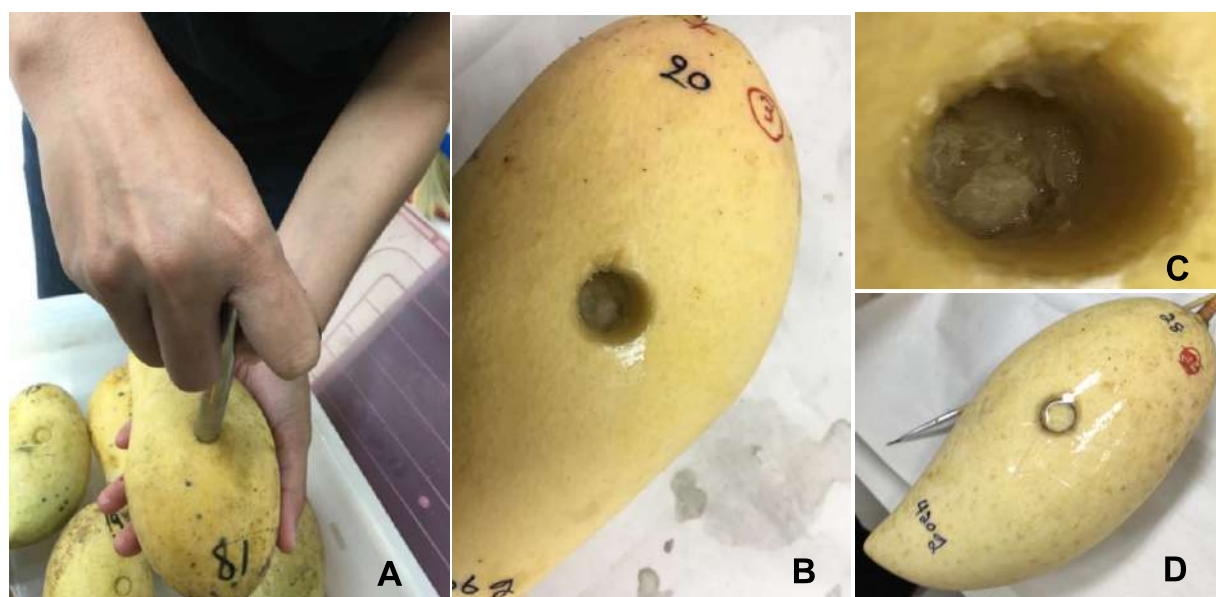


Figure 1 Preparation of infested mangoes by artificial infestation method; (A-B) Holes were made by 1 cm diameter cork borer at 1 cm depth, (C) Transfer eggs or larvae into the hole, (D) Close with masking tape

3.2 Forced infestation method: This method followed that of Unahawutti's technique (Unahawutti et al., 1991). Each

test fruit was wrapped up with a clear plastic bag and five punctures were made by insect pin (Figure 2). Subsequently, the

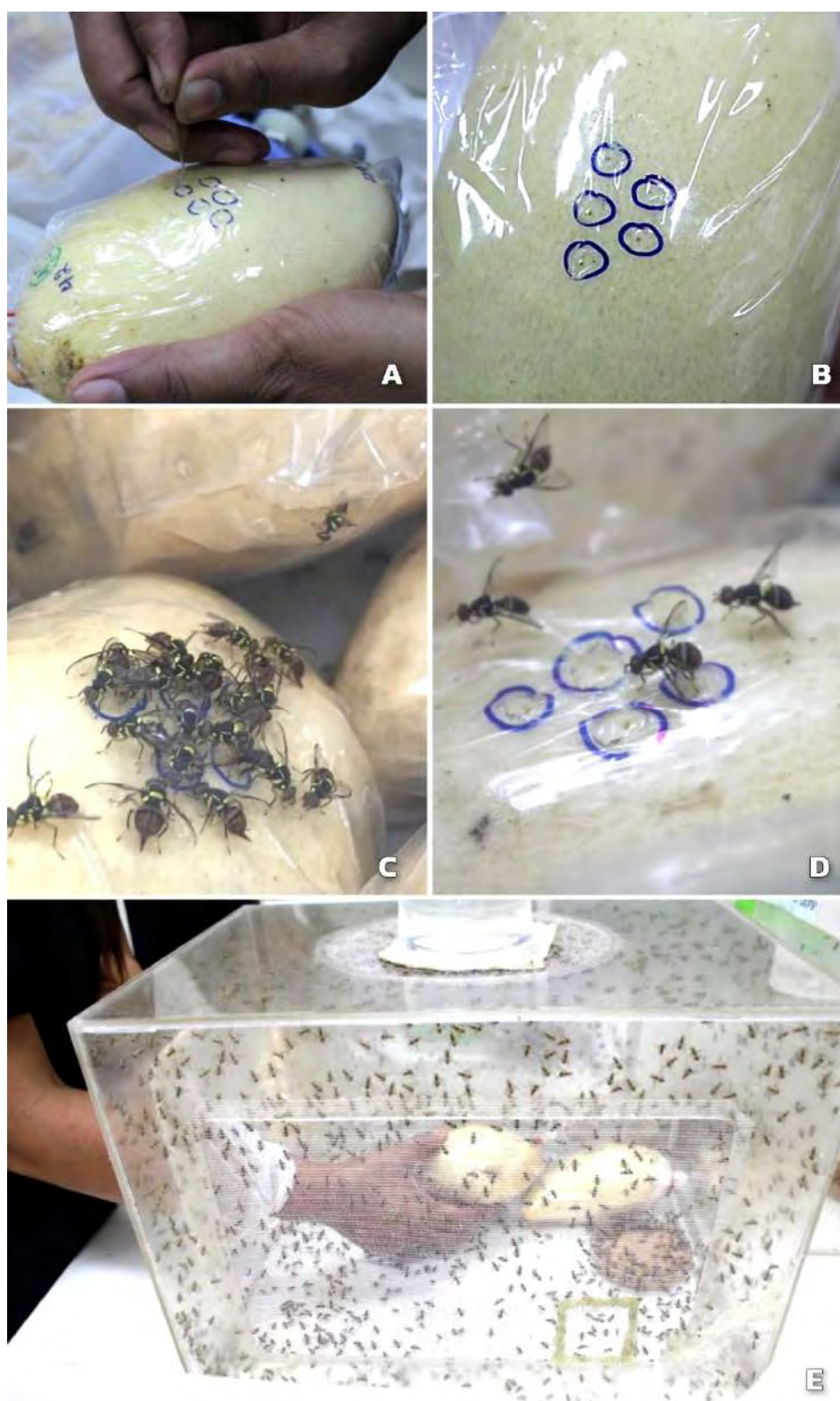


Figure 2 Preparation of infested mangoes by forced infestation method; (A-B) Each mango fruit was wrapped up with clear plastic bag and five punctures were made by insect pin, (C-E) Egg laying of female fruit flies

10 test fruits were placed inside the fruit fly cage whereby puncture holes were exposed to the flies for oviposition. The oviposition was done 40 hours before subjecting to treatments and the exposure time for oviposition was 25 min. Upon completion of exposure time, the fruits were taken out from the cage. Infested fruits were held in temperature-controlled room at 25-27° C until used.

4. Hot water immersion treatments

4.1 Treatment facility

4.1.1 Water bath for small scale treatment: This treatment was conducted by using Memmert® water bath, model: WNB 22. They were electrically heated and electronically controlled. The temperature was measured by using a PT 100 (Class A) temperature sensor (4-wire circuit). The components of temperature control were controlled by integrated malfunction-recognition.

4.1.2 Water bath for large scale treatment: The procedure was conducted by using stainless steel tank (2.53x1.35 x0.6 m.) capable of holding twelve 20 Kg baskets. The temperature of the water was continuously controlled by a microprocessor-controller. The temperature was measured using a PT 100 (Class A). Water circulation system was managed by using water pump size 40 l/min for uniform temperature distribution.

4.1.3 Calibration of resistance thermometers: All sensors were calibrated periodically with a certified precision quality thermometer at a temperature of 47° C. Water temperature was allowed to stabilize for 20 min before data recording began. The actual temperature of water was confirmed with the standard thermometer. Temperature readings of all sensors were recorded every 5 min. Calibration was conducted regularly.

4.1.4 Monitoring of fruit temperature: Fruit temperatures were measured by using platinum resistance thermometer PT 100, protective tube length was 70 mm. and protective tube diameter was 3 mm. The sensors were connected to 6 points-multifunction hybrid recorders (Shinko, model: HR-700).

4.2 Hot water immersion treatments in small scale

This study was conducted at Crop Processing Research and Development Group, Postharvest and Processing Research and Development Division and Pest Management Group, Plant Protection Research and Development Office, from October 2013 until September 2018. The small-scale treatments were preliminary test to determine the temperature and exposure period of hot water immersion treatment to disinfest *B. dorsalis* in mangoes. The artificial infestation method for the tested fruits was prepared.

The stages of fruit fly tested were egg and 1st instar larval stage, based on the results from Kaneyuki et al. (2016) who reported that heat tolerance of *B. dorsalis* at 45° C decreased with increasing age of 1st and 2nd instar larvae, but increased with increasing age of 3rd instar, with 1st instar larvae being the most heat tolerant. The fruits used were medium and large sizes (310-420 g), which aligned with the standard export sizes of Nam Dorkmai mangoes.

The treatments were carried out in Memmert® water bath, model: WNB 22. Treatments temperatures at the innermost of tested fruits were 43° C, 44° C, 45° C, 46° C, 46° C+5 min, 46° C+10 min, 46° C+15 min and 46° C+20 min. The tested fruits were soaked in the water bath one treatment at a time. Five replications were performed. Each replication comprised of 3 treated fruits of egg infestation and 3 treated fruits of 1st instar larvae infestation. A total of 270 treated fruits was used in this experiment which 240 fruits were treated with various treatment temperatures and 30 fruits (15 fruits with egg infestation and 15 fruits with 1st instar larvae infestation) were non-treated control.

After the treatment, the fruit temperature was cooled down by force air cooling for 30 min. All fruits were individually placed in organdy bag separately kept in plastic container (33x41x12 cm) and covered

with fine mesh clothes to prevent reinfestation. They were held in temperature-controlled room at 25-27° C until observation. To facilitate larval survival and pupation, test fruits which were obtained by forced infestation method were longitudinally cut 1 or 2 days after treatment. Insect mortality was determined by dissecting the fruits within 4-5 days after treatments and counting the number of dead and live larvae in each fruit. Corrected mortality was calculated by using Abbott's formula (Abbott, 1925). The data were analysed for Probit 9.

4.3 Hot water immersion treatment in large scale

This study was conducted at V.S. Freshco Company Limited. Large scale disinfestation test was carried out to assess the effectiveness of hot water immersion treatment for potential quarantine procedure to disinfest *B. dorsalis*. The treatment was based on preliminary test results from small-scale (4.2).

The tested treatment temperature and time were 46° C for 10 min in commercial water bath. Artificial and forced infestation tested fruits were prepared as described in 3.1 and 3.2. Three replications were performed. Each replication comprised 100 artificial infested fruits, 50 forced infested fruits and 144 filler fruits. The total hot water dipped fruits in each replication were 294. Two hundred and eighty-eight fruits were equally

divided and placed into 12 plastic baskets. Thus, one basket contained 8 artificial infested fruits, 4 forced infested fruits and 12 filler fruits. The remaining 4 artificial infested fruits and 2 forced infested fruits were randomly placed in the baskets to ensure the required number of insects for the experiment. There were also 20 artificial infested fruits and 10 forced infested fruits used as control (non-treated) in each replication.

The artificial infestation of 100 1st instar larvae were used per tested fruit and a total of 300 tested fruits were achieved. Approximately 28,270 larvae (estimated treatment population) were used. Besides, the forced infestation method was applied to 150 fruits for three replications, resulting in an estimated treatment population of approximately 27,580 larvae. Thus, a total number of the treated fruit in hot water immersion treatment in large scale was 450 fruits or approximately 55,850 of treated 1st instar larvae and 90 fruits as-control (non-treated) or approximately 11,170 of control 1st instar larvae.

The procedure after finishing the treatments and observation of insect mortality were the same as those in hot water immersion treatments in small-scale test. To facilitate larval survival and pupation, tested fruits obtained by forced infestation were longitudinally cut 1 or 2 days after treatment. Number of live individuals was

recorded by dissecting the fruits within 4-5 days after treatments.

5. Fruit injury test

This study was to examine the symptoms of thermal injury in treated mango fruits. The tests were carried out using medium to large size mangoes (310-420 g).

5.1 Fruit injury from small-scale treatment

The mangoes were placed in plastic basket (24x30x17 cm) then dipped in water bath, Memmert® WNB 22 at the temperature 48.5° C. Ten treated fruits and 10 control (non-treated) were used in each treatment. The treatments were done when the innermost temperature of fruits reach 48.5° C, 48.5° C +10 min and 48.5° C +20 min. Then, the treated fruits were air cooled for 30 min. The temperatures used for testing heat damage to mango fruits followed the method described by Unahawutti et al. (1991)

5.2 Fruit injury from large-scale treatment

The quality of treated fruits that simulated the situation for exportation by air and by sea were examined and compared the various quality characteristics with the non-treated fruits. Amount of 20 fruits of each were used in the study. The fruits were treated at the innermost temperature of 46° C for 10 min. This particular temperature

and duration were selected because insects had a 100% mortality rate when exposed to 46° C for 5 min. Therefore, the treatment duration was extended to 10 min at the same temperature setting as a precautionary measure to reduce the potential risk of human error during the treatment process. Treated mangoes were air cooled for 30 min after the treatment then put in foam net and placed in the box (32x45x13 cm) which had 4 holes (2.5 cm in diameter); two each on two opposite sides. The holes were covered

with fine mesh. Fruits were kept in temperature-controlled room at 10° C for 7 and 14 days.

5.2.1 Percentage of weight loss of mango fruits: Comparison was made between 10 hot water immersion treated mango fruits and equal number of the non-treated (control) fruits. Each fruit was weighed at 0, 7 and 14 day after storage. The weights were recorded and percentages weight loss calculated using the following equation:

$$\text{Percentage of weight loss} = \frac{[(\text{pretreatment fruit weight} - \text{post storage fruit weight}) / \text{pretreatment fruit weight}] \times 100}{}$$

The percentages of weight loss of the fruits were averaged and statistically compared the mean using T-test

5.2.2 Brix value of mango fruits: Brix value of each method was measured into 3 replicates at 0, 7 and 14 days after storage. Comparison was made between 9 hot water immersion treated mango fruits and equal number of the non-treated (control) fruits. Measurement of brix value of mango fruit pulp was done using a digital refractometer (DBX-30, Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan). Brix value of the fruits was averaged and statistically compared the mean by T-test.

5.2.3 Firmness of mango fruits: Each fruit was divided into 2 sides. Each side was subdivided into 3 parts: top, middle, and bottom. Firmness of each

piece was measured into 3 replicates using penetrometer at 0, 7 and 14 day after storage. The firmness of the fruits were averaged and statistically compared the mean by T-test.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Hot water immersion treatments in small scale

Preliminary test to disinfest *B. dorsalis* in Nam Dorkmai mangoes was done in small-scale experiment. Result showed that proper temperature of hot water immersion treatment can completely disinfest *B. dorsalis*.

One hundred percent insect mortality was found in mangoes infested with eggs after treatment of innermost temperature at 46° C and at 46° C with various holding times i.e., 46° C +5 min, 46° C +10 min, 46° C +15 min and 46° C +20 min (Table 1). In this experiment it took 61.50 min for the innermost part to reach the desired temperature 46° C.

One hundred percent insect mortality was also found in mangoes infested with 1st instar larvae when treated at the innermost temperature of fruits starting from 46° C with holding time for 5 min (46° C +5 min) and 20 min (46° C +20 min) (Table 1). At the temperature 43° C, 44° C, 45° C and 46° C the mortality was 78.29, 85.89, 98.16 and 99.93%, respectively. This result was similar to the findings of Kaneyuki et al. (2014) and Kaneyuki et al. (2016) that the 1st instar larvae of *B. dorsalis* were more tolerant than eggs and 1st instar larvae were the most heat tolerant at 45° C.

Heat tolerance of immature fruit flies is a concerned factor in hot water immersion treatment. Lapasathukul et al. (2002) conducted a study on the heat tolerance of immature stages of four fruit fly species in Thailand; *B. carambolae*, *B. dorsalis*, *B. papayae*, and *B. pyrifoliae*. The study revealed that 1st instar larvae of each fruit fly species had greater heat tolerance

at 45° C than eggs, 2nd, and 3rd instar larvae. Estimated lethal dipping time for eggs and 1st instar larvae of *B. dorsalis* in hot water immersion treatment at 45° C was 17.73 and 29.58 min, respectively. The results were also consistent with Ndlela et al. (2017) who suggested that hot water treatment at a temperature of 46.1° C for 81.47 min could serve as a method for fruit fly disinfestation in mango. Likewise, mango variety Tommy Atkins when treated with hot water at a temperature of 46.1° C for 72.63 min could effectively disinfest fruit fly, *B. dorsalis* before exportation (Mwando et al., 2021).

According to the results, the 1st instar larvae of *B. dorsalis* were more tolerant than eggs. The appropriate temperature of hot water immersion treatment for complete disinfestation of *B. dorsalis* eggs and larvae in Nam Dorkmai mangoes should be at the innermost temperature of 46° C with holding times for 10 min (46° C +10 min) which was more assured for quarantine treatment than 46° C +5 min. The analysis result from Probit 9 also showed that temperature required to kill 99.99683% of *B. dorsalis* in egg stage should be at temperature 44.46° C and holding times for 57.43 min while that of 1st instar larval stage should be at temperature 45.07° C and holding times for 60.62 min. Thus, the temperature of innermost of mango at 46° C +10 min or immersion temperature at 46° C

Table 1 Mortality (%)^{1/} of eggs and 1st instar larvae of the oriental fruit flies, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), after treatment in hot water immersion at different temperatures and immersion periods in small-scale experiment

Temperature treatment ^{2/}	Time (min) ^{3/} of immersion	Number of treated eggs/insects	Egg infestation		1 st instar larval infestation	
			Number of dead	Corrected mortality ^{4/} (%)	Number of dead	Corrected mortality ^{4/} (%)
Control	0	1,500	118	0	35	0
43°C	50	1,500	974	61.94	1,182	78.29
44°C	55	1,500	1,439	95.59	1,286	85.89
45°C	57	1,500	1,491	99.35	1,473	98.16
46°C	60	1,500	1,500	100	1,499	99.93
46°C+5 min	65	1,500	1,500	100	1,500	100
46°C+10 min	70	1,500	1,500	100	1,500	100
46°C+15 min	75	1,500	1,500	100	1,500	100
46°C+20 min	80	1,500	1,500	100	1,500	100

^{1/} Combined data of 5 replications

^{2/} Infestation of insects in each treatment was done by inoculation at egg stage with 100 eggs per fruit and at 1st instar larval stage with 100 individuals per fruit

^{3/} Timing for immersion in hot water was initiated when the temperature of water in water bath stabilized until fruits were considered receiving required temperature

^{4/} Mortality was corrected by using Abbott's formula

for 70 min was chosen for further investigation of hot water immersion treatment of Nam Dorkmai Mangoes for fruit fly disinfestation in large-scale experiment.

2. Hot water immersion treatment in large scale

Confirmatory test to disinfest *B. dorsalis* in Nam Dorkmai mangoes was done in large-scale experiment. The results showed that the treatment with hot water immersion at the innermost temperature of 46° C for 10 min can completely controlled 1st instar larvae of *B. dorsalis* in Nam Dorkmai mangoes because no survival insects were found in

both insect infestation methods as shown in Table 2. The result was consistent with hot water immersion treatment of 46.1-46.5° C for 65-110 min depending on weight and varieties of mangoes to control Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens*, in mangoes before exportation from Latin America to the USA (Sharp et al., 1989). Therefore, hot water immersion treatment in Nam Dorkmai mangoes at fruit innermost temperature of 46° C and maintained at this temperature for 10 min was effective for disinfestation of both eggs and the 1st instar larvae of *B. dorsalis*, which was the most heat tolerant stage.

Table 2 Survival of 1st instar larvae of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), in mangoes “Nam Dorkmai” treated with hot water immersion at the innermost temperature of 46° C for 10 min in large-scale experiment

Exp.	Infestation method	No. of tested fruits		No. of alive individuals in control	Estimated treated population ^{1/}	No. of survivors ^{2/}
		Control	Treatment			
1	1 st instar larval infestation	20	100	1,960	9,800	0
	Forced infestation	10	50	1,763	8,815	0
	total	30	150		18,615	0
2	1 st instar larval infestation	20	100	1,940	9,700	0
	Forced infestation	10	50	1,699	8,495	0
	total	30	150		18,195	0
3	1 st instar larval infestation	20	100	1,954	9,770	0
	Forced infestation	10	50	1,854	9,270	0
	total	30	150		19,040	0
Total		90	450	11,170	55,850	0

^{1/} The estimated treated populations were calculated from number of larvae in untreated fruits

^{2/} Survival of larvae was determined 4 days after treatment

3. Fruit injury test

3.1 Fruit injury from small scale treatment

The quality of Nam Dorkmai mangoes treated at 48.5° C for 0, 10 and 20 min showed no differences from the control in terms of weight loss (Table 3) and Brix value (Table 4). Moreover, there was no

symptom of spongy tissue in the treated mangoes which was similar to result of Unahawutti et al. (1991) which reported that modified vapor heat treatment mangoes at 48.5° C for 30 min did not show symptom of spongy tissue in mangoes variety Nam Dorkmai, Rad and Pimsaen Dang.

Table 3 Weight loss (%) of mangoes “Nam Dorkmai” after hot water immersion treatment at 48.5° C with holding times at 0, 10 and 20 min and 7- and 14-days storage at 26.10±1.35° C, 75±5% RH

Days of storage	Treatment	Weight loss (%) ^{1/}		
		0 min	10 min	20 min
7	48.5°C + holding time min	7.07	6.19	6.18
	control	5.25		
	T-test: 48.5°C vs. Control	ns	ns	ns
14	48.5°C+ holding time min	12.23	12.37	12.23
	control	11.78		
	T-test: 48.5°C vs. Control	ns	ns	ns

^{1/} Values are mean of 10 fruits (treatment), and 10 fruits (Control), ns=non-significant

Table 4 Total soluble solid (°Brix) of mangoes “Nam Dorkmai” after hot water immersion at 48.5° C with holding times at 0, 10 and 20 min and 7- and 14-days storage at 26.10±1.35° C, 75±5 % RH

Days of storage	Treatment	Total soluble solid (°Brix) ^{1/}		
		0 min	10 min	20 min
7	48.5°C + holding time min	16.73	16.83	16.87
	control	16.97		
	T-test: 48.5°C vs. Control	ns	ns	ns
14	48.5°C + holding time min	17.67	17.53	17.60
	control	17.29		
	T-test: 48.5°C vs. Control	ns	ns	ns

^{1/} Values are mean of 3 fruits/time (treatment), and 3 fruits/time (Control), ns=non-significant

3.2 Fruit injury from large scale treatment

The quality of treated mangoes kept at temperature-controlled room at 10.05±1.35° C and 74.32±5.18% RH for 7 and 14 days showed no statistical difference from the control mangoes in terms of weight loss, Brix value and flesh firmness (Table 5).

In brief, hot water immersion has a number of advantages which include: relative ease of use by the industries, short treatment time, reliable and accurate monitoring of fruit and water temperatures

(Sharp, 1994). Another important advantage of hot water immersion technology from an economic point of view is that the cost of a typical commercial system is approximately 10% of a commercial VHT system (Jordan, 1993). Data from this experiment pointed that hot water immersion treatment of Nam Dorkmai mangoes at innermost temperature of fruits at 46° C and maintained at this temperature for 10 min was effective for elimination of *B. dorsalis* eggs and 1st instar larvae, the most heat tolerant stage. This

Table 5 Weight loss (%), total soluble solid (°Brix) and firmness level (N) of mangoes “Nam Dorkmai” after hot water immersion at 46° C holding times at 10 min and 7 - 14 days storage at 10.05±1.35° C, 74.32±5.18 % RH

Day storage	Treatment	Weight loss (%) ^{1/}	Total soluble solid (°Brix) ^{2/}	Firmness level (N) ^{2/}
7	46°C +10 min	6.01±0.93	16.84±0.11	16.34±0.29
	control	5.57±1.26	16.42±0.53	17.58±0.37
	T-test: 46°C +10 min vs. Control	ns	ns	ns
14	46°C +10 min	13.32±0.19	17.97±0.13	10.33±0.21
	control	12.72±1.01	17.79±0.41	11.94±0.33
	T-test: 46°C +10 min vs. Control	ns	ns	ns

^{1/} Value are mean of 30 fruits (treatment), and 10 fruits (Control), ns=non-significant

^{2/} Value are mean of 9 fruits (treatment), and 3 fruits (Control), ns=non-significant

temperature caused no damage on fruit quality. Therefore, this method can be used as quarantine process to disinfest of *B. dorsalis* in Nam Dorkmai mangoes before exportation.

CONCLUSION

This research investigated hot water immersion treatment, a technique not previously employed in Thai mango exports, for disinfestation of *B. dorsalis* in Nam Dorkmai mangoes. The optimum temperatures and duration of hot water immersion treatment that can eliminate *B. dorsalis* without affecting fruit quality were examined in small and large-scale experiments. The results revealed that hot water immersion treatment at innermost temperature of fruits at 46° C and maintained at this temperature for 10 min was effective for elimination of the 1st instar larvae, the most heat tolerant stage. This temperature condition did not degrade fruit quality in terms of total soluble solids (Brix value), weight loss, or firmness level. Therefore, this approach can be considered as an alternative method for complying with quarantine regulations in countries that permit hot water treatment for imported Nam Dorkmai mangoes from Thailand.

ACKNOWLEDGMENT

We would like to thank Mr. Weerachai Prathakviriya, the officer of V.S.

Freshco Company Limited, for providing water bath for large scale test, laboratory setting and export-quality mango fruits for this study. Many thanks also go to Dr. Rampan Kosalanan and Ms. Suppamas Klinkajorn, Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture (DOA) for their assistance in providing analytical tools, manpower and advice on quality measurement of the mango fruits. Lastly, we would like to thank Mr. Udon Unahawutti, the expert of DOA, for his advice in the experiments.

REFERENCES

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 265-267.
- Couey, H.M. 1989. Heat treatment for control of postharvest disease and insect pests of fruit. *HortScience*. 24: 198-202.
- Department of Agriculture. 1988. Mango for Export. Department of Agriculture, Bangkok. 65 p.
- Jirasurat, M. and O. Prachuabmoh. 1998. Guidelines for the prevention of fruit flies in mangoes for export. *Entomology and Zoology Gazette*. 20(3): 201-204.
- Jordan, R.A. 1993. The disinfestation heat treatment process. pp. 53-68. In: *Plant quarantine in Asia and the Pacific. A report of an Asian Productivity Organization Study Meeting*.

- Taipei, Taiwan, March 17-26, 1992. Asian Productivity Organization, Tokyo.
- Kaneyuki, M., H. Adachi, K. Kikukawa and I. Miyazaki. 2014. Heat tolerance comparison among different hour-aged first instar larvae of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan. 50: 79-81.
- Kaneyuki, M., Y. Kobashigawa, T. Yamamoto, K. Kikukawa, I. Miyazaki and H. Adachi. 2016. Effect of age and feeding on heat tolerance in each larvae instar period of *Bactrocera dorsalis* and *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan. 52: 29-36.
- Lapasathukul, S., S. Phankum, U. Unahawutti and S. Charnnarongkul. 2002. Heat tolerance of immature stages of 4 tephritid fruit fly species in Thailand. An additional report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of a quarantine treatment on Thai mangosteens to be exported to Japan. Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 117 p.
- Mwando, N.L., S. Ndlela, R. Meyhöfer, S. Subramanian and S.A. Mohamed. 2021. Hot water treatment for post-harvest disinfestation of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) and its effect on cv. Tommy Atkins mango. Insects. 12(12): 1070.
- Ndlela, S., S. Ekesi, P.N. Ndegwa, G.O. Ong'amo and S.A. Mohamed. 2017. Post-harvest disinfestation of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) in mango using hot-water treatments. Journal of Applied Entomology. 141(10): 848-859.
- Sharp, J.L. 1994. Hot water immersion. pp. 133-147. In: Quarantine Treatment for Pests of Food Plants. Westview Press, Boulder, Colorado.
- Sharp, J.L., M.T. Ouye, S.J. Ingle and W.G. Hart. 1989. Hot-water quarantine treatment for mangoes from Mexico infested with Mexican fruit fly and West Indian fruit fly (Diptera: Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 82: 1657-1662.
- Stewart, W.E., B.R. Becker, M.E. Greer and L.A. Stickler. 1990. An experimental method of approximating effective heat transfer coefficients for food products. ASHRAE Transactions. 96: 142-147.
- Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathkool, E. Smihathasiri, P. Srisook and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mango infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 342 p.
- Watanabe, N., F. Ichinohe and M. Sonda. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly. Research Bulletin of the Plant Protection Service, Japan. 11: 57-58.

คำแนะนำ สำหรับผู้เขียน

วารสารวิชาการเกษตร มีวัตถุประสงค์เพื่อพิมพ์เผยแพร่ความรู้ และผลงานวิจัยด้านการเกษตร นักวิชาการทุกท่านสามารถที่จะส่งเรื่อง เพื่อลงพิมพ์ได้โดยไม่ต้องเป็นสมาชิกหรือสังกัดกรมวิชาการเกษตร เรื่องที่พิมพ์ต้องเป็นเรื่องน่าสนใจ มีสาระอันเป็นประโยชน์แก่งานวิชาการเกษตร และจะต้องเป็นเรื่องที่ไม่เคยตีพิมพ์หรือรอการตีพิมพ์ในวารสารฉบับอื่น

การส่งต้นฉบับ: **Online submission <http://at.doa.go.th/journal>**

หรือ **tci-thaijo.org/index.php/thaiagriculturalresearch**

กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทร. 0-2940-7279 Fax: 0-2561-4674

Email: journal@doa.in.th

ต้นฉบับ: พิมพ์ด้วยโปรแกรมพิมพ์เอกสาร ms-word ขนาด 16 pts พิมพ์บรรทัดห่าง 1 บรรทัด
พิมพ์หน้าเดียว มีความยาว 5-15 หน้า กระดาษขนาด A4 มีรูปแบบการเขียนและการวางหัวข้อ
ตามรายละเอียดดังนี้

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย) ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ)

(ภาษาไทย) ชื่อ สกุล¹ (ผู้แต่งคนที่ 1) ชื่อ สกุล² (ผู้แต่งคนที่ 2)
(ภาษาอังกฤษ) ชื่อ สกุล¹ (ผู้แต่งคนที่ 1) ชื่อ สกุล² (ผู้แต่งคนที่ 2)

ABSTRACT

สรุปวัตถุประสงค์ สถานที่ เวลาทำการทดลอง ที่เป็นสาระสำคัญของการทดลองเป็นภาษาอังกฤษใช้สำนวนรัดกุมและให้รายละเอียดที่ชัดเจน มีความยาวไม่เกิน 300 คำ

Keywords: ไม่เกิน 5 คำ

บทคัดย่อ

มีเนื้อหาสาระเช่นเดียวกันกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (ABSTRACT) ควรจะอยู่ในหน้าเดียวกันกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (ถ้าเป็นไปได้)

คำสำคัญ: ไม่เกิน 5 คำ

บทนำ

อธิบายถึงเหตุผล ความสำคัญ วัตถุประสงค์และเป้าหมายของงานวิจัยพร้อมทั้งเสนอข้อมูลสนับสนุน หรือโต้แย้งจากการตรวจเอกสาร

1 ที่อยู่ของหน่วยงานของผู้แต่งคนที่ 1 (ภาษาไทย)
1 ที่อยู่ของหน่วยงานของผู้แต่งคนที่ 1 (ภาษาอังกฤษ)
2 ที่อยู่ของหน่วยงานของผู้แต่งคนที่ 2 (ภาษาไทย)
2 ที่อยู่ของหน่วยงานของผู้แต่งคนที่ 2 (ภาษาอังกฤษ)

* Corresponding author : Email address

เรื่องที่จะลงพิมพ์

1. บทความวิจัย (research article) เป็นเอกสารวิชาการเพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยด้านวิทยาศาสตร์การเกษตร
2. บทความทางวิชาการ (academic article) เป็นเอกสารที่เขียนขึ้นจากการรวบรวมข้อมูลความคิดเห็นและประสบการณ์ของงานวิทยาศาสตร์เกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

อธิบายการวางแผนการทดลอง ขนาดแปลงทดลอง และรายละเอียดของวิธีการดำเนินการทดลอง วัน เวลา และสถานที่ทดลอง วิธีการบันทึกข้อมูล ใช้สำนวนที่ไม่เินยื้อ และให้รายละเอียดเป็นขั้นตอนที่ชัดเจน

ผลการทดลองและวิจารณ์

อธิบายผลการทดลองที่สำคัญ อ้างอิงถึงตาราง กราฟ หรือรูปประกอบพร้อมเหตุผลสนับสนุนผลการทดลอง และวิจารณ์เหตุผลที่ทำให้ผลการทดลองเป็นเช่นนั้น รวมทั้งอ้างอิงผลการทดลองของผู้อื่น (จากเอกสารอ้างอิงในคำนำ หรืออุปกรณ์และวิธีการ) เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านผลการทดลองนั้นๆ

สรุปผลการทดลอง

สรุปสาระสำคัญของผลการทดลอง คำแนะนำในการนำไปใช้ประโยชน์และข้อเสนอแนะในงานวิจัยเรื่องนั้นๆ ในอนาคต (ถ้ามี)

คำขอบคุณ (ถ้ามี)

กล่าวถึงบุคคลและหน่วยงานที่ช่วยเหลืองานวิจัยและทดลอง

เอกสารอ้างอิง หรือ บรรณานุกรม

ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิงแสดงในหน้าถัดไป

ตาราง

ชื่อตารางและรายละเอียดเป็นภาษาอังกฤษ เรียงตั้งแต่ Table 1 เป็นต้นไป

ภาพประกอบ

ภาพขาวดำ หรือภาพสี หรือภาพลายเส้น (กราฟ) เป็นต้นฉบับที่ชัดเจน สะอาดและสวยงาม พร้อมคำบรรยายเป็นภาษาอังกฤษเรียงตั้งแต่ Figure 1 เป็นต้นไป

การเขียน เอกสารอ้างอิง

1. การตรวจเอกสาร

ในเรื่องของคำนำหรืออุปกรณ์และวิธีการหรือ
ผลการทดลอง

ตัวอย่างการเขียน

- โกศล (2523) หรือ (โกศล, 2523)
 - อิมจิต และมานะ (2535) หรือ (อิมจิต
และมานะ, 2535)
 - สะอาด และคณะ (2523) หรือ (สะอาด
และคณะ, 2523)
 - Krebs (1978) หรือ (Krebs, 1978)
 - Lekakul et al. (1977) หรือ (Lekakul
et al., 1977)
- ถ้าเป็นเอกสารไม่ปรากฏชื่อผู้เขียนให้ใช้
- นีรนาม (2529) หรือ (นีรนาม, 2529)

ตัวอย่างการเขียน

- โกศล เจริญสม. 2523. แตนเบียนคาซิดอยด์. เอกสาร
พิเศษ ฉบับที่ 3 ศูนย์วิจัยและควบคุมศัตรูพืช
โดยชีววิธีแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เกษตรศาสตร์ และสำนักงานคณะกรรมการ
วิจัยแห่งชาติ กรุงเทพฯ. 301 หน้า
- สะอาด บุญเกิด จเร สดกร และทิพย์พรรณ สดกร.
2523. ชื่อพรรณไม้ในเมืองไทย. กองทุนจัดพิมพ์
ตำราป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 657 หน้า.
- Holm, G.L., D.L. Plucknett, J.V. Pancho and J.P.
Herberger. 1997. *Imperata cylindrica* (L.)
Beauv. pp. 62-71. In: The World's Worst
Weeds, Distribution and Biology.
Honolulu. University Press of Hawaii.
- Krebs. C.J. 1978. Ecology: The Experimental
Analysis, Distribution and Abundance.
2nd Ed. H.A. Harper and C.B. Row, (eds.)
N.Y. 678 p

2. เอกสารอ้างอิงหรือบรรณานุกรม

ในบัญชีเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง

การเรียงลำดับเอกสาร

ให้เอกสารภาษาไทยอยู่ในส่วนแรกและเอกสาร
ภาษาต่างประเทศอยู่ในส่วนที่สอง

ให้เรียงชื่อผู้แต่งตามอักษรแต่ละภาษา

ผู้แต่งชื่อเดียวกัน มีเอกสารมากกว่า 1 ฉบับ

- ถ้าตีพิมพ์ในปีต่างๆ กัน ให้เรียงปีที่พิมพ์จาก
น้อยไปหามาก

- ถ้าตีพิมพ์ในปีเดียว ให้ใส่อักษร ก, ข, ค
หรือ a, b, c กำกับในเนื้อเรื่องที่อ้างถึงก่อนและหลังตาม
ลำดับ

ประเภทของเอกสาร

ก. ตำรา

แบบการเขียน

ชื่อผู้แต่ง. ปี. ชื่อหนังสือ. ชื่อสำนักพิมพ์ จังหวัด.
จำนวนหน้า.

ข. วารสาร Newsletter และ Bulletin

แบบการเขียน

ชื่อผู้แต่ง. ปี. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสารหรือชื่อ Newsletter
หรือชื่อ Bulletin ปีที่ หน้า - หน้า

ตัวอย่างการเขียน

- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2524. วิธีการเขียนบทความทาง
วิชาการวิทยาศาสตร์. ว. สงขลานครินทร์.
3: 27-43.
- Sharwa, A.D. and C.I. Jandalk. 1986. Studies on
Recycling of Pleurotus Waste. Mushroom
Newsletter for the Tropics. 6: 13-15.
- Yano, K. 1979. Effect of Vegetable juice and Milk
on Alkylating Activity of n-methyl-n-ni
trou-rea. Journal of Agricultural and
Food Chemistry 27: 2456-2458.

ค. รายงานประจำปี

แบบการเขียน

ชื่อผู้แต่ง. ปี. ชื่อเรื่อง. หน้า-หน้า. ชื่อรายงานประจำปี
พ.ศ. หน่วยงาน.

ตัวอย่างการเขียน

กรองทอง จันทน์ อำนวย ทองดี และบรรจง สิกษะ
มณฑล. 2522. การศึกษาหาวิธีการปลูก
หอมแดงในภาคเหนือ. หน้า 5-20. ใน: รายงาน
สรุปผลการทดลองพืชสวน 2522. กองพืชสวน
กรมวิชาการเกษตร.

Lewanich, A. 1974. A Taxonomic Study on
the Lipidopterous Pests of Sugar Cane.
pp. 511-513. In: Annual Research Report
1974. Div. of Entomol.

ง. รายงานการประชุม

แบบการเขียน

ชื่อผู้แต่ง. ปี. ชื่อเรื่อง. หน้า-หน้า. ชื่อรายงานการประชุม
ครั้งที่ (ถ้ามี) วัน เดือน ปี ที่มีการประชุม
สถานที่ประชุม.

ตัวอย่างการเขียน

พิสิษฐ์ เสพสวัสดิ์ ศรีสมร พัทธ์ชัย เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธิ์
และสาทร สิริสิงห์. 2523. ประสิทธิภาพของ
สารฆ่าแมลงบางชนิดกับหนอนเจาะฝักถั่วเหลือง.
หน้า 492-523. ใน: รายงานการประชุมวิชาการ
แมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 2. กองกัญและ
สัตววิทยา 24-27 มิถุนายน 2532 กรุงเทพฯ.

Bliss, C.I. 1958. The Analysis of Insect Counts
as Negative Binomial Distribution. pp.
1015-1032. In: Proc. 10th Intern. Congr.
Ent. 2.

Magee, P.N. 1992. The Future of Research on
Chemical Carcinogenesis. Page 11. In :
2nd Princess Chulabhorn Science Congress.
Nov. 2-6, 1992. Bangkok.

จ. เอกสารไม่ปรากฏชื่อผู้เขียน

แบบการเขียน

ให้ใช้คำว่า นิรนาม หรือ Anonymous แทนชื่อตาม
ด้วยปี พ.ศ. หรือ ค.ศ. ที่ตีพิมพ์และใช้วิธีการ
เขียนตามประเภทของเอกสารนั้นๆ ดังที่กล่าว
มาแล้วข้างต้น.

แบบการเขียน

นิรนาม. 2520. สัตว์ศัตรูอ้อย. วารสารสักริมไร้อย
1: 445-449.

Anonymous. 1989. Krung Thai Bank Annual
Report 1989. Bangkok. 80 p.

ฉ. สื่อวิชาการทาง Website

แบบการเขียน

ชื่อผู้แต่ง. ปีที่พิมพ์ (กรณีไม่ปรากฏให้ใช้ n.d. หรือ
ม.ป.ป.) ชื่อเรื่องของเอกสาร.
แหล่งข้อมูล (ระบุ URL). สืบค้น (วัน เดือน ปี)

ตัวอย่างการเขียน

นิรนาม. 2556. ชาน้ำมัน (Camellia oleifera Abel).
ศูนย์วิจัยและพัฒนาชา น้ำมันและพืชชา
มูลนิธิชัยพัฒนา. แหล่งข้อมูล : <http://www.teaoilcenter.org/index.php/2013-12-01-03-05-52/2013-12-01-03-12-54/entry/camellia-oleifera-abel> สืบค้น: 20 พฤษภาคม 2559.

FSANZ. 2007. Final assessment report.
Application A565. Use of nisin in
processed meat products. Food
Standards Australia New Zealand.
Available at: http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/documents/A565_FAR_Nissin_Final.pdf.
Accessed : March 22, 2015.

Thai Agricultural Research Journal

Production : Department of Agriculture (DOA), Thailand
Off ice : Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand
Objective : As a medium for disseminate the agricultural research and innovation for crop plant

Advisors

Director general, Deputy Director General, Technical Advisor, Senior Experts
Directors of Centre, Divisions, Institutes and Offices

Editor

Amara Chinaphuti, Ph.D. Department of Agriculture (DOA)

Assistant Editors

Walaiporn Sasiprapa Information and Communication Technology Center, DOA
Aumnuai Adthlangrong Horticulture Institute, DOA
Kanchana Pruesapan, Ph.D. Plant Varieties Protection Office, DOA

Editorial Board

Wannarat Chutibut	Agricultural Production Science Research and Development Division, DOA
Suphakarn Luanmanee, Ph.D.	Agricultural Production Science Research and Development Division, DOA
Piyanuch Sornchai, Ph.D.	Biotechnology Research and Development Office, DOA
Nettra Somboonkaew, Ph.D.	Postharvest of Horticulture Crop Group, PPRDD, DOA
Boonyawadee Chirawut, Ph.D.	Postharvest Pathology Research Group, PPRDD, DOA
Supamas Klinkajorn Crops	Processing Research and Development Group, PPRDD, DOA
Vichanee Ormzubsin	Surat Thani Oil Palm Research Center, DOA
Chanintorn Doungsa-ard, Ph.D.	Plant Protection Research and Development Office, DOA
Patchareewan Chongchitmate, Ph.D.	Plant Protection Research and Development Office, DOA
Suphasit Sngiamphongse	Retied government official
Pornpimon Athipunyakom, Ph.D	Retied government official
Suprada Sukonthabhirom na Pattalung, Ph.D.	Retied government official
Surapee Kiratiyaangul	Agricultural Research Development Agency (ARDA)
Sanchai Tantayaporn, Ph.D.	National Bureau of Agriculture Community and Food Standard (ACFS)
Hathairat Urairong, Ph.D.	Rangsit University
Assoc. Prof. Wichai Kositratana, Ph.D.	Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus
Assoc. Prof. Penkwan Chompreeda, Ph.D.	Kasetsart University
Assoc. Prof. Orapin Kerdchoechuen, Ph.D.	King Mongkut's University of Technology Thonburi
Assoc. Prof. Kamronwit Thipmanee, Ph.D.	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Asst. Prof. Piyaporn Chueamchaitrakun, Ph.D.	Mae Fah Luang University
Asst. Prof. Jeeraporn Pekkoh, Ph.D.	Chiang Mai University
Asst. Prof. Boonsom Bussabun, Ph.D.	Chiang Mai University
Wanporn Khemmuk, Ph.D.	Rice Department
Kriengsak Lirdprapamongkol, Ph.D.	Chulabhorn Research Institute

Manager

Director of Research planning group Planning and Technical Division, DOA

Assistant Manager

Donya Klaymala Planning and Technical Division, DOA



THAI AGRICULTURAL RESEARCH JOURNAL

Volume 42 No. 1

January - April 2024

ISSN : 3027-7264 (Print) ISSN : 3027-7272 (Online)

CONTENTS

EDITORIAL.....1

Amara Chinaphuti

RESEARCH PAPERS

- Nitrogen Response and Uptake of Sweet Corn Grown on Clay Loam Soil.....2
Chattapanorn Kueanoon Sainam Udpuay Piyanun Wiwatwittaya
- Variability of *Pyricularia oryzae* Populations Causing Agents of Rice Blast in Thailand.....14
Oraya Phanon Wanwilai Intanoo Siripar Korinsak Jintana Unartngam
- Physiological Race Profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolated from
the Rice Ecosystem in Chiang Rai Province.....24
Pairoh Khwanngam Luksorn Tumariya Thitima Chintaganon Dany Thongkham
Jutatape Watcharachaiyakup Sujin Patarapuwadol
- Wastewater from Tapioca Starch Manufacturers Affecting Growth and Yield
of Sugarcane.....37
Jureeporn Keabpimai Pilanee Vaithanomsat Waraporn Apiwatanapiwat Chanaporn Trakunjae
Phornphimon Janchai Eakpong Tanawat Jiraporn Meelaksana Antika Boondaeng
- Planting Methods Affecting Soybean Yields Grown after Rice.....51
Sopit Jaipala Jongrak Phunchaisri Pimol Pavadee Kallaya Whitee
- Enzyme Production of *Trichoderma* spp. Isolated from Soil and Mushroom Spawn.....62
Payungsak Rauyaree Tassanaporn Tassakorn
- Genome Wide Association Study (GWAS) for Southern Corn Rust (SCR)
Disease Resistance in Maize.....71
Nay Nay Oo Vinitchan Ruanjaichon Kularb Laosatit Theerayut Toojinda Jintana Unartngam
- Path Analysis of Fresh Fruit Bunch and Bunch Weight in Oil Palm.....86
Surakitti Srikul Somkid Damnoi Suteera Thawornrat Peerasak Srinives
Anek Limsrivilai Patcharin Tanya
- Hot Water Immersion Treatment of Nam Dorkmai Mango Infested with Oriental
Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), for Export.....95
Sunyanee Srikachar Korrakot Damrak