



วารสาร วิชาการเกษตร THAI AGRICULTURAL RESEARCH JOURNAL

ปีที่ 42 ฉบับที่ 3

กันยายน - ธันวาคม 2567

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

สารบัญ

บทบรรณาธิการ.....	233
อมรา ชินภูติ ผลงานวิจัย	
• การพัฒนาไถระเบิดดินดานสองขาเรียงตามแนวการเคลื่อนที่แบบปรับความลึกขาไถอัตโนมัติ.....	234
ชานน ชะเอม ประเทือง อุษาบริสุทธิ์ ชัยยะ จันทรา วัชรชาญ สุขเจริญวิภารัตน์ วันรัฐ อับดุลลาฮาซิม	
• การพัฒนาเครื่องปลูกต้นกล้าอ้อยในแนวตั้งสำหรับอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อย.....	245
ภธร จันทอรุดม ศิริศักดิ์ เชิดเกียรติพล	
• การตอบสนองของข้าวบางพันธุ์ต่อเชื้อรา <i>Exserohilum rostratum</i> สาเหตุโรคใบจุดในข้าว และการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชระหว่างข้าวถูกทำลาย.....	257
ญาทวี บุญก่อน วีระณีย์ ทองศรี ปฐวิภา สงกุมาร	
• วิวัฒนาการของเชื้อ <i>columnea latent viroid (CLVd)</i> ในพืชอาศัย โดยการศึกษา quasi-species population.....	272
ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภรณ์ กาญจน วาระวิชนี Annelies Haegeman Monica Höfte Kris De Jonghe	
• การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SNP เพื่อตรวจประชากรเชื้อ <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวในประเทศไทยด้วยเทคนิค MassARRAY.....	287
ลูกศร ทุมอะริยะ ธิติมา จินตกานนท์ วินิตชาญ รื่นใจชน สุจินต์ ภัทรภูวดล	
• คุณลักษณะสีและกลิ่นของทุเรียนพื้นบ้านจังหวัดสงขลา.....	302
รุสนี กุลวิจิตร พงชนาถ พัทบุรี พิสมัย ปิ่นศรีทอง ทรงสุตา พรหมทอง วชิราภรณ์ ปิสิโตร ศักดิ์ชัยบดี ปิ่นศรีทอง	
• ผลของวัสดุห่อผลต่อผลผลิตและคุณภาพอินทผลัมพันธุ์บาร์บี้.....	317
สุมิตร วิลัยพร ศิริกานต์ ศรีธัญรัตน์ ศิริลักษณ์ อินทวงค์	
• การเปรียบเทียบผลผลิตกล้วยไข่สายพันธุ์กลายจากการฉายรังสีแกมมา.....	330
ปิยะนุช มุสิกพงศ์ ชญานุช ตรีพันธ์ สุมาลี ศรีแก้ว ศุภลักษณ์ อริยภูชัย อรรถพล รุกขพันธ์	
• Comparison of Bunch Yield of Five Hybrids and Two Commercial Tenera Oil Palms in the Young Mature Phase.....	340
Suteera Thawornrat Puntaree Taeprayoon Kittichai Kor-Or Somkid Damnoi Surakitti Srikul Peerasak Srinives Anek Limsrivilai Patcharin Tanya	

วารสารวิชาการเกษตร

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

ที่ปรึกษา

อธิบดีกรมวิชาการเกษตร รองอธิบดีกรมวิชาการเกษตร ที่ปรึกษาด้านวิชาการเกษตร
ผู้เชี่ยวชาญกรมวิชาการเกษตร เลขาธิการกรม ผู้อำนวยการสถาบันวิจัย ผู้อำนวยการกอง
ผู้อำนวยการสำนัก ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 – 8

บรรณาธิการ

ดร.อมรา ชินภูติ กรมวิชาการเกษตร

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

วลัยพร ศะศิประภา ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมวิชาการเกษตร
อำนาจ อรรถลักรอง สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร
ดร.กาญจนา พฤษพันธ์ สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

กองบรรณาธิการ

วรรณรัตน์ ชูติบุตร	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
ดร.ศุภกาญจน์ ล้วนมณี	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
ดร.ปิยานุช ศรชัย	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร
ดร.เนตรา สมบูรณ์แก้ว	กลุ่มงานวิจัยพืชสวนหลังการเก็บเกี่ยว กวป. กรมวิชาการเกษตร
ดร.บุญญวดี จิระวุฒิ	กลุ่มงานวิจัยโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว กวป. วิชาการเกษตร
ศุภมาส กลิ่นขจร	กลุ่มงานวิจัยการแปรรูปผลิตผลเกษตร กวป. กรมวิชาการเกษตร
วิชณีย์ ออมทรัพย์สิน	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร
ดร.ชนินทร์ ดวงสะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
ดร.พัชรวิวรรณ จงจิตเมตต์	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
สุภาสิต เสี่ยงพวงค์	ข้าราชการเกษียณอายุ
ดร.พรพิมล อธิปัญญาคม	ข้าราชการเกษียณอายุ
ดร.สุภาวตา สุนทราภิรมย์ ณ พัทลุง	ข้าราชการเกษียณอายุ
สุรภี กิรติยะอังกูร	สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก)
ดร.ลัดชัย ตันตยาภรณ์	สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช)
ดร.พัยรัตน์ อุไรวงศ์	คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต
รศ.ดร.วิชัย ไชยรัตน์	คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รศ.ดร.เพ็ญขวัญ ชมปรีดา	คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รศ.ดร.อรพิน เกิดชูชื่น	คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
รศ.ดร.คำรณวิทย์ ทิพย์มณี	คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผศ.ดร.ปิยาภรณ์ เชื้อมชัยตระกูล	สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ผศ.ดร.จิราพร เพกกะ	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผศ.ดร.บุญสม บุษบรรณ	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ดร.วันพร เข้มมุขี	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 3

กันยายน - ธันวาคม 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 รวมทั้งองค์กรต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

บทบรรณาธิการ

วารสารวิชาการเกษตร เป็นวารสารที่อยู่ในฐานข้อมูลของศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai Journal Citation Index Centre) และได้รับการประเมินคุณภาพวารสาร อยู่ในกลุ่มที่ 1 (Tier 1) วารสารฉบับนี้เป็นปีที่ 42 ฉบับที่ 3 (กันยายน-ธันวาคม 2567) มีผลงานวิจัยทางด้านเกษตร (พืช) ที่นำมาเผยแพร่หลายด้าน เช่น ด้านเกษตรวิศวกรรม โรคพืช พืชสวน วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว และ ชีวโมเลกุล ซึ่งทุกผลงานวิจัยมีประโยชน์สามารถนำไปใช้ได้ทันที หรืออาจนำไปต่อยอดงานวิจัย และขยายผลต่อไปได้

ในโอกาสนี้ ขอขอบคุณผู้วิจัยทุกท่านที่ส่งผลงานวิจัยมาตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการเกษตรกันอย่างต่อเนื่อง ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกสาขาวิชาที่ให้ความอนุเคราะห์พิจารณาผลงานวิจัย แก้ไข และให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์อย่างมากกับผู้วิจัยก่อนการตีพิมพ์ ทำให้ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารมีคุณภาพได้มาตรฐาน และขอขอบคุณกองบรรณาธิการทุกท่านที่ร่วมกันทำงานมาโดยตลอด ทำให้วารสารวิชาการเกษตรประสบความสำเร็จด้วยดี และเชิญพบกับบรรณาธิการวารสารวิชาการเกษตรท่านใหม่ ในฉบับต่อไป



(ดร. อมรา ชินนุติ)

บรรณาธิการวารสารวิชาการเกษตร

การพัฒนาไถระเบิดดินดานสองขาเรียงตามแนวการเคลื่อนที่แบบปรับความลึกขุดอัตโนมัติ

Development of a Subsoiler with Two Tandem Shanks Arranged for Directional Movement and Automated Depth Adjustment

ชานน ชะเอม^{1/} ประเทือง อุษาบริสุทธิ์^{1/*} ชัยยะ จันทรา^{1/} วัชรชาญ สุขเจริญวิภารัตน์^{1/} วันรัฐ อับดุลลาหิม^{1/}
Chanon Chaem^{1/} Prathuang Usaborisut^{1/*} Chaiya Jantra^{1/} Watcharachan Sukcharoenvipharat^{1/}
Wanrat Abdullakasim^{1/}

Received 19 Apr. 2024/Revised 12 Jun. 2024/Accepted 13 Jun. 2024

ABSTRACT

Subsoiling is essential for farmers to rectify soil compaction that reduces crop yields, but it requires high drawbar pull, often exceeding the capabilities of farmers' tractors and increasing costs. This study aimed to develop a tandem-type subsoiler with a front shank equipped with automatic depth adjustment to minimize drawbar pull during subsoiling operations. The front subsoiler shank (FSS) can autonomously adjust its depth, controlled by an automatic depth control system utilizing an Arduino UNO microcontroller. Moreover, the distance between the FSS and the rear subsoiler shank (RSS) is adjustable. Field tests were conducted in Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom, where the soil exhibited a moisture content of $5.4 \pm 1.92\%$, a bulk density of $1.5 \pm 0.14 \text{ g/cm}^3$, and a soil penetration resistance ranging from 0 to 50 cm depth, with an average of $1.88 \pm 0.41 \text{ MPa}$. Four key factors were considered during testing: 1) type of FSS point (winged point and fin point), 2) Motor systems for adjusting the depth of the front subsoiler shank (fixed displacement control system and immediate response system), 3) Motor sensitivity (10, 20 and 30%), and 4) Distance between the FSS and RSS (40, 50 and 60 cm). The subsoiling depth during the test was 50 cm. Results demonstrated that the control system facilitated automatic up and down movement of the FSS to determine the optimal drawbar pull. Specifically, the FSS equipped with a fin point exhibited significantly lower drawbar pull compared to the winged point, with values of $14.84 \pm 3.30 \text{ kN}$ and $17.66 \pm 2.87 \text{ kN}$, respectively. Additionally, a distance of 40 cm between the FSS and RSS resulted in the least drawbar pull of $14.42 \pm 3.00 \text{ kN}$. Notably, the tandem-type subsoiler with automatic depth adjustment achieved the lowest drawbar pull of $12.65 \pm 1.33 \text{ kN}$.

^{1/} ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

^{1/} Department of Agricultural Engineering, Faculty of Engineering at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

* Corresponding author: fengptu@ku.ac.th

representing a reduction of over 10% compared to a conventional single shank subsoiler, which exhibited a drawbar pull of 14.00 ± 2.01 kN under similar test conditions. Motor systems for adjusting the depth of the front subsoiler shank and sensitivity did not significantly affected drawbar pull. Research results indicate that using a subsoiler with two tandem shanks, where the front shank automatically adjusts its depth, allows farmers to perform subsoiling more efficiently, resulting in better crop yields and reduced costs.

Keywords: tandem-type subsoiler; automatic depth control; soil compaction; precision agriculture

บทคัดย่อ

การไถระเบิดดินดานเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องดำเนินการขณะเตรียมดินก่อนปลูกพืช เพื่อแก้ปัญหาการอัดแน่นของดินซึ่งมีผลทำให้ผลผลิตพืชลดลง แต่การไถระเบิดดินดานนั้นเป็นงานที่ต้องใช้กำลังคนสูง บางครั้งเกินกำลังของเครื่องมือที่เกษตรกรมีอยู่ หรือทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ออกแบบและสร้างขาไถระเบิดดินดานขาเรียงแบบปรับความลึกขาหน้าอัตโนมัติ เพื่อลดแรงฉุดลากด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino UNO ระยะห่างระหว่างขาหน้าและขาหลังสามารถตั้งปรับได้ และได้ทำการทดสอบไถระเบิดดินดานที่สร้างและพัฒนาขึ้นในแปลงอ้อย ที่ อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม ดินมีความชื้น $5.4 \pm 1.92\%$ ความหนาแน่นของดิน 1.5 ± 0.14 ก./ลบ.ซม. ค่าความต้านทานการแทรกทะลุ ช่วงความลึก 0-50 ซม.

มีค่า 1.88 ± 0.41 เมกะปาสคาล ตามลำดับ ปัจจัยในการทดสอบ 4 ปัจจัย คือ 1) ชนิดเล็บของขาหน้า มี 2 แบบ แบบมีปีกและแบบมีครีบบนไม่มีปีก 2) ระบบการทำงานของมอเตอร์ควบคุมความลึกขาไถหน้า 2 แบบ แบบเคลื่อนที่ตามระยะกำหนดและแบบตอบสนองการเคลื่อนที่ทันที 3) ความไวของการตอบสนองที่ 10 20 และ 30% 4) ระยะห่างระหว่างขาหน้าและขาหลังที่ 40 50 และ 60 ซม. โดยความลึกของการไถระเบิดดินดานที่ทำการทดสอบอยู่ที่ 50 ซม. จากการทดสอบพบว่า ระบบสามารถควบคุมให้ขาหน้าปรับขึ้นลงเพื่อหาแรงฉุดลากต่ำสุดได้ เล็บของขาหน้าแบบมีครีบบนไม่มีปีกมีแรงฉุดลากน้อยกว่าเล็บของขาหน้าแบบมีปีก โดยมีค่าแรงฉุดลาก 14.84 ± 3.30 และ 17.66 ± 2.87 กิโลนิวตัน ตามลำดับ ระยะห่างระหว่างขาหน้ากับขาหลังที่ 40 ซม. มีแรงฉุดลากน้อยที่สุด 14.42 ± 3.00 กิโลนิวตัน ขาไถระเบิดดินดานแบบปรับความลึกอัตโนมัติมีแรงฉุดลากเฉลี่ย 12.65 ± 1.33 กิโลนิวตัน ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับไถระเบิดดินดานขาเดียวโดยนำขาไถระเบิดดินดานขาหน้าออก มีแรงฉุดลาก 14.00 ± 2.01 กิโลนิวตัน ซึ่งพบว่า สามารถช่วยลดแรงฉุดลากได้มากกว่า 10% ในพื้นที่ที่ทำการทดสอบ และระบบการทำงานของมอเตอร์ควบคุมความลึกขาไถหน้าและความไวในการตอบสนองของมอเตอร์ไม่ส่งผลต่อแรงฉุดลากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการวิจัยการใช้ขาไถแบบที่มี 2 ขา โดยขาหน้าสามารถปรับความลึกได้อัตโนมัติ นั้น ทำให้สามารถไถระเบิดดินดานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการไถระเบิดดินดาน และส่งผลให้ผลผลิตพืชดีขึ้น

คำสำคัญ: ไถระเบิดดินดานแบบขาเรียง; การควบคุมความลึกอัตโนมัติ; การอัดแน่นของดิน; การเกษตรแม่นยำ

บทนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ ไทย จากรายงานสถานการณ์พื้นที่ปลูกอ้อยใน ปี 2565/2566 มีพื้นที่การเพาะปลูกอ้อยรวม 11.4 ล้านไร่ (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและ น้ำตาลทราย, 2565) การเพาะปลูกอ้อยมีหลาย กระบวนการ เช่น การเลือกพันธุ์อ้อย การเตรียมดิน การดูแลรักษา การเก็บเกี่ยว รวมไปถึงการขนส่ง อ้อยไปยังโรงงานน้ำตาล (Garside et al, 2008; Usaborisut and Sukcharoenvipharat, 2011) ในกระบวนการที่กล่าวมาการเตรียมดินเป็น กระบวนการที่สำคัญ ช่วยเพิ่มผลผลิตของอ้อย โดยการเตรียมดินจะทำให้โครงสร้างของดินเหมาะ สำหรับการเพาะปลูกอ้อย (ประเทือง, 2565) น้ำ สามารถซึมผ่านลงไปดิน และดินสามารถเก็บ ความชื้นไว้ได้ เกิดการไหลเวียนของอากาศ และ ที่สำคัญลดความต้านทานการแทงทะลุของรากอ้อย ลงได้ ในการเตรียมดินของเกษตรกร พบว่า ปัญหา มาจากการเกิดชั้นดินดาน เนื่องจากการใช้ เครื่องจักรขนาดใหญ่ในพื้นที่เพาะปลูกอ้อย รวมไปถึง การขนส่งอ้อยไปยังโรงงานน้ำตาล (Garside et al, 2008; วัชรชาญ และประเทือง, 2553) เมื่อ เกิดชั้นดินดานขึ้น ทำให้รากอ้อยไม่สามารถแทง ทะลุลงไปยังชั้นดินและน้ำใต้ดินไม่สามารถขึ้นมาได้ ซึ่งส่งผลเสียต่อผลผลิตอ้อย

ปัจจุบันเกษตรกรใช้ไถระเบิดดินดานเป็น อุปกรณ์เตรียมดินที่ใช้สำหรับแก้ปัญหาชั้นดินดาน ในพื้นที่เพาะปลูกอ้อย ชั้นดินดานมีลักษณะแน่น และแข็งมาก การไถระเบิดดินดานจึงเป็นงานที่หนัก ต้องใช้แรงและกำลังฉุดลากจากรถแทรกเตอร์สูง และอาจทำให้เกิดความเสียหายต่อตัวอุปกรณ์ เตรียมดินได้ การใช้ชาไถระเบิดดินดานแบบขาเรียง ที่มีขาไถหน้าและขาหลังอยู่ในแนวเดียวกัน เป็น

อีกทางเลือกที่สามารถช่วยให้การไถระเบิดดินดาน มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Kasisira and Plessis, 2006) และการเลือกใช้เล็บที่ปลายของขาไถระเบิด ดินดานนั้นส่งผลต่อแรงฉุดลากโดยตรง (Aday and Ramandhan, 2019) แต่แรงฉุดลากนั้นขึ้นกับระยะ ความลึกของขาหน้าเมื่อเทียบกับขาหลัง ระยะห่าง ระหว่างขา และยังขึ้นกับสมบัติของดินด้วย ตาม การทดลองของ Kasisira and Plessis (2006) ซึ่ง ทำการทดลองปรับระยะขาหน้า 4 ระดับ คือ 10 20 30 และ 40 ซม. แบบไม่ต่อเนื่อง ดังนั้น งานวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบและสร้างชาไถระเบิด ดินดานแบบปรับความลึกอัตโนมัติขาหน้าได้ต่อเนื่อง เพื่อลดแรงฉุดลากและเพื่อให้การไถระเบิดดินดานมี ประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

ไถระเบิดดินดานแบบขาเรียงที่ขาหน้า สามารถปรับความลึกอัตโนมัติที่พัฒนาขึ้น มีขาไถ 1 ชุด 2 ขา วางเรียงกันในแนวทิศทางการเคลื่อนที่ ของรถแทรกเตอร์ ใช้กับรถแทรกเตอร์ category II ขาไถระเบิดดินดานขาหน้า (front subsoiler shank, FSS) สามารถเคลื่อนที่ขึ้นและลงแบบอัตโนมัติตาม ความแข็งของดินในแปลงเพื่อลดแรงฉุดลาก ด้วย ระบบควบคุมไมโครคอนโทรลเลอร์

1. การออกแบบและสร้างชุดไถระเบิดดินดาน แบบขาเรียงปรับความลึกอัตโนมัติ

ไถระเบิดดินดานปรับความลึกอัตโนมัติที่ พัฒนาขึ้นมีส่วนประกอบที่สำคัญ (Figure 1) ได้แก่ จุดต่อพ่วงสามจุด (หมายเลข 1) เพื่อยึดชุดขาไถ เข้ากับรถแทรกเตอร์ กลไกควบคุมความลึกอัตโนมัติ สักงานด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ เมื่อไมโคร คอนโทรลเลอร์รับสัญญาณแรงฉุดลากจากสลัก

วัดแรงจุดลากทั้ง 3 จุด (หมายเลข 2) โปรแกรมจะประมวลผลและสั่งงานให้มอเตอร์ (หมายเลข 3) หมุนส่งกำลังโดยชุดเฟืองโซ่ (หมายเลข 4) ที่ติดตั้งเพลาเกลียว (หมายเลข 5) เข้ากับ FSS ทำให้ FSS สามารถเคลื่อนที่ขึ้นและลงตามรางสไลด์ (หมายเลข 7) ได้ตั้งแต่ 0-45 ซม. ซึ่งจะมีลูกปืนเตเปอร์ (หมายเลข 8) สำหรับรับแรงที่เกิดขึ้นขณะทำการไถระเบิดดินดาน ชุดขาไถระเบิดดินดานปรับความลึกอัตโนมัติสามารถ

ปรับระยะห่างระหว่าง FSS กับขาไถระเบิดดินดาน ขาหลัง (rear subsoiler shank, RSS) ได้การปรับระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS ทำได้โดยการปรับตำแหน่งของ RSS ด้วยการคลายนอตยึดและเลื่อนประกบ RSS ไปตามระยะที่กำหนดและล็อกนอตยึด และขาหลังสามารถไถระเบิดดินดานได้ลึก 50 ซม. ซึ่งเป็นระดับความลึกที่เหมาะสมสำหรับการไถระเบิดดินดาน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2553)

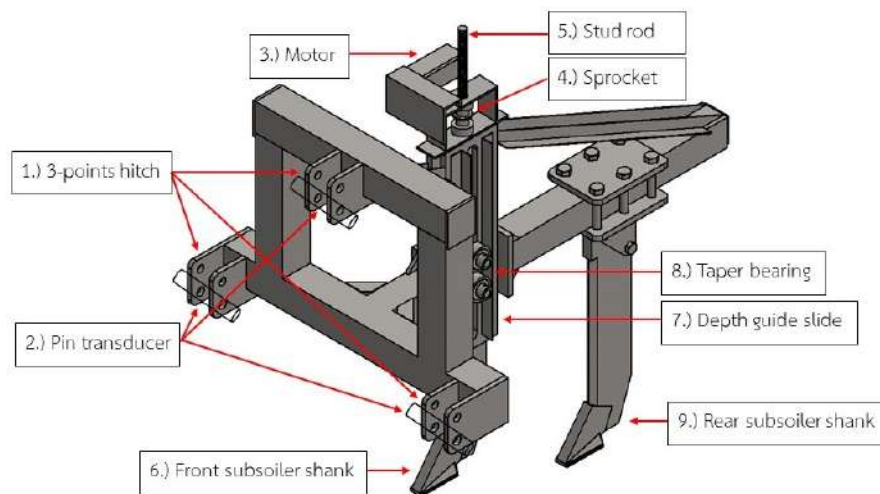


Figure 1 Components of automatic depth adjusting subsoiler

2. ระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์

ระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติควบคุมด้วยบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino UNO R3 โดยระบบจะมีบอร์ดหลักทำหน้าที่วัดแรงจุดลากด้วยสลักวัดแรงจุดลาก VPG5117 (model 5117, Vishay precision group, USA) และประมวลผลการทำงานของระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติแล้วส่งสัญญาณการทำงานไปยังบอร์ดรอง เพื่อให้บอร์ดรองสั่งการทำงานของมอเตอร์ผ่าน servo driver โดยที่บอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ทั้งสองบอร์ดเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์เพื่อบันทึกค่าแรงจุดลากแบบเรียลไทม์ โดยโปรแกรม PLX-DAQ (Parallax, USA) ใช้แหล่งจ่ายไฟฟ้าจากแบตเตอรี่ของรถแทรกเตอร์ (Figure 2)

3. แผนผังการทำงานของระบบควบคุมอัตโนมัติ

ระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติทำงานดังนี้ เมื่อเริ่มต้นการทำงาน FSS จะอยู่ที่ระยะ 30 ซม. ส่วน RSS อยู่ที่ระยะ 50 ซม. คงที่ตลอดการทำงาน หลังจากนั้นระบบจะวัดแรงจุดลากแล้วนำค่าแรงจุดลากมาคำนวณเป็นผลต่างของแรงจุดลาก ซึ่งโดยกำหนดเป็นความไวในการตอบสนองของระบบ (sensitivity) ถ้าความแตกต่างมากกว่าที่กำหนด ระบบจะสั่งให้ FSS เคลื่อนที่ลงมาช่วยการทำงานของ RSS เพื่อลดแรงจุดลาก จนถึงจุดซึ่งมีค่าแรงจุดลากต่ำสุด โดยเมื่อแรงจุดลากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น FSS จะเคลื่อนที่ขึ้นเพื่อรักษาตำแหน่งที่ทำให้เกิดแรงจุดลากในการไถระเบิดดินดานมีค่าน้อยที่สุด (Figure 3)

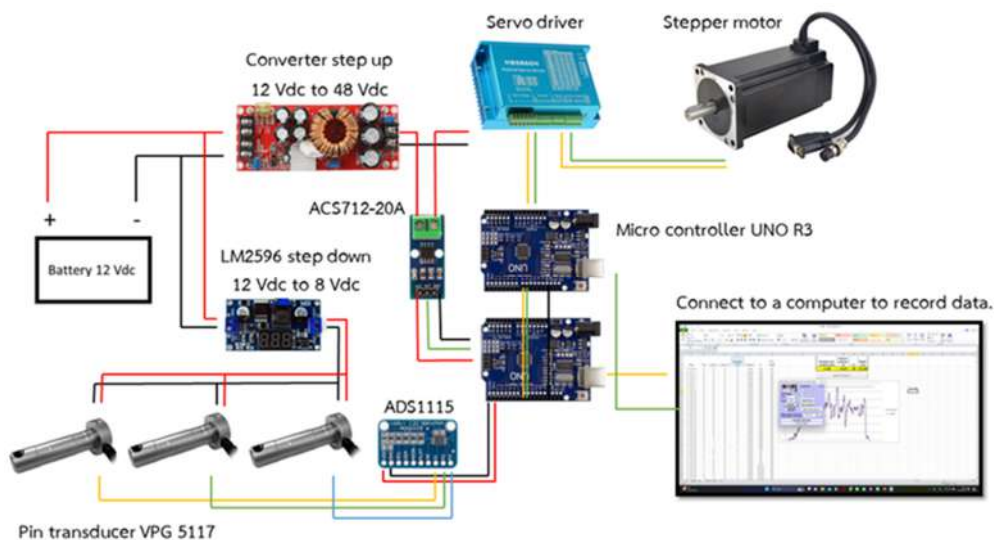


Figure 2 Devices and wiring diagram of automatic depth control system

ระบบควบคุม FSS มี 2 แบบ คือ แบบเคลื่อนที่ตามระยะกำหนด และแบบตอบสนองการเคลื่อนที่ทันที โดยแบบเคลื่อนที่ตามระยะกำหนด ลักษณะการทำงานของระบบควบคุมจะรับค่าผลต่างของแรงดูดลากมาแล้วสั่งให้มอเตอร์ทำงานให้ FSS เคลื่อนที่ขึ้นหรือลงเป็นระยะ 2 ซม. เสร็จแล้วจึงรับค่าผลต่างของแรงดูดลากชุดใหม่ แบบตอบสนองการเคลื่อนที่ทันที เมื่อมอเตอร์ทำงานให้ FSS เคลื่อนที่ขึ้นหรือลงแบบต่อเนื่องและรับค่าผลต่างของแรงดูดลากชุดใหม่ทุก ๆ วินาที ข้อแตกต่างของแบบเคลื่อนที่ตามระยะกำหนดและแบบตอบสนองการเคลื่อนที่ทันที คือ เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของแรงดูดลากในแปลง แบบเคลื่อนที่ตามระยะกำหนด จะต้องรอคำสั่งการทำงานของมอเตอร์ชุดเก่าให้เสร็จก่อนจึงทำงานคำสั่งใหม่ แต่แบบตอบสนองการเคลื่อนที่ทันที จะสามารถเปลี่ยนแปลงคำสั่งการทำงานของมอเตอร์ได้ในทันทีที่กำหนดให้มี 2 ระบบ นี้เพื่อศึกษาว่า ในสภาพแปลงจริง ที่มีความแตกต่างของความแข็งของดินภายในแปลงนั้น แบบไหนจะตอบสนองต่อการทำงานได้ดีกว่ากัน

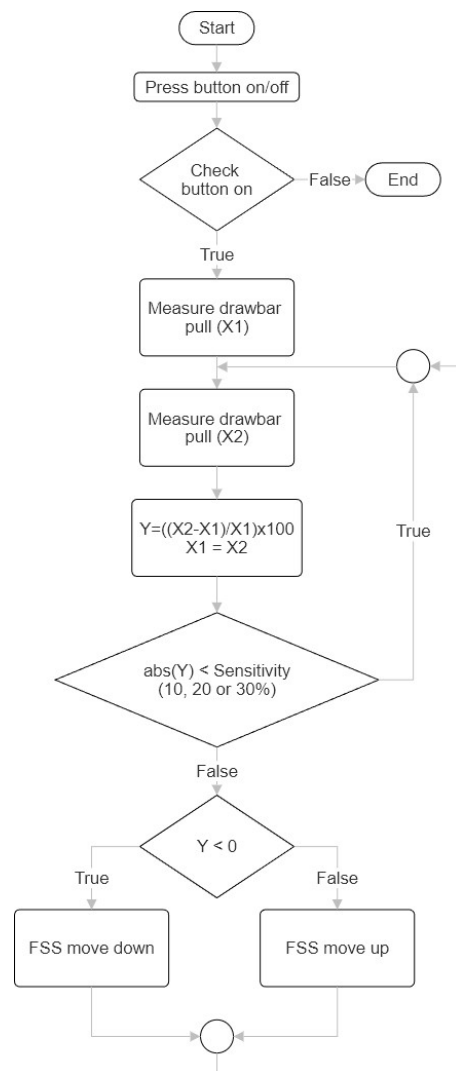


Figure 3 Flow chart of automatic depth control system

4. การทดสอบหาความสัมพันธ์ของระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติที่ส่งผลต่อแรงฉุดลาก

4.1 พื้นที่การทดสอบ

แปลงทดสอบเป็นแปลงไร่อ้อย ที่ อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม ขนาด 60x110 ม. โดยแบ่งพื้นที่เป็นแปลงย่อยขนาด 1.5x3 ม. แปลงทดสอบมีเนื้อดินเป็นประเภทดินร่วนปนทราย มีความชื้นดินร้อยละ 5.4 ± 1.92 ความหนาแน่นดิน 1.50 ± 0.14 ก./ลบ.ซม. และค่าความต้านทานการแทรกทะลุเฉลี่ย ช่วง 0-10 10-20 20-30 30-40 40-50 และ 50-60 ซม. มีค่า 2.41 ± 0.72 1.47 ± 0.39 1.45 ± 0.28 2.09 ± 0.38 1.97 ± 0.35 และ 1.90 ± 0.39 เมกะปาสกาล ตามลำดับ ซึ่งในการทดสอบใช้รถแทรกเตอร์ต้นกำลัง รุ่น Massey Ferguson 4245 ขนาด 85 แรงม้า ความเร็วการเดินทาง 2 กม./ชม. ทำ 3 ซ้ำ ซึ่งได้การทดสอบทั้งหมด 108 การทดสอบ และการทดสอบไถระเบิดดินดานชาเดียวที่ตำแหน่ง 40 ซม. จากตำแหน่งชาไถหน้าเดิมที่นำออกไปอีก 6 การทดสอบ รวมการทดสอบทั้งหมด 114 การทดสอบ โดยใช้ชุดไถระเบิดดินดานแบบชาเรียงปรับความลึกอัตโนมัติที่พัฒนาขึ้น (Figure 4)



Figure 4 Automatic depth adjusting subsoiler in field testing

4.2 ปัจจัยในการทดสอบของระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติที่ส่งผลต่อแรงฉุดลาก

ปัจจัยในการทดสอบมีทั้งหมด 4 ปัจจัย คือ 1) เล็บของ FSS (point) มี 2 แบบ แบบมีปีก (winged point) และแบบมีครีปไม่มีปีก (fin point) (Figure 5) 2) ระบบการทำงานของมอเตอร์ควบคุมความลึกขาไถหน้า (systems) 2 แบบ แบบเคลื่อนที่ตามระยะกำหนดและแบบตอบสนองการเคลื่อนที่ทันที 3) ความไวของการตอบสนองที่ 10 20 และ 30% 4) ระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS โดยปรับระยะของขาไถระเบิดดินดานด้านหลัง (distance) ที่ 40 50 และ 60 ซม. ซึ่งอยู่ในช่วงการทดสอบเดียวกับงานวิจัยของ Kasisira and Plessis (2006) และความลึกของการไถระเบิดดินดานที่ทำการทดสอบอยู่ที่ 50 ซม.

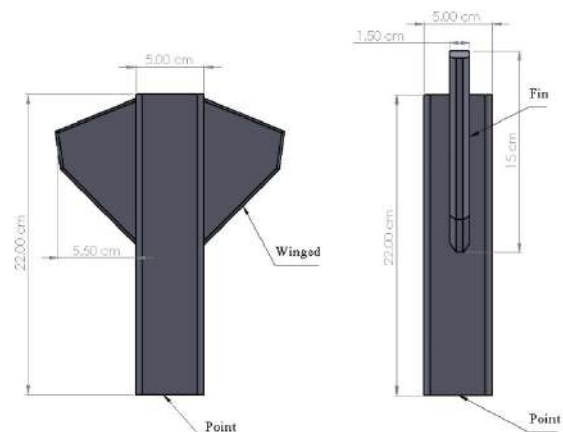


Figure 5 Type of front subsoiler shank point

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทำงานของขาไถและมอเตอร์ปรับความลึก

การทดสอบการทำงานของขาไถระเบิดดินดานที่พัฒนาขึ้น พบว่า ขาไถหน้ามีการเคลื่อนที่ลงตามค่าแรงฉุดลาก (Figure 6A) ในช่วงเวลาที่ 10-20 วินาที ของการทดสอบมีแรงฉุดลากเพิ่มขึ้น ระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติจึงสั่งงานให้ FSS เคลื่อนที่ลงเพื่อช่วยลดแรงฉุดลากช่วงเวลาที่

10-20 วินาที (Figure 6B) เนื่องด้วยดินในแปลงทดสอบมีความแข็งไม่สม่ำเสมอ ระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติจะสั่งงานให้ FSS เคลื่อนที่ขึ้นและลงตลอดเวลา จนถึงจุดที่มีแรงฉุดลากคงที่ดังช่วงเวลา 30-50 วินาที (Figure 6A) การใช้กระแสไฟฟ้าสูงสุดของมอเตอร์นั้นเกิดขึ้นในจังหวะที่ FSS เคลื่อนที่ขึ้น ดังเวลาที่ 28 วินาที ใน Figure 6C เนื่องจากจะมีแรงต้านของดินกระทำกับขาไถระเบิดดินดานมากกว่าในจังหวะที่ FSS เคลื่อนที่ลง

2. ผลของปัจจัยที่ทดสอบต่อแรงฉุดลาก

การทดสอบหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ทดสอบไถระเบิดดินดานแบบมีระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติของขาหน้า โดยที่ความลึกการไถระเบิด

ดินดานของขาหลังที่ระดับความลึก 50 ซม. ทั้งหมด 108 การทดสอบ (Table 1) พบว่า เล็บของ FSS แบบมีครีบบไม่มีปีก มีแรงฉุดลากน้อยกว่า เล็บของ FSS แบบมีปีก ในทุกระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS ที่ 40 50 และ 60 ซม. (Figure 7) ทั้งนี้เนื่องจาก เล็บของ FSS แบบมีครีบบไม่มีปีก ครีบบช่วยกรีดดินและมีพื้นที่ในการต้านทานดินขณะไถระเบิดดินดานน้อยกว่าเล็บของ FSS แบบมีปีก ซึ่ง Aday and Ramandhan (2019) กล่าวว่าเล็บแบบมีปีกจะมีแรงต้านทานมากขึ้นเล็บของ FSS แบบมีครีบบไม่มีปีกที่ระยะห่าง FSS กับ RSS มีแรงฉุดลากน้อยที่สุดอยู่ที่ 12.65 ± 1.33 กิโลนิวตัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบของ Kasisira and Plessis (2006) ที่พบว่าเมื่อระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS เพิ่มมากขึ้นจะทำให้เกิดแรงฉุดลากเพิ่มขึ้นด้วย

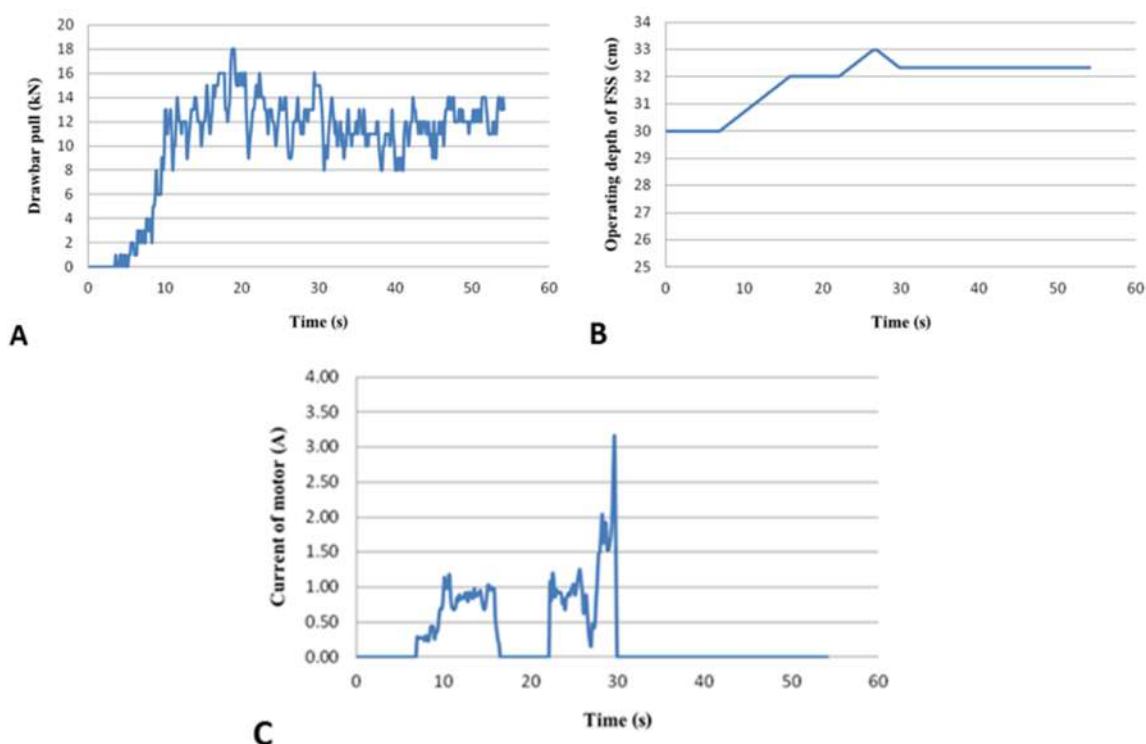


Figure 6 (A) Drawbar pull, (B) Operating depth of FSS, (C) Current consumption of motor

Table 1 Test results in a sugarcane field

Factors			Drawbar pull (kN) (Average $\pm$ SD)	
System	Distance	Sensitivity	Winged point	Fin point
Fixed displacement control	40	10	14.41 $\pm$ 0.72 a	10.67 $\pm$ 2.88 a
		20	19.09 $\pm$ 1.47 b	13.21 $\pm$ 4.46 a
		30	16.89 $\pm$ 0.39 ab	13.61 $\pm$ 1.20 a
	50	10	19.27 $\pm$ 0.78 b	13.76 $\pm$ 0.05 a
		20	21.95 $\pm$ 3.54 b	15.79 $\pm$ 1.02 a
		30	19.74 $\pm$ 3.92 b	15.05 $\pm$ 3.40 a
	60	10	18.36 $\pm$ 2.11 ab	16.72 $\pm$ 1.57 ab
		20	17.52 $\pm$ 3.15 ab	16.45 $\pm$ 2.24 ab
		30	17.55 $\pm$ 1.02 ab	15.66 $\pm$ 5.77 ab
Immediate response	40	10	15.20 $\pm$ 1.92 a	11.45 $\pm$ 2.74 a
		20	16.43 $\pm$ 1.62 a	14.15 $\pm$ 1.00 a
		30	15.10 $\pm$ 1.46 a	12.80 $\pm$ 3.65 a
	50	10	18.06 $\pm$ 2.91 ab	14.27 $\pm$ 2.72 ab
		20	18.92 $\pm$ 5.24 ab	16.96 $\pm$ 2.91 ab
		30	18.39 $\pm$ 1.23 ab	14.52 $\pm$ 3.69 ab
	60	10	19.78 $\pm$ 1.22 ab	16.37 $\pm$ 2.65 ab
		20	17.80 $\pm$ 2.07 ab	18.22 $\pm$ 3.01 ab
		30	17.30 $\pm$ 0.40 ab	17.46 $\pm$ 5.50 ab

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5 % level by DMRT

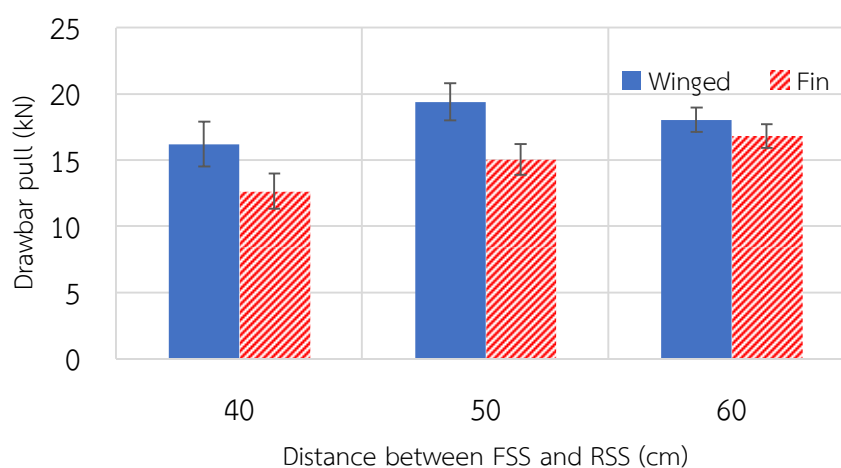


Figure 7 Drawbar pull under different shank point types and distances between FSS and RSS

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ชนิดเล็บของขาหน้าและระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS ส่งผลต่อแรงฉุดลากโดยตรง โดยที่เล็บของ FSS แบบมีปีกมีแรงฉุดลากเฉลี่ย 17.66 ± 2.87 กิโลนิวตัน เล็บของ FSS แบบมีครีบน้ำไม่มีปีก มีแรงฉุดลากเฉลี่ยน้อยกว่าที่ 14.84 ± 3.3 กิโลนิวตัน และระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS ที่ระยะ 40 ซม.

มีแรงฉุดลากเฉลี่ย น้อยที่สุด 14.42 ± 3.0 กิโลนิวตัน ซึ่งที่ระยะ 50 และ 60 ซม. มีค่าแรงฉุดลากเฉลี่ย 17.21 ± 3.52 กิโลนิวตัน และ 17.11 ± 2.92 กิโลนิวตัน ตามลำดับ ในส่วนของ system และ sensitivity ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Table 2)

Table 2 The statistical analysis of the factors affecting drawbar pull

Factors		Drawbar pull (kN) (Average $\pm$ SD)
Point	Winged	17.66 ± 2.87 b
	Fin	14.84 ± 3.30 a
Systems	Fixed displacement control	16.22 ± 3.56 a
	Immediate response	16.28 ± 3.23 a
Sensitives	10%	15.69 ± 3.33 a
	20%	16.89 ± 3.50 a
	30%	16.16 ± 3.32 a
Distance	40 cm	14.42 ± 3.00 a
between	50 cm	17.21 ± 3.52 b
FSS and RSS	60 cm	17.11 ± 2.92 b

FSS: Front subsoiler shank, RSS: Rear subsoiler shank

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5 % level by DMRT

3. การเปรียบเทียบแรงฉุดลากระหว่างขาไถ

ผลการทดสอบขาไถระเบิดดินดานปรับความลึกอัตโนมัติ ในเงื่อนไขของระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติที่มีแรงฉุดลากน้อยที่สุดคือ เล็บของ FSS แบบมีครีบน้ำไม่มีปีก ระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS ที่ระยะ 40 ซม. มีแรงฉุดลากอยู่ที่ 12.65 ± 1.33 กิโลนิวตัน และทดสอบการไถระเบิดดินดานแบบ

ทั่วไป คือ การไถเฉพาะ RSS ขาเดียวนั้น ได้ตั้งระยะขาไถไว้ที่ระยะ 40 ซม. จากระยะขาหน้าเดิมที่นำออกไปมีแรงฉุดลากอยู่ที่ 14.00 ± 2.01 กิโลนิวตัน เนื่องจากในแปลงทดสอบหรือไร่อ้อยมีความแข็งของดินที่ไม่สม่ำเสมอ การเคลื่อนที่ขึ้นและลงของ FSS ผ่านระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติ จึงสามารถช่วยลดแรงฉุดลากได้ (Figure 8)

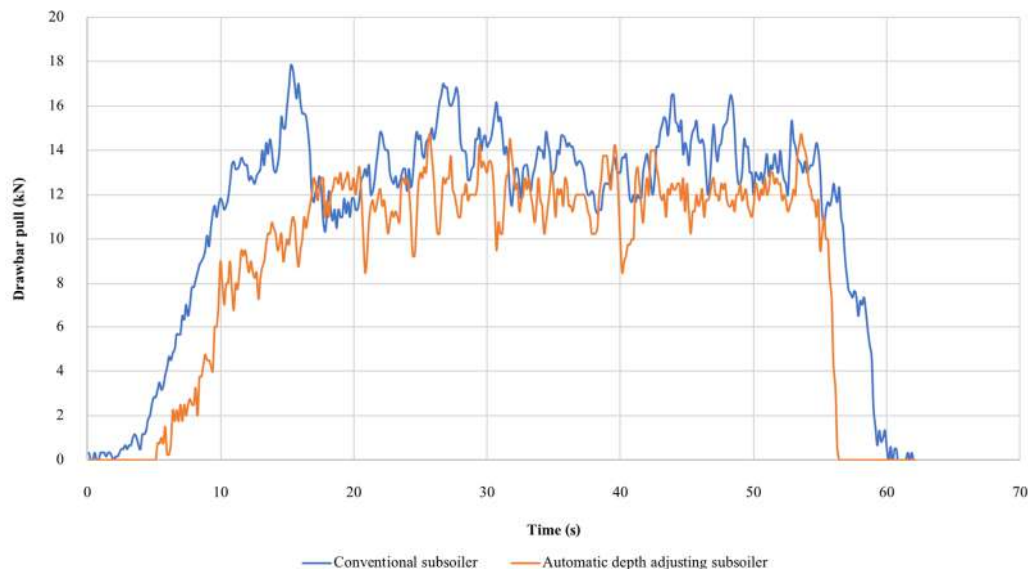


Figure 8 Drawbar pull between conventional subsoiler and developed automatic depth adjusting subsoiler

การทดสอบการทำงานของอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นพบว่า สามารถทำงานได้ดีและสามารถช่วยลดแรงฉุดลากลงได้ และค่าที่ดีที่สุดพบภายใต้ความสัมพันธ์ของค่าตัวแปรหนึ่งในแปลงทดสอบที่เป็นดินร่วนปนทราย ซึ่งในการทำงานจริงนั้นสภาพดินมีความหลากหลาย แต่ทั้งนี้เนื่องจากการปรับความลึกขาไถทำได้อัตโนมัติ จุดเหมาะสมในการทำงานอาจเปลี่ยนแปลงไป ถ้ามีการส่งเสริมให้มีการใช้งานโดยเกษตรกรมากขึ้น จะช่วยทำให้การพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมทำได้ดียิ่งขึ้น ทั้งนี้ไถระเบิดดินดานที่พัฒนาขึ้นนี้กำหนดความลึกการไถไว้สูงสุดที่ 50 ซม. ที่ เป็นความลึกของการไถระเบิดดินดานที่เกิดขึ้นเนื่องจากการทำการไถพรวนทั่วไปในการทำการเกษตรในประเทศไทย ถ้าต้องการไถที่ความลึกมากกว่านี้ ความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ อาจเปลี่ยนแปลงไป ทั้งระยะห่างระหว่างขาหน้าและขาหลัง ความลึกในการปรับขาไถขาหน้า และการออกแบบอุปกรณ์ต้องออกแบบให้มีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น

สรุปผลการทดลอง

ไถระเบิดดินดานแบบขาเรียงปรับความลึกขาไถอัตโนมัติที่พัฒนาขึ้น มีลักษณะ 2 ขาวางเรียงกัน ตามแนวทิศทางการเคลื่อนที่ของรถแทรกเตอร์ โดยขาหน้ามีชุดควบคุมความลึกอัตโนมัติและขาหลังไถระเบิดดินดานที่ระดับความลึก 50 ซม. จากการทดสอบพบว่าระบบควบคุมความลึกอัตโนมัติสามารถควบคุมการปรับขึ้นลงของขาหน้าเพื่อให้ได้แรงฉุดลากที่ต่ำลงได้ตามสภาพพื้นที่ ปัจจัยที่ส่งผลต่อแรงฉุดลากคือ ชนิดเล็บของ FSS และ ระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS โดยเล็บของ FSS แบบมีครีบบนไม่มีปีกมีแรงฉุดลากน้อยกว่าเล็บของ FSS แบบมีปีกในทุกระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS โดยที่ขาไถระเบิดดินดานปรับความลึกอัตโนมัติที่ขาหน้ามีเล็บแบบครีบบนไม่มีปีก ระยะห่างระหว่าง FSS กับ RSS ที่ระยะ 40 ซม. มีแรงฉุดลากน้อยที่สุด 12.65 ± 1.33 กิโลนิวตัน เมื่อเทียบกับไถระเบิดดินดานแบบ RSS ขาเดียวมีแรงฉุดลาก

14.00±2.01 กิโลนิวตัน ซึ่งส่งผลให้ไถระเบิดดินดานแบบขาไถหน้าปรับความลึกอัตโนมัติสามารถลดแรงฉุดลากได้มากกว่า 10% ที่ความลึกการทำงานของ FSS 65% ของ RSS ในสภาพดินในแปลงทดสอบ ส่วนระบบการทำงานของมอเตอร์ควบคุมความลึกขาไถหน้า และความไวในการตอบสนองของมอเตอร์ไม่ส่งผลต่อแรงฉุดลากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการวิจัยการใช้ขาไถแบบที่มี 2 ขา โดยขาหน้าสามารถปรับความลึกได้อัตโนมัตินั้นสามารถช่วยให้เกษตรกรไถระเบิดดินดานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งส่งผลให้ได้ผลผลิตที่ดีขึ้นและช่วยลดค่าใช้จ่ายในการไถระเบิดดินดาน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โครงการระบบการพัฒนาศักยภาพการวิจัยขั้นสูงเพื่อการแข่งขันด้านการเกษตรและอาหาร รหัสโครงการ FF(KU) 51.67 ขอขอบคุณทุนสนับสนุนภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน และศูนย์เครื่องจักรกลแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนสิ่งอำนวยความสะดวกและบุคลากรในการสร้างและทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2553. การไถระเบิดดินดาน (Subsoiler). เอกสารวิชาการเล่มที่ 1. ศูนย์ส่งเสริมวิศวกรรมเกษตรที่ 2 จังหวัดพิษณุโลก กองส่งเสริมวิศวกรรมเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 264 หน้า.
 วัชรชาญ สุขเจริญวิภารัตน์ และประเทือง อุษาบริสุทธิ์. 2553. การศึกษาศักยภาพการขนส่งผลิตผล

เกษตรด้วยรถแทรกเตอร์ลากเทรลเลอร์. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการด้านโลจิสติกส์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเทือง อุษาบริสุทธิ์. 2565. การศึกษาผลของเทคนิคการเพาะปลูกอ้อยที่เสนอต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของอ้อยปลูก. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2565. รายงานสถานการณ์การปลูกอ้อย ปีการผลิต 2565/66. กลุ่มเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กองยุทธศาสตร์และแผนงาน สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 79 หน้า.

Aday, S.H. and M.N. Ramandhan. 2019 Comparison between the draft force requirements and the disturbed area of a single tine, parallel double tines and partially swerved double tines subsoiler. Elsevier, Soil and Tillage Research. 191(4): 238-244.

Garside, A., B. Salter and J. Kidd. 2008. Soil compaction is a major issue operating against the development of sustainable sugarcane cropping systems. Proceedings of the 14th Australian Agronomy Conference. Adelaide, South Australia, 21-25 September 2008.

Kasisira, L.L. and H.L.M. du Plessis. 2006. Energy optimization for subsoilers in tandem in a sandy clay loam soil. Soil and Tillage Research. 86(2): 185-198.

Usaborisut, P. and W. Sukcharoenvipharat. 2011. Soil compaction in sugarcane fields induced by mechanization. American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 6: 418-422.

การพัฒนาเครื่องปลูกต้นกล้าอ้อยในแนวตั้งสำหรับอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อย

Development of Vertical Planting Mechanism for Sugarcane Transplanter

ภร จันทรอุดม^{1/} ศิริศักดิ์ เชิดเกียรติพล^{1/*}

Patara Jhantaraudom^{1/} Sirisak Chertkiattipol^{1/*}

Received 17 May 2024/Revised 3 Aug. 2024/Accepted 4 Aug. 2024

ABSTRACT

An efficient sugarcane seedling transplanter is essential for transplanting seedlings grown from bud billets to reduce labor cost and planting time. The purposes of this research are to create a sugarcane transplanter that the planting mechanism moves vertically using pre-germinated buds and to assess the transplanter's performance. The device that had been developed was a seedling mechanism that used planting funnel attached to a metering disc which received thrust from the soil layer so that the transplanter worked without sending power through the sprockets and chains to the planting mechanism. It was like the planting device itself was the ground wheel, and the planting mechanism was always pressed into the ground to independently plant seedlings into the ground to the desired depth of planting without the use of a soil opener. It was attached to three-point hitches on a 56.7 kW (76 hp) tractor. In this research, the planting distance was controlled by a metering disc, which had a planting funnel mounted on it. Three different diameters: 78 cm (D1), 86 cm (D2) and 96 cm (D3) metering discs were tested in this study. The experimental works were conducted at travel speeds of 1.27, 1.89 and 2.73 km/hr. and planting depths of 10 and 15 cm. Results showed that the average planting pitch of the metering discs D1, D2 and D3 was 36.30, 50.15 and 68.35 cm respectively, and it showed that the planting success rate (PSR) at a 10 cm planting depth was higher than at a 15 cm planting pitch. The success rate of metering disc D3 (67.32%) was higher when compared to metering disc D2 (59.76%) and metering disc D1 (53.18%). These experimental results showed that the planting depth of 10 cm and the forward speed of 1.27 km/hr. were practical operating conditions.

Keywords: sugarcane; seedling; transplanter; sugarcane bud billet

^{1/} ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

^{1/} Department of Agricultural Engineering, Faculty of Engineering at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

* Corresponding author: fengsrcp@ku.ac.th

บทคัดย่อ

อุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยที่มีประสิทธิภาพช่วยทุ่นแรงและประหยัดเวลาในการปลูกมีความจำเป็นในการปลูกต้นกล้าอ้อยที่เพาะจากข้อตา งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยที่ชุดปลูกหมุนเคลื่อนที่ในแนวตั้งพร้อมทำหน้าที่ปลูกอ้อยแบบใช้ต้นกล้า และประเมินประสิทธิภาพของอุปกรณ์ในการปลูก โดยอุปกรณ์ที่ได้พัฒนาขึ้นเป็นกลไกปลูกต้นกล้าชนิดมีกรวยปลูกที่ติดตั้งเข้ากับงานกำหนดระยะปลูกในการรับแรงผลักดันจากชั้นดิน ให้อุปกรณ์ปลูกเคลื่อนที่ทำงานโดยไม่ต้องส่งกำลังผ่านเฟืองและโซ่ไปยังกลไกปลูก หรือเปรียบเสมือนตัวอุปกรณ์ปลูกคือล้อส่งกำลังนั่นเอง และกลไกปลูกจะถูกกดอยู่ในพื้นดินเสมอเพื่อปล่อยต้นกล้าปลูกลงสู่ดินอย่างอิสระตามความลึกที่ต้องการปลูก โดยไม่ต้องใช้อุปกรณ์เปิดร่อง อุปกรณ์ปลูกถูกติดตั้งกับจุดต่อพ่วงอิสระของรถแทรกเตอร์ ขนาด 56.7 กิโลวัตต์ (76hp) ระยะปลูกจะถูกควบคุมด้วยงานกำหนดระยะปลูก ซึ่งจะติดตั้งชุดกรวยปลูกต้นกล้าไว้บนงานกำหนดระยะปลูก ได้ดำเนินการทดสอบปัจจัยที่งานควบคุมระยะปลูกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 ระดับ ได้แก่ 78(D1) 86(D2) และ 96(D3) ซม. ทดสอบที่ความเร็วการเดินทาง 1.27 1.89 และ 2.73 กม./ชม. และความลึกในการปลูก 10 และ 15 ซม. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อย พบว่า ค่าเฉลี่ยระยะปลูกอ้อยของงานปลูก D1 D2 และ D3 มีค่า 36.30 50.15 และ 68.35 ซม. ตามลำดับ และที่ระดับการปลูกความลึก 10 ซม. อัตราการปลูกสำเร็จสูงกว่าที่ระดับความลึก 15 ซม. และยังพบว่า งานกำหนดระยะปลูก D3 มีค่าอัตราการปลูกสำเร็จสูงสุด 67.3% เมื่อเปรียบเทียบกับงานกำหนดระยะปลูก D2 และ D1 ที่มีอัตราการปลูกสำเร็จ 59.7 และ

53.2% ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยที่พัฒนาขึ้นมานี้ สามารถปลูกต้นกล้าอ้อยอย่างมีประสิทธิภาพที่ความลึกการปลูก 10 ซม. และความเร็วการเดินทาง 1.27 กม./ชม.

คำสำคัญ: อ้อย; ต้นกล้า; อุปกรณ์ปลูก; ข้อตาอ้อย

บทนำ

อ้อยเป็นพืชอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ โดยในปี พ.ศ. 2565 ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกน้ำตาลที่ผลิตจากอ้อยกว่า 1.08 แสนล้านบาท เป็นอันดับที่ 3 ของโลก มีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยมากกว่า 11 ล้านไร่ ซึ่งเพิ่มขึ้น 3.4% เมื่อเทียบกับปีที่ผ่านมา (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2566) การปลูกอ้อยเกษตรกรส่วนใหญ่ใช้ท่อนพันธุ์ที่มีตาอ้อย 2 ถึง 3 ตา/ท่อน ทำให้สูญเสียผลผลิตส่วนหนึ่งที่ต้องนำมาใช้เป็นท่อนพันธุ์ และการใช้ท่อนพันธุ์อ้อยที่มี 2 ถึง 3 ตาในการขยายพันธุ์ยังทำให้เกิดลักษณะที่เรียกว่า ยอดข่ม (apical dominance) เป็นผลให้ตาอ้อยที่มีอายุแก่กว่าในท่อนพันธุ์เดียวกัน งอกช้าลง ซึ่งการใช้ท่อนพันธุ์ที่มีเพียง 1 ตา สามารถลดอิทธิพลของยอดข่มได้ พรชัย และคณะ (2521) รายงานว่า การปลูกต้นกล้าอ้อยที่เพาะจากข้อตาแทนท่อนพันธุ์นั้นสามารถช่วยประหยัดผลผลิตอ้อยที่ต้องนำมาใช้เป็นท่อนพันธุ์ได้ถึง 80% และส่วนของลำอ้อยที่เหลือจากการตัดข้อตาก็ยังสามารถส่งหีบได้ โดยในการปลูกอ้อย 1 ไร่ ใช้ข้อตาอ้อยประมาณ 2,000 ข้อตา หรือใช้อ้อยประมาณ 140 ลำ ซึ่งเมื่อเทียบกับการปลูกอ้อยแบบใช้ท่อนพันธุ์ ต้องใช้อ้อย 0.96-1.28 ตัน/ไร่ อีกทั้งการใช้ข้อตาสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการแตกกอ โดยหน่ออ้อยจากข้อตาจะแตกกอเร็วกว่าหน่ออ้อยจากท่อนพันธุ์ (Jain et al., 2010)

นอกจากนี้ ในการทำแปลงผลิตพันธุ์อ้อยสะอาดตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ต้องแช่ท่อนพันธุ์อ้อยในน้ำร้อน 50 °ซ. นาน 2 ชม. เพื่อกำจัดเชื้อโรคที่ติดมากับท่อนพันธุ์ แต่เนื่องจากเครื่องแช่ท่อนพันธุ์มีขนาดใหญ่ ต้องลงทุนสูง และไม่สะดวกในการขนย้าย ซึ่งถ้าใช้ข้อตาแทนจะสามารถลดปริมาณของภาชนะที่ใช้แช่น้ำร้อนลงได้ (เฉลิมพลและคณะ, 2547) อย่างไรก็ตาม การปลูกต้นกล้าอ้อยที่เพาะจากข้อตาอย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็วจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ทุ่นแรง

Naik et al. (2013) ได้ศึกษาอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยจากข้อตาอ้อยแบบสองแถว ถูกติดตั้งกับรถแทรกเตอร์ โดยมีความเร็วการทำงานที่เหมาะสมที่สุด 1.4 กม./ชม. การปลูกสำเร็จ 98% ประสิทธิภาพการทำงานของอุปกรณ์ 0.94 ไร่/ชม. ประหยัดค่าใช้จ่าย และแรงงานได้ 40-85% ปิยะพงษ์และคณะ (2563) ได้พัฒนาอุปกรณ์ปลูกอ้อยแบบร่องเดี่ยวที่ใช้ข้อตาเป็นวัสดุปลูก พบว่า อุปกรณ์ปลูกทำงานได้อย่างเหมาะสมที่ความเร็วระดับเกียร์ต่ำ (3L) ที่รอบเครื่องยนต์ 1,800 รอบ/นาที ระยะปลูกเฉลี่ย 28-30 ซม. ความลึกการปลูกเฉลี่ย 19-20 ซม. และมีจำนวนชิ้นตาอ้อยที่ใช้สำหรับปลูก 4,522 ชิ้นตา/ไร่ หรือ 140 กก./ไร่ เปรียบเทียบกับปริมาณอ้อยที่ใช้สำหรับอุปกรณ์ปลูกอ้อยในแนวตั้ง ต้องใช้ปริมาณลำอ้อย 1,760 กก./ไร่ ค่าความสามารถเชิงไร่ 1.25 ไร่/ชม. ประสิทธิภาพการทำงาน 66% ฐากูร และศิริศักดิ์ (2565) พัฒนาอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยที่เพาะจากข้อตา (แถวเดี่ยว) โดยมีกลไกงานปลูกแบบวงกลมและกลไกดันต้นกล้า เมื่อล้อส่งกำลังเริ่มเคลื่อนที่ทำงาน จะส่งกำลังผ่านเฟืองและโซ่ไปยังกลไกงานปลูกของอุปกรณ์ สามารถปลูกต้นกล้าที่ระยะปลูก 40 50 และ 60 ซม. มีความลึกการปลูก 10 และ 15 ซม. จากการทดสอบพบว่า

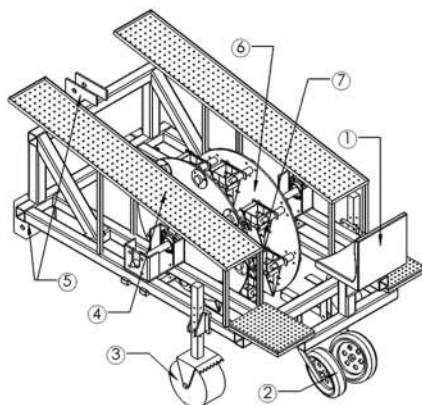
อุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยทำงานได้อย่างเหมาะสมที่ระยะปลูก 60 ซม. ความเร็วการเคลื่อนที่ 1.34 กม./ชม. ที่ความลึกการปลูก 10 ซม. และมีความสามารถในการทำงานของอุปกรณ์ 0.8 ไร่/ชม.

จากการใช้งานอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยที่พัฒนาโดย ฐากูร และศิริศักดิ์ (2565) พบความผิดพลาดที่เกิดขึ้น คือ 1) เมื่อระดับพื้นที่ในแปลงมีความแตกต่างกัน ทำให้บางครั้งล้อส่งกำลังไม่สัมผัสกับผิวดิน ส่งผลให้อุปกรณ์ปลูกไม่สามารถทำงานได้ 2) อุปกรณ์ปลูกมีกลไกดันต้นกล้าอ้อยที่ตกลงมาอย่างอิสระจากกลไกงานปลูกสู่บริเวณพื้นของอุปกรณ์เปิดร่อง 3) ในการปลูกขณะกลไกดันต้นกล้าเคลื่อนที่ทำงาน พบดินบริเวณด้านข้างจากการไถพรวนไหลกลับเข้ามายังอุปกรณ์เปิดร่อง ทำให้เกิดการติดขัดในบางจังหวะของอุปกรณ์ปลูก จากปัญหาข้างต้นจึงหาแนวทางลดข้อผิดพลาดและเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน โดยออกแบบและสร้างอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยที่เพาะจากข้อตาที่เปลี่ยนมาใช้กลไกปลูกต้นกล้าเป็นแบบกรวยปลูกที่ติดตั้งเข้ากับงาน กำหนดระยะปลูกที่เคลื่อนที่ในแนวตั้งเป็นส่วนรับแรงผลักดันจากดินในการเคลื่อนที่แทนล้อส่งกำลัง ที่ส่งแรงผ่านเฟืองและโซ่ไปยังเครื่องปลูก ในขณะที่ตำแหน่งของปากกรวยปลูกกดอยู่ในพื้นดินเสมอ ตามความลึกที่ทำการปลูกแทนอุปกรณ์เปิดร่องดิน และมีกลไกลูกกลิ้งกับลูกเบี้ยวในการปล่อยต้นกล้าลงสู่ดินอย่างอิสระเพื่อปลูกแทนกลไกดันต้นกล้า ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างและประเมินประสิทธิภาพของอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยเมื่องานกำหนดระยะปลูกต้นกล้าหมุนเคลื่อนที่ในแนวตั้ง เพื่อปรับปรุงอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยที่เพาะจากข้อตาให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการทำงาน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เครื่องปลูกกล้าอ้อย

การพัฒนาอุปกรณ์ปลูกกล้าอ้อยมีจุดมุ่งหมาย



- ① : Seat
- ② : Soil compactor wheels
- ③ : Planting depth control wheels
- ④ : Seedling tray stand
- ⑤ : Three-point hitches
- ⑥ : Metering Disc
- ⑦ : Planting funnel

Figure 1 Isometric of the prototype of a sugarcane transplanting

เมื่อต่อพ่วงอุปกรณ์ปลูกกล้าอ้อยที่พัฒนา (Figure 1) กับรถแทรกเตอร์ ปรับระดับความลึกการปลูกด้วยล้อควบคุมความลึกการปลูก (หมายเลข 3) ซึ่งจะทำให้กรวยปลูกต้นกล้าอ้อย (หมายเลข 7) อยู่ต่ำกว่าระดับผิวดิน และเมื่อรถแทรกเตอร์วิ่งจุดลากอุปกรณ์ ชุดกลไกปลูกต้นกล้าอ้อย (seedling mechanism) (หมายเลข 6 และ 7) จะหมุนในทิศทางเดียวกันกับทิศทางการหมุนของล้อรถแทรกเตอร์ โดยอาศัยแรงกระทำระหว่างดินกับกรวยปลูกต้นกล้าอ้อย (หมายเลข 7) เกษตรกรทำหน้าที่นำต้นกล้าอ้อยจากถาดเพาะที่วางไว้บนแท่นพักถาดต้นกล้าอ้อย (หมายเลข 4) ใส่ในชุดกลไกปลูก

2. จานกำหนดระยะปลูก (metering disc)

อุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยถูกออกแบบให้สามารถปลูกอ้อยที่ระยะปลูก 30 45 และ 60 ซม. ระยะปลูกขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของจานกำหนดระยะปลูก รายละเอียดการคำนวณ

เพื่อพัฒนาอุปกรณ์จักรกลเกษตรหุ่นแรงเกษตรกรในการผลิตอ้อยพันธุ์สะอาด ส่วนประกอบของอุปกรณ์ปลูกกล้าอ้อยแสดงใน Figure 1

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของจานกำหนดระยะปลูก ดังสมการที่ (1) ดังนี้ คำนวณหาความยาวส่วนโค้งของสามเหลี่ยมฐานโค้ง (l) พิจารณาควบคู่กับ Figure 2 และเพื่อความสะดวกในการทำงานจึงเลือกใช้จานปลูกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 78 ซม. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของจานกำหนดระยะปลูก (D) ที่ระยะปลูก 30 45 และ 60 ซม. ดังแสดงใน Table 1

$$\begin{aligned}
 l &= r \cdot \theta \\
 &= \left(\frac{D}{2} \right) \cdot \theta \\
 D &= \frac{2 \cdot l}{\theta} \quad \dots (1)
 \end{aligned}$$

โดย D คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางจานกำหนดระยะปลูก (ซม.)

l คือ ความยาวโค้ง หรือระยะปลูก (ซม.)

r คือ รัศมีของวงกลม หรือรัศมีจานกำหนดระยะปลูก (ซม.)

θ คือ มุมรองรับส่วนโค้ง (เรเดียน)

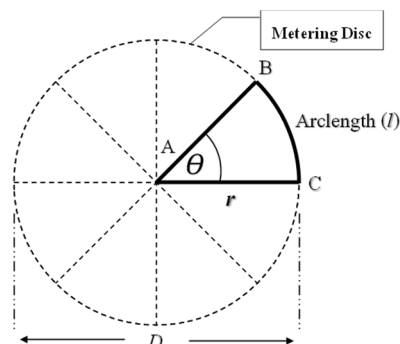


Figure 2 The diagram showed the position of the arclength on a metering disc

Table 1 The diameters of the metering disc at the planting pitches of 30, 45 and 60 cm

Planting pitch (cm)	Diameter of a metering disc (cm)	θ (°)	Number of a seedling device
30	78	45	8
45	86	60	6
60	96	72	5

3. ชุดกลไกปลูกต้นกล้าอ้อย (seedling mechanism)

รายละเอียดส่วนประกอบหลักของชุดกรวยปลูกต้นอ้อย และกลไกควบคุมการเปิดปิดของกรวยปลูกต้นกล้าอ้อยประกอบด้วย จานกำหนดระยะปลูก (Figure 3 หมายเลข 6) กรวยปลูกต้นกล้าอ้อย (หมายเลข 7) ลูกกลิ้งควบคุมการเปิดปิดกรวย (หมายเลข 8) และลูกเบี้ยวควบคุมการเปิดปิดกรวย (หมายเลข 9) การทำงานออกแบบให้กรวยปลูกต้น

กล้าอ้อยหมุนมาที่ตำแหน่งด้านหน้าผู้ปฏิบัติงาน เมื่อใส่ต้นกล้าอ้อยลงในกรวยปลูกต้นกล้าอ้อย กรวยจะหมุนเลื่อนมาที่ตำแหน่งต่ำที่สุดของจานกำหนดระยะปลูกเป็นตำแหน่งที่ปากกรวยเปิด ซึ่งจะทำให้ต้นกล้าอ้อยตกลงไปบนร่องดินอย่างอิสระ ปากกรวยปลูกต้นกล้าอ้อยเปิดปิดได้ด้วยหลักการลูกกลิ้ง (roller) และลูกเบี้ยว (cam)

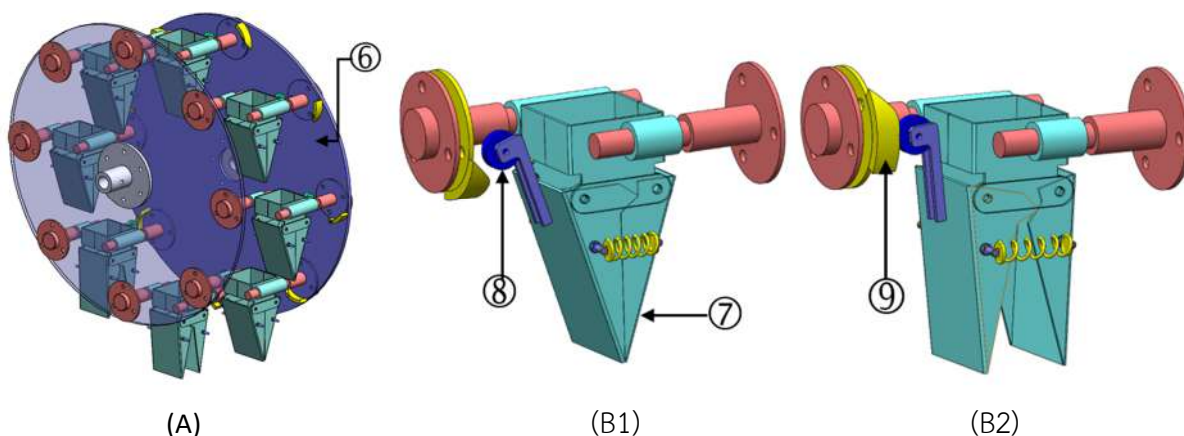


Figure 3 (A) The composition of the seedling mechanism, (B1) Close-planting funnel and (B2) Open-planting funnel

4. การทดสอบประสิทธิภาพเครื่องปลูกต้นกล้าอ้อยในแนวตั้ง

ทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้น โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองบล็อกสุ่มสมบูรณ์ ($3 \times 3 \times 2$ factorial in RCBD) 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 3 ปัจจัยดังนี้ ปัจจัย A (ระยะปลูก) มี 3 ระดับ ได้แก่ 30 45 และ 60 ซม. ปัจจัย B (ความเร็วการเดินทาง) มี 3 ระดับ ได้แก่ 1.27 1.89 และ 2.73 กม./ชม. และปัจจัย C (ความลึกการปลูก) มี 2 ระดับ ได้แก่ 10 และ 15 ซม. วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี DMRT (Duncan's new multiple range test)

4.1 แปลงทดสอบ

ดำเนินการทดลองในแปลงของภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ลักษณะเป็นดินร่วน ประกอบด้วยอนุภาค (sand silt และ clay) 39.39 45.97 และ 14.73% (รจกาส, 2562)

ไถเตรียมแปลงด้วยจอบหมุนพรวนดินแนวตั้ง (power harrow) 2 เที้ยว เพื่อพรวนดินให้เหมาะกับการปลูก แบ่งแปลงทดสอบย่อยกว้าง 2.5 ม. และยาว 20 ม. สำหรับแต่ละเงื่อนไขการทดสอบ ดินมีความหนาแน่นดินและความชื้นเฉลี่ย 1.12 ก./ลบ. ซม. และ 12.06% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ความต้านทานการแทงทะลุดิน (Cone Penetrometer-Daiki: DIK-5532) ที่ความลึกดิน 10-20 ซม. มีค่าเฉลี่ย 0.98 เมกะปาสคาล

4.2 การเตรียมต้นกล้าอ้อย

ในการทดลองใช้อ้อยพันธุ์ ขอนแก่น 3 อายุ 8-12 เดือน เตรียมข้อตาอ้อยโดยการตัดลำอ้อย ห่างจากข้อตาด้านบนและด้านล่าง 2.50 ซม. (Figure 4A) จากนั้นทำการเพาะต้นกล้าอ้อยในถาดเพาะที่มีหลุมเพาะขนาด $5 \times 5 \times 10$ ซม. (Figure 4B) ใช้เวลาปลูก 25-35 วัน ต้นกล้าอ้อยจะมีความสูงประมาณ 30 ซม. พร้อมนำไปทดสอบ (Figure 4C)



Figure 4 Sugar seedling preparation as shown in (A) sugarcane bud, (B) sugarcane bud in seedling tray and (C) Sugarcane seedling

4.3 การคำนวณประสิทธิภาพของเครื่องปลูก

การประเมินประสิทธิภาพการปลูกของอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยในแนวตั้ง ดำเนินการโดยต่อพ่วงอุปกรณ์ด้วยรถแทรกเตอร์ยี่ห้อ MASSEY-FERGUSON-390 ขนาด 56.7 กิโลวัตต์ (76hp) (Figure 6) ทดสอบที่ความเร็วรอบเครื่องยนต์

1,300 รอบ/นาที่ ตำแหน่งเกียร์ Low1 Low2 และ Low3

4.3.1 ความลึกการปลูก (planting depth error: PDE)

การวัดค่าความลึกของต้นกล้าหลังการทดลอง โดยทำการสุ่มวัดค่าความลึกต้นอ้อย เทียบ

กับค่าความลึกการปลูกที่ควรได้ทางทฤษฎี คือ 10 และ 15 ซม. เพอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนความลึกการปลูกคำนวณได้จากสมการที่ (2)

$$PDE (\%) = \frac{D_m - D_t}{D_t} \times 100 \quad \dots (2)$$

โดย D_t คือ ความลึกต้นกล้าที่ปลูกได้ทางทฤษฎี
 D_m คือ ความลึกต้นกล้าที่ได้จากการวัด

4.3.2 ความคลาดเคลื่อนของระยะปลูก (planting pitch error: PPE)

อัตราส่วนระหว่างผลต่างระหว่างระยะปลูกต้นกล้าอ้อยที่วัดจริงในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับระยะปลูกต้นกล้าอ้อยจากการคำนวณ ดังแสดงในสมการที่ (3) ระยะห่างระหว่างต้นกล้าอ้อย 15 ต้นต่อเนื่องจะถูกบันทึกเพื่อนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยระยะปลูกจริงในแต่ละเงื่อนไขการทดลอง เพื่อเปรียบเทียบกับระยะปลูกที่ควรได้ทางทฤษฎี

$$PPE (\%) = \frac{P_m - P_t}{P_t} \times 100 \quad \dots (3)$$

โดย P_t คือ ระยะห่างต้นกล้าทางทฤษฎี
 P_m คือ ระยะห่างต้นกล้าที่ได้จากการวัด

4.3.3 อัตราการปลูกสำเร็จ (planting success rate: PSR)

จำนวนต้นกล้าที่ปลูกได้ทั้งหมดต่อ 1 การทดลอง ในระยะทาง 20 ม. เปรียบเทียบกับจำนวนต้นกล้าที่ปลูกได้ทางทฤษฎี ซึ่งมีจำนวน 66 44 และ 33 ต้น ตามลำดับ โดยต้นกล้าที่ปลูกสำเร็จมีเงื่อนไขคือ บริเวณส่วนโคนของต้นกล้าต้องถูกดินกลบแบบสมบูรณ์ แต่ต้นกล้าอ้อยต้องไม่ล้มลงราบกับพื้น สามารถหาอัตราการปลูกสำเร็จได้จากสมการที่ (4)

$$PSR (\%) = \frac{N_m}{N_t} \times 100 \quad \dots (4)$$

โดย N_t คือ จำนวนต้นกล้าที่ปลูกได้ทางทฤษฎี
 N_m คือ จำนวนต้นกล้าที่ได้จากการวัด

4.3.4 ความสามารถในการทำงานจริงเชิงพื้นที่ (field capacity)

กำหนดแปลงทดสอบขนาด 35x70 ตร.ม. (Figure 5) และทำการปลูกกล้าอ้อยที่ระยะห่างระหว่างแถว 1.65 ม. จับเวลาขณะเริ่มทำงานจนครบพื้นที่ทดสอบ ซึ่งสามารถหาอัตราการทำงานเชิงพื้นที่จากสมการที่ 5

$$C_o = \frac{A}{T_t} \times 100 \quad \dots (5)$$

โดย C_o คือ อัตราการทำงานเชิงไร่ (ไร่/ชม.)
 A คือ พื้นที่การทำงาน (ตร.ม.)
 T_t คือ เวลาในการทำงานทั้งหมด (ชม.)

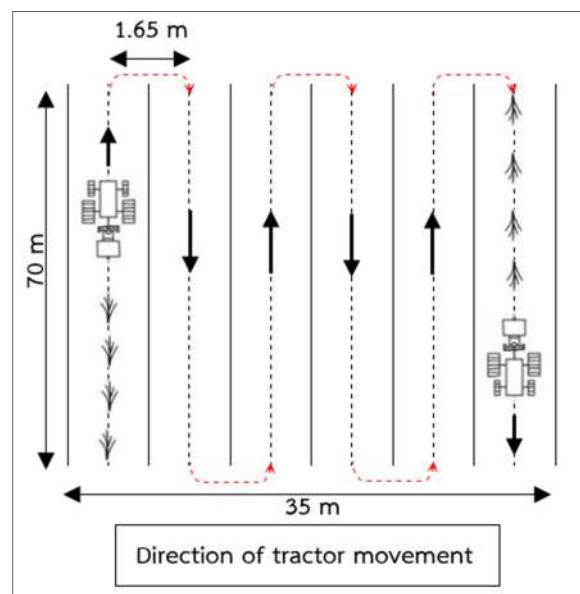


Figure 5 Experimental site for testing condition effective field capacity

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความเร็วการเดินทาง

การประเมินประสิทธิภาพการปลูกของอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยในแนวตั้ง พบว่า การทดลองที่เงื่อนไขความลึกการปลูก 10 และ 15 ซม. รถแทรกเตอร์เคลื่อนที่ลากอุปกรณ์พ่วงด้วยความเร็วการเดินทางเฉลี่ยที่ความเร็วรอบเครื่องยนต์ 1,300 รอบ/นาที ตำแหน่งเกียร์ Low1 Low2 และ Low3 มีความเร็วการเดินทาง 1.27 ± 0.14 1.89 ± 0.18 และ 2.73 ± 0.32 กม./ชม. ตามลำดับ (Table 2)

2. ความลึกการปลูกต้นกล้าอ้อย (planting depth: PD)

ความแม่นยำในการประเมินประสิทธิภาพเครื่องปลูกต้นกล้าอ้อย จำเป็นต้องควบคุมให้ระดับความลึกใกล้เคียงกันมากที่สุด งานปลูก D1 D2 และ D3 เมื่อปรับล้อควบคุมความลึก ที่ความลึกการปลูก 10 ซม. พบว่า อุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อยที่ความลึกการปลูกเฉลี่ย 10.6 9.9 และ 9.9 ซม. ตามลำดับ และเมื่อปรับล้อควบคุมความลึกที่ 15 ซม. พบว่า มีความลึกเฉลี่ย 14.9 15.0 และ 14.8 ซม. ตามลำดับ เห็นได้ว่าอุปกรณ์สามารถปลูกต้นกล้าอ้อยได้ระดับความลึกที่สม่ำเสมอ คือ ความลึกการปลูกเฉลี่ย 10.1 และ 14.9 ซม. ตามลำดับ (Table 2)

3. ระยะปลูก (planting pitch: PP)

ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของระยะปลูกของอุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อย ที่ความลึกการปลูก 10 ซม. พบว่า ระยะปลูกของงานปลูก D1 D2 และ D3 มีค่าเฉลี่ย 37.2 50.0 และ 67.8 ซม. ตามลำดับ (Table 3) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และแสดงให้เห็นว่า งานปลูก D1 ปลูกต้นกล้าอ้อยด้วยระยะปลูกที่สม่ำเสมอมากที่สุด

เนื่องด้วยปัจจัยความเร็วการเดินทางไม่ส่งผลต่อขนาดของระยะการปลูกอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาที่ความลึกการปลูก 15 ซม. (Table 4) ยังคงแสดงให้เห็นว่า ระยะปลูกของงานปลูก D1 D2 และ D3 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 35.4 50.3 และ 68.9 ซม. ตามลำดับและพบว่า ความเร็วการเดินทางไม่มีผลต่อระยะปลูกอย่างมีนัยสำคัญสำหรับงานปลูก D2 และ D3 ยกเว้นงานปลูก D1

4. ความคลาดเคลื่อนระยะปลูกต้นกล้า (planting pitch error: PPE)

ผลการทดสอบไม่พบแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างความคลาดเคลื่อนระยะปลูก (PPE) กับปัจจัยความเร็วการทำงานและปัจจัยงานกำหนดระยะปลูก (Table 3 และ Table 4) แสดงให้เห็นว่าที่ระดับความลึกการปลูก 10 และ 15 ซม. กรณีงานปลูก D1 มีค่า PPE อยู่ในช่วงระหว่าง 22.4-24.95 และ 14.9-23.3% ตามลำดับ ขณะที่งานปลูก D2 มีค่า PPE อยู่ในช่วง ระหว่าง 8.7-12.96 และ 10.6-12.4% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามหากพิจารณาเฉพาะความคลาดเคลื่อนระยะปลูกพบว่า ที่เงื่อนไขความลึกการปลูก 10 ซม. มีค่า PPE 16.01% สูงกว่าที่ความลึกการปลูกต้นกล้าอ้อย 15 ซม. (PPE 14.78%) (Table 5)

5. อัตราการปลูกสำเร็จ (planting success rate: PSR)

ผลการทดสอบพบว่า อัตราการปลูกสำเร็จไม่มีความสัมพันธ์กับปัจจัยความเร็วการทำงานของรถแทรกเตอร์ แต่ปัจจัยงานกำหนดระยะปลูก D1 D2 และ D3 มีความสัมพันธ์ต่ออัตราการปลูกสำเร็จอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% มีค่าเฉลี่ยอัตราการปลูกสำเร็จ (PSR) 53.18 59.76 และ 67.32% ตามลำดับ และปลูกไม่สำเร็จ (PMR) 46.82 40.24 และ 32.68% ตามลำดับ (Table 5)

Table 2 The average planting depth (APD) in each testing condition

Adjusted the depth-controlling wheel at 10 cm of planting depth			
Average operating speed of a tractor ± SD (km/hr)	Metering discs		
	D1	D2	D3
	APD (cm)		
	1.27±0.14	10.5	9.73
1.89±0.18	10.5	10.0	9.8
2.73±0.32	10.8	10.1	9.9
Average	10.6±0.17	9.9±0.19	9.9±0.05
APD	10.10±0.14		
Adjusted the depth-controlling wheel at 15 cm of planting depth			
Average operating speed of a tractor±SD (km/hr)	Metering discs		
	D1	D2	D3
	APD (cm)		
	1.27±0.14	14.8	15.0
1.89±0.18	14.9	15.1	14.9
2.73±0.32	14.8	14.9	14.9
Average	14.9±0.03	15.0±0.12	14.8±0.15
APD	14.9±0.10		

Remark: D1 = planting pitch 30 cm, D2 = planting pitch 45 cm, D3 = planting pitch 60 cm

Table 3 The statistical analysis of the performance indexes on planting pitch (PP), planting pitch error (PPE), planting success rate (PSR) and field capacity of the planting mechanism at a planting depth of 10 cm

Average operating speed (km/hr)	PP (cm)	PPE (%)	PSR (%)	Effective field capacity (rai/hr.)
Metering discs D1				
1.27	37.50 a	24.95 a	55.01 c	1.30 a
1.89	37.30 a	24.33 a	51.01 a	2.00 b
2.73	36.71 a	22.40 a	53.01 b	2.80 c
Average	37.20 A	23.90 C	53.00 A	
Metering discs D2				
1.27	48.90 a	8.70 a	63.00 b	1.60 a
1.89	50.83 b	12.96 b	60.01 a	2.50 b
2.73	50.33 ab	11.90 ab	55.51 a	3.40 c
Average	50.00 B	11.20 A	60.00 B	
Metering discs D3				
1.27	69.03 b	15.10 b	72.00 a	1.40 a
1.89	67.80 ab	13.00 ab	72.00 a	2.00 b
2.73	66.53 a	10.90 a	74.00 a	3.50 c
Average	67.80 C	13.00 B	72.70 C	

Remark: D1 = planting pitch 30 cm, D2 = planting pitch 45 cm, D3 = planting pitch 60 cm;
Means in the same column followed by a common type of lowercase or uppercase letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 4 The statistical analysis of the performance indexes on planting pitch (PP), planting pitch error (PPE), planting success rate (PSR) and field capacity of the planting mechanism at a planting depth of 15 cm

Average operating speed (km/hr.)	PP (cm)	PPE (%)	PSR (%)	Effective field capacity (rai/hr.)
Metering discs D1				
1.27	37.00 b	23.30 b	54.01 a	1.30 a
1.89	34.60 a	15.24 a	52.01 a	2.00 b
2.73	34.50 a	14.90 a	54.01 a	2.90 c
Average	35.40 A	17.80 C	53.30 A	
Metering discs D2				
1.27	50.60 a	12.40 a	61.51 a	1.20 a
1.89	50.50 a	12.15 a	60.01 a	2.00 b
2.73	49.80 a	10.60 a	58.51 a	3.60 c
Average	50.30 B	11.70 A	60.00 B	
Metering discs D3				
1.27	69.00 a	14.94 a	66.00 a	1.40 a
1.89	68.83 a	14.72 a	58.00 a	2.00 b
2.73	68.90 a	14.80 a	62.00 a	3.60 c
Average	68.90 C	14.80 B	62.00 C	

Remark: D1 = planting pitch 30 cm, D2 = planting pitch 45 cm, D3 = planting pitch 60 cm;

Means in the same column followed by a common type of lowercase or uppercase letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 5 The effects of planting pitch, operating speed and planting depth on planting pitch error (PPE), planting success rate (PSR), planting missing rate (PMR) and field capacity

Test parameters		PPE (%)	PSR (%)	PMR (%)	Field capacity (rai/hr.)
Metering disc	D1	20.84 c	53.18 a	46.82 a	1.95 a
	D2	11.43 a	59.76 b	40.24 b	2.26 c
	D3	13.90 b	67.32 c	32.68 c	2.21 b
Operating speed (km/hr.)	1.27	16.55 b	61.92 a	38.08 a	1.30 a
	1.89	15.40 ab	58.83 a	41.17 a	1.98 b
	2.73	14.23 a	59.50 a	59.50 a	3.13 c
Planting depth (cm)	10	16.01 b	61.72 b	38.28 b	2.17 b
	15	14.78 a	58.45 a	41.55 a	2.11 a

Remark: D1 = planting pitch 30 cm, D2 = planting pitch 45 cm, D3 = planting pitch 60 cm;

Means in the same column followed by a common type of letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

และพบว่า ที่ปัจจัยความลึกการปลูก 10 ซม. (PSR 61.72%) ซึ่งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับที่ปัจจัยความลึก 15 ซม. (PSR 58.45%) ดังนั้นความลึกที่เหมาะสมในการปลูกต้นกล้าอ้อยของอุปกรณ์ที่พัฒนา คือ ความลึกการปลูกต้นกล้าอ้อย 10 ซม. อุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อย และลักษณะต้นกล้าอ้อยที่ปลูกหลังจากทดสอบอุปกรณ์เสร็จ (Figure 6)



Figure 6 (A) Testing the sugarcane transplanter
(B) Sugarcane seedlings after the test

6. ความสามารถในการทำงานเชิงพื้นที่ (field capacity)

ความสามารถในการทำงานเชิงพื้นที่พบว่า ค่าเฉลี่ยความสามารถในการทำงานเชิงพื้นที่ ที่ปัจจัยความเร็วการเดินทาง 1.27 1.89 และ 2.73 กม./ชม. มีค่า 1.30 1.98 และ 3.13 ไร่/ชม. ตามลำดับ (Table 5) แสดงให้เห็นว่าความเร็วการเดินทางของรถแทรกเตอร์เป็นปัจจัยหลัก ที่ส่งผลต่อความสามารถในการทำงานเชิงพื้นที่ แต่ในการทดลองที่ความเร็ว

เพิ่มสูงขึ้นทำให้ผู้ปลูกต้นกล้าอ้อย ไม่สามารถปฏิบัติงานได้ทันกลไกการปลูกที่มีความเร็วเพิ่มขึ้น ตามความเร็วการเดินทางรถแทรกเตอร์ ดังนั้น ความเร็วการเดินทางที่เหมาะสมที่สุดของอุปกรณ์ปลูกนี้ คือ 1.27 กม./ชม. เนื่องจาก มีอัตราการปลูกสำเร็จสูงสุด 61.92% ประสิทธิภาพเชิงพื้นที่ของอุปกรณ์ปลูกอ้อยในแนวตั้งที่สร้างขึ้นในงานวิจัยนี้ พบว่า มีค่าความสามารถเชิงพื้นที่ที่สูงกว่าเครื่องปลูกข้อต่ออ้อยที่สร้างโดย ธาตุร และศิริศักดิ์ (2565) ที่มีความเร็วการเคลื่อนที่ 1.34 กม./ชม. ที่ความลึกการปลูก 10 ซม. และมีความสามารถในการทำงานเชิงพื้นที่เพียง 0.8 ไร่/ชม. เท่านั้น

แสดงให้เห็นว่า จานกำหนดระยะปลูก 60 ซม. มีอัตราการปลูกสำเร็จสูงสุด (PSR 67.32%) ในขณะที่จานกำหนดระยะปลูก 45 ซม. มีความคลาดเคลื่อนระยะปลูกต้นกล้าต่ำสุดเฉลี่ย (PPE 11.43%) และความสามารถการทำงานเชิงพื้นที่ที่เกิดขึ้นสูงสุดเฉลี่ย 2.26 ไร่/ชม. (Table 5) อุปกรณ์ปลูกต้นกล้าอ้อย สามารถปลูกต้นกล้าอ้อยได้เหมาะสมที่ความลึก 10 ซม. ซึ่งมีอัตราการปลูกสำเร็จ (PSR 61.72%) มีค่าความคลาดเคลื่อน (PPE 16.01%) มากกว่าที่ความลึกการปลูก 15 ซม. (PPE 14.78%) เนื่องจาก ตัวกรวยปลูกต้นกล้าอ้อย มีช่องว่างระหว่างต้นกล้าอ้อยที่ใส่ขณะปลูก ทำให้ต้นกล้าตกลงสู่พื้นมีความคลาดเคลื่อนของระยะปลูก และในส่วนของการเตรียมพื้นที่ในแปลงเพื่อทดสอบ มีระดับพื้นผิวดินไม่สม่ำเสมอ ส่งผลให้บางพื้นที่มีระดับต่ำเกินไป ทำให้ตัวกรวยปลูกไม่สามารถเคลื่อนที่ทำงานได้ เนื่องจากแรงผลึกของดินไม่เพียงพอ อย่างไรก็ตาม ทั้งงานควบคุมระยะปลูก 45 และ 60 ซม. ที่มีค่าเฉลี่ยระยะปลูก 50.20 และ 68.40 ซม. ตามลำดับ เป็นระยะปลูกต้นกล้าอ้อยที่ห่างมากเกินไป อาจส่งผลทำให้ผลผลิตอ้อยต่อไร่ต่ำ

การพัฒนาเครื่องปลุกต้นกล้าอ้อยที่มีระยะปลุกดี จึงมีความจำเป็น การเพิ่มอัตราการปลุกสำเร็จ กรณีงานกำหนดระยะปลุก 30 ซม. จึงเป็นแนวทางการพัฒนาประสิทธิภาพการปลุกอ้อยด้วยกลไกปลุกต้นกล้าอ้อยแบบแนวดังต่อไปนี้

สรุปผลการทดลอง

จากการพัฒนาอุปกรณ์ปลุกอ้อยแนวตั้ง เพื่อปลุกต้นกล้าอ้อยที่เพาะจากข้อตา ตามความลึกที่ต้องการปลุก โดยไม่ต้องเปิดร่องดิน ภายใต้งานไขการทดลองงานปลุกที่มีระยะปลุก 30 45 และ 60 ซม. พบว่า มีความเร็วการเดินทาง 1.27 1.89 และ 2.83 กม./ชม. ตามลำดับ และอุปกรณ์ปลุกต้นกล้าอ้อยที่ค่าเฉลี่ยความลึกการปลุก 10.1 และ 14.9 ซม. สามารถปลุกต้นกล้าอ้อยด้วยระยะปลุกที่สม่ำเสมอ กรณีงานควบคุมระยะปลุก 30 45 และ 60 ซม. ได้ระยะปลุกเฉลี่ย 36.3 50.2 และ 68.4 ซม. แสดงให้เห็นว่า กลไกปลุกอ้อยที่ติดตั้งงานกำหนดระยะปลุก 60 ซม. มีอัตราการปลุกสำเร็จสูงสุดเฉลี่ย 67.32% ขณะที่ความคลาดเคลื่อนระยะปลุกต้นกล้าต่ำสุดเฉลี่ย 11.43% ความสามารถการทำงานเชิงพื้นที่เฉลี่ย 2.21 ไร่/ชม. อุปกรณ์ปลุกต้นกล้าอ้อยที่พัฒนาขึ้นมานี้ ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพที่ความลึกการปลุก 10 ซม. และมีความเร็วการเดินทาง 1.27 กม./ชม.

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา และภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่องมือวัด และสถานที่ทดสอบ ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และคณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน ที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- เฉลิมพล ไหลรุ่งเรือง อุดม เลียบวัน ปรีชา พรหมณีย์ อรรถสิทธิ์ บุญธรรม ประพันธ์ ประเสริฐศักดิ์ วันทนีย์ อ้วนณิษฐ์ ณัฐกฤต พิทักษ์ วลลิกา สุชาติ สมศักดิ์ ทองศรี และตุลย์ อินทร์มรรย. 2547. อ้อย. เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 9/2547. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 147 หน้า.
- ฐาตุร สระทองทิว และศิริศักดิ์ เชิดเกียรติพล. 2565. การพัฒนาเครื่องปลุกกล้าอ้อย. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 14(1): 62-77.
- ปิยะพงษ์ ศรีวงษ์ราช ศุภกิตต์ สายสุนทร สิทธิพร มณีวรรณ และนิพนธ์ ภูวเกียรติกำจร. 2563. การพัฒนาเครื่องปลุกอ้อยแบบใหม่สำหรับวัสดุปลูกชนิดขึ้นตาอ้อย. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 30(1): 4-15.
- พรชัย เหลืองอาภาพงศ์ สวาท รัตนวรพันธุ์ นิพนธ์ ทวีชัย โกศล เจริญสม อิสรา สุขสถาน อุดม พูลเกษ ไพโรจน์ จ้วงพานิช ถวิล ครุฑกุล อัมพร สุวรรณเมฆ และเกษม สุขสถาน. 2521. หลักการทำไร่อ้อย. พิมพ์ครั้งที่ 2 ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 168 หน้า.
- รุจิภาส คงกล้า. 2562. การวิจัยและพัฒนาอุปกรณ์พรวนกลบวัสดุอ้อยแบบไถงานชนิดใช้กำลังขับเคลื่อนสำหรับรถแทรกเตอร์ขนาดเล็ก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท วิศวกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 147 หน้า.
- สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2566. รายงานสถานการณ์การปลูกอ้อย ปีการผลิต 2565/66. กลุ่มเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กองยุทธศาสตร์และแผนงาน สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 79 หน้า.
- Jain R., S. Solomon, A.K. Shrivastava and A. Chandra. 2010. Sugarcane bud chips: A promising seed material. Sugar Tech. 12(1): 67-69.
- Naik, R., S.J.K. Annamalai, N.V. Nair and N.R. Prasad. 2013. Studies on mechanisation of planting of sugarcane bud chip settlings raised in protrays. Sugar Tech. 15(1): 27-35.

การตอบสนองของข้าวบางพันธุ์ต่อเชื้อรา *Exserohilum rostratum* สาเหตุโรคใบจุดในข้าว
และการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชระหว่างข้าวถูกทำลาย
Response of Some Rice Varieties against the Fungus, *Exserohilum rostratum*,
Causing Leaf Spot Disease on Rice and Expression of Plant Hormone
Responsive Genes in Rice during Infection

ญาติวี บุญก่อน^{1/} วีระณีย์ ทองศรี^{1/} ปฐวิภา สงกุมาร^{1/*}
Yatavee Boonkorn^{1/} Veeranee Tongsri^{1/} Pattavipha Songkumarn^{1/*}

Received 29 May 2024/Revised 11 Jul. 2024/Accepted 23 Jul. 2024

ABSTRACT

Exserohilum rostratum is an ascomycete fungus causing leaf spot on rice and rice seed discoloration in rice-growing areas of several countries. The objectives of this study were to evaluate the response of some rice varieties against *E. rostratum* and to analyse the expression of plant hormone-responsive genes during infection. Five different rice varieties, Khao Dawk Mali 105 (KDML105), RD31, RD41, Pathum Thani 1, and Jao Hom Nin (JHN) were inoculated with each representative *E. rostratum* isolate (n=10). Results showed that JHN exhibited the lowest level of disease severity whereas KDML105 displayed the greatest disease severity when infected by *E. rostratum*. Subsequently, these two varieties were analysed to elucidate their respective defense mechanisms against *E. rostratum*. Expression of plant hormone-responsive genes, including *OsPR1b* and *OsPBZ1* (salicylic acid-responsive defense genes), *JiOsPR10* (jasmonic acid-responsive defense gene), and *OsEBP89* (ethylene-responsive gene), were examined with quantitative real-time RT-PCR in KDML105 and JHN inoculated with *E. rostratum* at 24, 48, and 72 hours. The findings demonstrated that all of the tested genes were upregulated, with the highest levels observed mostly at 24-48 hours after inoculation in both rice varieties, indicating the involvement of these rice genes in response to *E. rostratum* infection. Indeed, the mechanism of rice resistance to *E. rostratum* may not be regulated through the jasmonic acid and ethylene signaling pathways. In summary, this study provides information on the potential rice leaf spot resistant variety and fundamental insights contributing to an enhanced comprehension of rice defense mechanisms against *E. rostratum*.

^{1/} ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

^{1/} Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author: fagrpps@ku.ac.th

Keywords: rice leaf spot; *Exserohilum rostratum*; plant hormone-responsive genes; plant defense genes; plant disease resistance

บทคัดย่อ

Exserohilum rostratum เป็นเชื้อราในกลุ่ม ascomycete ที่ก่อให้เกิดอาการใบจุดและเมล็ดต่างในข้าวในพื้นที่ปลูกข้าวหลายประเทศ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการตอบสนองของพันธุ์ข้าวบางชนิดต่อการเข้าทำลายของ *E. rostratum* และวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในข้าวที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชระหว่างการเข้าทำลายของเชื้อรา *E. rostratum* โดยทำการปลูกเชื้อราแต่ละไอโซเลต (n=10) ในข้าว 5 พันธุ์ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105 กข31 กข41 ปทุมธานี 1 และเจ้าหอมนิล พบว่า ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลแสดงระดับอาการโรคต่ำสุด ในขณะที่ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงระดับอาการโรคสูงสุด ดังนั้น ข้าวทั้งสองพันธุ์จึงนำมาใช้ในการศึกษากลไกการป้องกันตนเองของพืชจากการเข้าทำลายโดย *E. rostratum* โดยยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช ได้แก่ *OsPR1b* และ *OsPBZ1* (ยีนป้องกันตนเองในข้าวที่ตอบสนองต่อกรดซาลิไซลิก) *JiOsPR10* (ยีนป้องกันตนเองในข้าวที่ตอบสนองต่อกรดจัสโมนิก) และ *OsEBP89* (ยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนเอทิลีน) ตรวจสอบการแสดงออกของยีนในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และเจ้าหอมนิล ด้วยวิธี quantitative real-time RT-PCR ที่เวลา 24 48 และ 72 ชม. ภายหลังการปลูกเชื้อรา ผลการทดลองพบว่า ยีนทุกชนิดที่ดำเนินการตรวจสอบในงานวิจัยนี้มีการยกระดับการแสดงออกของยีน และยีนส่วนใหญ่พบการแสดงออกในระดับสูงที่เวลา 24-48 ชม. ภายหลังการปลูกเชื้อในพันธุ์ข้าวทั้งสองพันธุ์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ยีน

ดังกล่าวมีบทบาทเกี่ยวข้องในการตอบสนองของข้าว ระหว่างการเข้าทำลายของ *E. rostratum* ทั้งนี้กลไกการต้านทานต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าวอาจไม่ได้ถูกควบคุมผ่านวิถีสัญญาณกรดจัสโมนิกและฮอร์โมนเอทิลีน งานวิจัยนี้ได้นำเสนอข้อมูลชนิดพันธุ์ข้าวที่มีศักยภาพในการต้านทานต่อโรคใบจุดข้าวและข้อมูลพื้นฐาน เพื่อสร้างความเข้าใจในเรื่องกลไกการป้องกันตนเองของข้าวต่อเชื้อรา *E. rostratum*

คำสำคัญ: ใบจุดข้าว; เชื้อราก่อโรคใบจุดข้าว; ยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช; ยีนป้องกันตนเองของพืช; ความต้านทานโรคพืช

บทนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศไทย จากสถิติการเกษตรปี พ.ศ. 2566 พบว่า ประเทศไทยเป็นหนึ่งในผู้ผลิตข้าวที่สำคัญเป็นลำดับที่ 6 ของโลก มีปริมาณการผลิตข้าวประมาณ 22 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) อย่างไรก็ตามการผลิตข้าวให้ได้คุณภาพและปริมาณตามความต้องการยังคงเกิดปัญหาย่างต่อเนื่อง โดยหนึ่งในปัญหาดังกล่าวได้แก่ ความเสียหายที่เกิดจากเชื้อก่อโรคพืช ทั้งนี้องค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับโรคข้าว ในด้านประชากรเชื้อก่อโรค ชีววิทยาของเชื้อก่อโรค และการจัดการโรคข้าวในประเทศไทยนั้นยังคงจำกัดอยู่ในกลุ่มโรคข้าวหลัก (major diseases) เช่น โรคไหม้ของข้าวจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* และโรคขอบใบแห้งจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (ดารา และคณะ 2550) เป็นต้น แต่องค์ความรู้ของโรคข้าวที่เกิดจากเชื้อก่อโรคชนิดอื่น ๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มลำดับรองยังมีข้อมูลไม่มากนัก

Exserohilum rostratum (anamorph) หรือ *Setosphaeria rostrata* (teleomorph) จัดเป็นเชื้อราในคลาส Dothideomycetes ไฟลัม Ascomycota เป็นกลุ่มแซโพรไฟต์ (saprophyte) พบได้ทั่วไปทั้งในดิน และเศษซากพืช และสามารถเป็นเชื้อก่อโรคพืชที่สร้างความรุนแรงในระดับปานกลางถึงสูง (Wu and Turgeon, 2013) มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของ *E. rostratum* และอาการใบจุดของข้าวในหลายพื้นที่ทั่วโลก สำหรับในประเทศไทย มีรายงานการพบ *E. rostratum* ซึ่งแยกได้จากเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่าง (กัญญา, 2545) นอกจากนี้ Boonkorn et al. (2024) ได้รวบรวมใบข้าวที่แสดงอาการจุดขนาดเล็กในแปลงนาข้าวพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2558–2565 และนำมาแยกเชื้อสาเหตุพร้อมทั้งพิสูจน์เชื้อสาเหตุตามหลักการ Koch's postulates พบ *E. rostratum* เป็นหนึ่งในเชื้อราที่มีความสัมพันธ์กับอาการใบจุดขนาดเล็กของข้าว เนื่องจากเชื้อรา *E. rostratum* สามารถเข้าทำลายพืชได้ทั้งใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง อ้อย และพืชใบเลี้ยงคู่ เช่น มะเขือเทศ และถั่ว (Lin et al., 2011; Ahmadpour et al., 2013; Kusai et al., 2016; Farag and Attia, 2020) ดังนั้นการปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อตัดวงจรชีวิตของเชื้อราจึงทำได้ยาก นอกจากนี้ Gomes et al. (2023) รายงานว่า *E. rostratum* จัดเป็นเชื้อราดำรงชีพได้ดีในสภาวะแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูง ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศซึ่งมีสาเหตุจากภาวะโลกร้อนอาจส่งผลให้โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อราดังกล่าวสร้างผลกระทบต่อการผลิตข้าวในอนาคตได้

การจัดการโรคพืชโดยอาศัยหลักการต้านทานโรค เช่น การใช้พันธุ์พืชที่มีลักษณะต้านทานโรคที่ดี จัดเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง รวมถึงการ

กระตุ้นความต้านทานในพืชต่อเชื้อก่อโรคพืชโดยอาศัยตัวกระตุ้นที่มีประสิทธิภาพจัดเป็นวิธีที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้พืชมีระบบภูมิคุ้มกันเพื่อการป้องกันตนเอง 2 รูปแบบ ได้แก่ PAMP-triggered immunity (PTI) และ effector-triggered immunity (ETI) โดยทั้ง 2 รูปแบบต้องอาศัยการทำงานของตัวรับสัญญาณพืช (plant receptor) ในการทำหน้าที่รับสัญญาณ (signal) ซึ่งเป็นสิ่งเร้าจากภายนอก ทั้งนี้ PTI จัดเป็นระบบภูมิคุ้มกันขั้นแรกซึ่งเกิดจากตัวรับสัญญาณพืชที่เรียกว่า pattern recognition receptors (PRRs) รับสัญญาณแบบทั่วไป (general elicitor) เช่น pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) ได้แก่ ชิ้นส่วนที่มาจากจุลินทรีย์ซึ่งคงความอนุรักษะไว้ในจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่ง ๆ อาทิ ไคติน สายสั้น ๆ ซึ่งมาจากองค์ประกอบผนังเซลล์ของเชื้อรา สำหรับ ETI จัดเป็นระบบภูมิคุ้มกันพืชในขั้นที่สองที่อาศัยการทำงานของโปรตีนรับสัญญาณพืชที่เรียกว่า โปรตีนต้านทาน (resistant protein, R protein) ทำหน้าที่รับสัญญาณแบบจำเพาะที่เรียกว่า เอฟเฟกเตอร์ (effector) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความจำเพาะถูกผลิตในจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Jones and Dangl, 2006) เมื่อโปรตีนรับสัญญาณพืชรับสัญญาณตัวกระตุ้นแล้วจะกระตุ้นระบบป้องกันตนเองของพืชให้ผลิตอาวุธในรูปแบบโปรตีน ในกลุ่ม pathogenesis related genes (PR genes) สารทุติยภูมิที่เรียกว่า phytoalexin และสารเคมี reactive oxygen species (ROS) ซึ่งมีความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงกระตุ้นให้พืชพัฒนาโครงสร้างให้มีความแข็งแรงต่อการบุกรุกของจุลินทรีย์ที่รุกรานพืช เป็นต้น (Ding et al., 2022) การกระตุ้นระบบการป้องกันตนเองของพืชนั้นมีความซับซ้อนซึ่งอาศัยการทำงานจากเครือข่าย

สัญญาณ (signal network) ที่หลากหลาย โดยฮอร์โมนพืชจัดเป็นสัญญาณโมเลกุลชนิดหนึ่งที่สำคัญในการทำหน้าที่ควบคุมระบบการป้องกันตนเองของพืช เพื่อให้เกิดการตอบสนองอย่างจำเพาะต่อสิ่งเร้าแต่ละชนิดที่เข้ามากระตุ้นพืช (Alazem and Lin, 2015) โดยกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) กรดจัสโมนิก (jasmonic acid) และเอทิลีน (ethylene) มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นระบบป้องกันตนเองของพืช (Yang and Fernando, 2021) ทั้งนี้กรดซาลิไซลิกและกรดจัสโมนิก มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของข้าว (Tamaoki et al., 2013) ซึ่งองค์ความรู้ดังกล่าวนำไปสู่แนวทางการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อต้านทานโรคโดยอาศัยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพโดยการใช้ประโยชน์จากยีนของพืชที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสร้างความต้านทานต่อโรคพืช หรือการใช้ประโยชน์ฮอร์โมนพืชเพื่อเป็นตัวกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันพืช (Poveda, 2020)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินระดับการตอบสนองต่อโรคใบจุดข้าวที่เกิดจาก *E. rostratum* ในพันธุ์ข้าว กข31 กข41 ปทุมธานี 1 ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิล และศึกษาการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชหลัก ได้แก่ กรดซาลิไซลิก กรดจัสโมนิก และเอทิลีน ซึ่งยีนดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของพืช โดยดำเนินการตรวจสอบการแสดงออกของยีนดังกล่าวในพันธุ์ข้าวที่แสดงระดับการเกิดโรคใบจุดในระดับต่ำสุดและสูงสุด ทั้งนี้ผลการวิจัยที่ได้จะนำไปสู่หลักการสร้างความต้านทานในพืช

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การประเมินระดับการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อรา *E. rostratum*

1.1 ไอโซเลตเชื้อราที่ใช้ในงานวิจัย

เชื้อรา *E. rostratum* จำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ ER-SBR1 ER-CCO2 ER-CCO4 ER-CCO6 ER-PTE2-1 ER-PTE33-1 ER-PTE33-2 ER-PTE35-1 ER-BKK1-3 และ ER-BKK12-9 ซึ่งรวบรวมในห้องปฏิบัติการ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ นำมาใช้ในการดำเนินงานวิจัย โดย *E. rostratum* ทั้ง 10 ไอโซเลต มีแหล่งที่มาจากแปลงนาข้าวในเขตภาคกลางของประเทศไทย และได้รับการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาและชีววิทยาโมเลกุล แล้วมีความใกล้เคียงกับ *E. rostratum* accession number MT524320 ด้วยความเหมือน (Identity) 100% รวมถึงผ่านการพิสูจน์โรคตามหลักการของ Koch's postulates เรียบร้อยแล้ว

1.2 การเตรียมต้นข้าวเพื่อปลูกเชื้อรา

พันธุ์ข้าว จำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์นิยมปลูกในภาคกลางจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ กข31 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ข้าวพันธุ์กข41 และปทุมธานี 1 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท รวมถึงข้าวพันธุ์นิยมบริโภคในประเทศไทยและต่างประเทศ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งจัดซื้อจากศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวสุรินทร์ และพันธุ์ข้าวที่มีรายงานว่า มีระดับการเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris oryzae* ในระดับต่ำ ได้แก่ พันธุ์เจ้าหอมนิล (Songkumarn et al., 2019) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

นำเมล็ดข้าวทั้ง 5 พันธุ์ มาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชม. แล้วเทน้ำทิ้ง จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปวางบนภาชนะที่มีกระดาษชำระอเนกประสงค์ซึ่งหนึ่งฆ่าเชื้อแล้วและให้ความชื้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้น นำต้นกล้าข้าวย้ายไปปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้ว กระถางละ 5 ต้น จำนวน 3 กระถาง/พันธุ์ ปลูกในสภาพโรงเรือนทำการใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ทุก ๆ 7 วัน จนมีอายุครบ 30 วัน

1.3 การเตรียมเชื้อราและสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อรา

นำเชื้อรา *E. rostratum* ไอโซเลตต่าง ๆ มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) โดยบ่มเลี้ยงเชื้อราที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ไอโซเลตเชื้อราที่ไม่สามารถผลิตสปอร์บนอาหาร PDA โดยตรงจะถูกนำมากระตุ้นการสร้างสปอร์โดยตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา (mycelial plug) ขนาดกว้าง x ยาว 1 ตร.ซม. วางบนกระดาษกรอง Whatman (เบอร์ 1) ปราศจากเชื้อที่ขึ้นในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยให้ส่วนของเส้นใยอยู่ด้านบน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้น ทำการเก็บเกี่ยวสปอร์ของเชื้อราที่เจริญรอบขอบชิ้นวุ้นเส้นใย โดยใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อผสมกับ tween 20 (0.01%) ปรับสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราให้มีความเข้มข้น 5×10^4 สปอร์/มล. โดยใช้ haemocytometer ในการนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา

1.4 การประเมินระดับการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อราก่อโรคใบจุด

ทำการทดสอบเปรียบเทียบระดับการตอบสนองของข้าว จำนวน 5 พันธุ์ ต่อเชื้อรา *E. rostratum* จำนวน 10 ไอโซเลต โดยแต่ละไอโซเลตทดสอบแยกจากกันอย่างอิสระ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 5 กรรมวิธี (พันธุ์) 3 ข้ำ

โดยมีกรรมวิธีฉีดพ่นด้วยน้ำหนึ่งฆ่าเชื้อผสมกับ tween 20 (0.01%) เป็นชุดควบคุมของข้าวแต่ละพันธุ์ ใช้เทคนิค detached leaf แล้วฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราในระดับความเข้มข้น 5×10^4 สปอร์/มล. (เตรียมจากข้อ 1.3)

การเตรียมใบข้าวแต่ละพันธุ์-โดยตัดใบข้าวอายุ 30 วัน มาเรียงในกล่องพลาสติกขนาด 19×28 ซม. มีวิธีการเตรียมตัวอย่างทดลองดังนี้ เตรียมถุงพลาสติกซิปล็อคขนาด 7×10 ซม. ทำการตัดช่องเพียง 1 ด้านของถุงพลาสติกให้มีตำแหน่งอยู่บริเวณด้านบนของปากถุงห่างจากตำแหน่งปิดผนึกถุงลงมา 1 ซม. จำนวน 5 ช่อง/ถุง โดยตัดช่องมีขนาดของช่องเท่ากับฐานใบพืชทดสอบ นำน้ำหนึ่งฆ่าเชื้อบรรจุในถุงพลาสติกปริมาตร 40 มล. ปิดปากถุงซิปล็อคให้แน่น จากนั้นนำใบข้าวที่ตัดแต่ละพันธุ์สอดฐานใบผ่านช่องด้านบนถุงพลาสติก วางเรียง 5 ใบ/ถุง แล้วนำไปวางบนแผ่นฟิวเจอร์บอร์ดในกล่องพลาสติก ที่วางอยู่ในสภาพเอียง 45° จำนวน 2 ถุง/กล่อง ข้าวแต่ละพันธุ์เตรียมใบข้าวจำนวน 30 ใบ เพื่อการปลูกเชื้อ เติมน้ำปริมาตร 200 มล. ลงในกล่องเพื่อให้มีความชื้นสูงระหว่างการปลูกเชื้อ จากนั้นทำการฉีดพ่นสปอร์ปริมาตรรวม 5 มล./กล่อง ให้ทั่วบริเวณใบข้าวแล้วปิดฝากล่องพลาสติก นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อในตู้ควบคุมการเจริญของพืชในสภาพให้แสง 12 ชม. และมีมืด 12 ชม. ที่อุณหภูมิ 30°C . เป็นเวลา 72 ชม.

การประเมินระดับการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อราก่อโรคใบจุด จากพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค โดยใช้โปรแกรม Adobe photoshop ฟังก์ชัน color range เพื่อให้โปรแกรมจับภาพผลที่ต้องการตรวจสอบ และให้รายงานค่าเป็นพื้นที่ในหน่วย pixels ด้วยฟังก์ชัน histogram คำนวณหา % พื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{พื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค (\%)} = (\text{พื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค} / \text{พื้นที่ใบทั้งหมด}) \times 100$$

ทำการหาค่าเฉลี่ยของ%พื้นที่ใบที่แสดงอาการโรคโดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ที่เป็นอิสระจากกัน และวิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY)

2. การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชในข้าวที่ปลูกเชื้อรา

ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช จำนวน 4 ยีน ได้แก่ 1) *OsPR1b* (*Oryza sativa* pathogenesis-related protein 1b) 2) *OsPBZ1* (*Oryza sativa* pathogenesis-related protein 10a) 3) *JiOsPR10* (Jasmonate inducible rice pathogen-related class 10 protein) และ 4) *OsEBP89* (*Oryza sativa* ethylene-responsive element binding protein, clone 89) โดยยีนที่ 1 และ 2 อยู่ในกลุ่ม pathogenesis related genes (PR genes) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของพืชต่อสิ่งแปลกปลอมที่บุกรุกพืช และสามารถถูกกระตุ้นโดย butylated hydroxytoluene (BHT) ซึ่งเป็นสารเคมี analog กับกรดซาลิไซลิก (Shimono et al., 2007) ขณะที่การแสดงออกของยีน *JiOsPR10* ถูกกระตุ้นได้ด้วยกรดจัสโมนิก (Jwa et al., 2001) และ *OsEBP89* เป็นยีนที่ถูกกระตุ้นได้ด้วยสาร 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอทิลีน (Yang and Fernando, 2021)

2.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

นำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์เจ้าหอมนิล ซึ่งแสดงการเกิดโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *E. rostratum* ในระดับสูงสุดและต่ำสุดมาใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของพืชภายใต้การควบคุมโดยวิธีฮอร์โมนพืชหลักชนิดต่าง ๆ โดยนำเมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชม. แล้วเทน้ำทิ้ง บ่มไว้ในกระดาดชำระเอนกประสงค์หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำไปปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว โดยแบ่ง 1 กระถางออกเป็น 2 ส่วน ในแต่ละส่วนทำการปลูกข้าวแต่ละพันธุ์ จำนวน 8 ต้น รวม 16 ต้น ทำการทดลอง 8 กระถาง (ซ้ำ) ปลูกในสภาพโรงเรือน ทำการใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ทุก ๆ 7 วัน จนมีอายุครบ 30 วัน จากนั้นจึงนำกระถางที่ปลูกข้าวมาบรรจุลงในถุงพลาสติกที่มีการหล่อน้ำเพื่อให้ความชื้น ฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *E. rostratum* ไอโซเลตที่มีความสามารถในการสร้างสปอร์ได้ดี ความเข้มข้นประมาณ 5×10^4 สปอร์/มล. ให้ปกคลุมทั่วผิวใบของตัวอย่างพืชจำนวน 4 กระถาง และฉีดพ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อที่ผสม tween 20 (0.01%) จำนวน 4 กระถางเป็นชุดควบคุม จากนั้น ปิดปากถุงพลาสติกไว้เพื่อคงความชื้นสูงในระหว่างการปลูกเชื้อรา ทำการเก็บตัวอย่างข้าวหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 0 24 48 และ 72 ชม. โดยตัดเก็บตัวอย่างเฉพาะส่วนของใบข้าวจำนวน 2 ต้น จากแต่ละกระถางแบบสุ่มในแต่ละช่วงระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างพืช นำตัวอย่างใบข้าวเก็บแช่ในไนโตรเจนเหลวก่อนเก็บที่ -80 °ซ.

2.2 การเตรียม cDNA และการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี quantitative realtime RT-PCR

บดตัวอย่างใบข้าวด้วยไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียดประมาณ 100 มก. จากนั้น ทำการสกัดอาร์เอ็นเอทั้งหมด (total RNA) โดยใช้ชุดสกัด RNeasy plant mini kit (Qiagen, USA) นำส่วนของอาร์เอ็นเอทั้งหมดมาสังเคราะห์เป็น cDNA โดยใช้ชุด iScript reverse transcription supermix (Biorad, USA) และนำ cDNA ที่ได้ไปวิเคราะห์การ

แสดงออกของยีนโดยวิธี quantitative realtime RT-PCR ใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบป้องกันตนเองของพืชในวิถีฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ (Table 1) ทำการวิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีนจำนวน 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวอย่าง cDNA ที่เวลาต่าง ๆ กัน โดยใช้ realtime PCR ในระบบตรวจจับสัญญาณ SYBR green fluorescence ประเมินระดับการแสดงออกของยีนเชิงสัมพัทธ์ (relative expression) โดยคำนวณตามวิธีของ Livak and Schmittgen (2001) ดังนี้

$$\text{Relative expression} = 2^{\frac{\Delta C_t, \text{ target (control-sample)}}{\Delta C_t, \text{ reference (control-sample)}}$$

โดย target	หมายถึง ยีนป้องกันตนเองของพืชที่ต้องการตรวจสอบ
reference	หมายถึง ยีน <i>Actin</i> ในข้าว (<i>Os03g50890</i>)
control	หมายถึง กลุ่มตัวอย่างข้าวจากการปลูกเขี่ยด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อผสม tween 20 (0.01%)
sample	หมายถึง กลุ่มตัวอย่างข้าวจากการปลูกเขี่ยรา <i>E. rostratum</i>

Table 1 Sequences of plant hormone responsive genes and reference gene specific primers used for the real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction

Gene	Sequence (3'->5')	Reference
Salicylic acid-responsive genes		
<i>OsPR1b</i>	F: GGCAACTTCGTCGGACAGA R: CCGTGACCTGTTTACATTTTCA	Duan et al., 2014
<i>OsPBZ1</i>	F: CCCTGCCGAATACGCCTAA R: CTCAAACGCCACGAGAATTG	Liu et al., 2015
Jasmonic acid-responsive gene		
<i>JiOsPR1b</i>	F: CGGACGCTTACAATAAATCG R: AAACAAAACCATCTCCGACAG	De Vleeschauwer et al., 2010
Ethylene-responsive gene		
<i>OsEBP89</i>	F: TGACGATCTTGCTGAACTGAA R: CAATCCCACAACTTTACACA	De Vleeschauwer et al., 2010
Rice reference gene		
<i>OsActin</i> (<i>Os03g50890</i>)	F: CAGCACATTCCAGCAGAT R: GGCTTAGCATTCTTGGGT	Duan et al., 2014

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตอบสนองของพันธุ์ข้าวบางพันธุ์ต่อเชื้อรา *E. rostratum*

การตอบสนองของพันธุ์ข้าวทั้ง 5 พันธุ์ต่อเชื้อรา *E. rostratum* มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกไอโซเลตที่ทำการทดสอบ (10 ไอโซเลต) พบว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงระดับการเกิดโรคสูงสุด (อ่อนแอ) 94.92% เมื่อปลูกเชื้อด้วยเชื้อราไอโซเลต ER-PTE33-1 (Table 2) และข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลแสดงระดับการเกิดโรคต่ำสุด (ต้านทาน) ในทุกไอโซเลตของเชื้อรา ขณะที่ข้าวพันธุ์ กข31 กข41 และปทุมธานี 1 มีระดับการเกิดโรคแตกต่างกันไปในแต่ละไอโซเลต อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในภาพรวมในทุกไอโซเลต พบว่าขาวดอกมะลิ 105 อ่อนแอต่อโรคมามากที่สุด โดยแสดงอาการ 78.53% ในขณะที่ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลแสดงลักษณะต้านทานต่อโรค แสดงอาการน้อยที่สุด 6.44% (Table 2 และ Figure 1) ซึ่งลักษณะความต้านทานแบบสมบูรณ์นั้น เกิดจากการทำงานของยีนต้านทาน ซึ่งเป็นยีนหลัก โดยยีนดังกล่าวจะทำการสังเคราะห์โปรตีนต้านทาน ทำหน้าที่รับสัญญาณโปรตีนที่หลังจากเชื้อก่อโรคพืช ส่งผลให้พืชกระตุ้นการสร้างความต้านทานมาต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคพืช (Jones and Dangl, 2006) ปัจจุบันมีการรายงานข้อมูลของยีนต้านทาน ซึ่งเป็นยีนหลักในข้าวต่อโรคพืช เช่น โรคไหม้ข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *P. oryzae* โรคกาบใบแห้งจากเชื้อรา *R. solani* และโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xoo* (Ramalingam et al., 2020) แต่ยังไม่มีการรายงานยีนต้านทานหลักที่มีประสิทธิภาพในการต้านทานโรคของข้าวที่เกิดจากเชื้อราชนิดอื่น ๆ โดยในงานวิจัยนี้พบว่า ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลมีความ

ต้านทานสูงสุดต่อโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *E. rostratum* ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าข้าวพันธุ์ดังกล่าวมีพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะความต้านทานแบบไม่สมบูรณ์ หรือความต้านทานแบบบางส่วน (partial resistance) โดยแสดงอาการโรคในระดับปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์อ่อนแอ และตอบสนองต่อเชื้อราต่างไอโซเลตหรือต่างสายพันธุ์ในระดับใกล้เคียงกัน โดยพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะความต้านทานดังกล่าวอาจมีความเกี่ยวข้องกับหลายตำแหน่งบนโครโมโซม และมีความทนทานยาวนานเมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงปลูก (Pilet-Nayel et al., 2017) ทั้งนี้ลักษณะการตอบสนองของข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลต่อเชื้อรา *E. Rostratum* มีความคล้ายคลึงกับการตอบสนองของพันธุ์ข้าวดังกล่าวต่อเชื้อราก่อโรคใบจุดสีน้ำตาลในข้าวที่เกิดจาก *B. oryzae* ซึ่งแสดงปริมาณของแผลจุดน้อย (Songkumarn et al., 2019) แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของแหล่งพันธุกรรมต้านทานในข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลต่อเชื้อราก่ออาการจุดในข้าว *B. oryzae* และ *E. rostratum*

2. การแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชระหว่างข้าวถูกเข้าทำลายโดย *E. rostratum*

ภาพรวมการแสดงออกของยีน *OsPR1b* *OsPBZ1* *JiOsPR10* และ *OsEBP89* ในข้าว พบว่าข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ตอบสนองต่อ *E. rostratum* โดยมีการแสดงออกของยีนส่วนใหญ่ในระดับสูงในช่วงเวลา 24 - 48 ชม. และลดระดับในช่วงท้ายของการเข้าทำลายของเชื้อ (72 ชม.) (Figure 2 และ 3) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ข้าวทั้งสองชนิดซึ่งแสดงอาการของโรคในระดับต่ำและในระดับสูงมีการตอบสนองต่อ *E. Rostratum* โดยอาศัยการแสดงออกของยีนชนิดต่าง ๆ ที่คล้ายคลึงกัน

และอาศัยการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองหลากหลายชนิด (*PR1b* *PBZ1* *JiOsPR10*) ในระหว่างการติดเชื้อ *E. rostratum* ซึ่งการแสดงออกของยีนทั้ง 4 ชนิด ในระดับสูงระหว่างข้าวถูกเข้าทำลายโดยเชื้อราก่อโรคนี้อาจสอดคล้องกับรายงานของ De Vleeschauwer et al. (2010) ที่พบการแสดงออกของยีนทั้ง 4 ชนิดในระดับสูงในพันธุ์ข้าวอ่อนแอที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อรา *B. oryzae* ก่อโรคใบจุดสีน้ำตาล รวมถึงงานวิจัยของ Jwa et al. (2001) และ Wang et al. (2014) ที่รายงานถึงยีน *JiOsPR10* *OsPR1b* และ *OsPBZ1* มีการแสดงออกสูงในพันธุ์ข้าวอ่อนแอต่อโรคไหม้ภายหลังการปลูกเชื้อรา *M. oryzae* การตอบสนองของยีนจากงานวิจัยนี้มีความคล้ายคลึงกันในพันธุ์ข้าวทั้งสองพันธุ์ แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ว่าการแสดงออกของยีน *OsPR1b* *OsPBZ1* *JiOsPR10* และ *OsEBP89* ในข้าว นั้นอาจเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันพื้นฐานของพืชที่ตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อราก่อโรคในข้าว

ผลการทดลองพบว่า มีเพียงยีน *OsPR1b* ในพันธุ์ข้าวเจ้าหอมนิลที่มีการแสดงออกของยีนในระดับสูงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยตรวจพบที่เวลา 24 ชม. ภายหลังการปลูกเชื้อ *E. Rostratum* ไอโซเลต ER-PTE33-1 (Figure 2A กรอบเส้นประสีแดง) จึงเป็นไปได้ว่า การแสดงออกของยีน *OsPR1b* ที่เร็วกว่าและมีการแสดงออกของยีนในระดับสูงอาจส่งผลให้พันธุ์ข้าวเจ้าหอมนิลจำกัดการเข้าทำลายของเชื้อรา *E. rostratum* ได้ดีกว่าข้าวพันธุ์ขาว

ดอกมะลิ 105 ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าวิธีสัญญาณกรดกรดจัสโมนิกและวิธีสอร์โมนเอทิลีนไม่ได้มีบทบาทหลักในการทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *E. Rostratum* อย่างไรก็ตาม การติดตามการแสดงออกของยีนในงานวิจัยนี้ ทำการตรวจสอบโดยเว้นช่วงเวลาทุก ๆ 24 ชม. และเมื่อพิจารณาอาการจุดบนใบข้าวพบว่า อาการจุดบนใบข้าว นั้นสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าที่เวลา 24 ชม. เป็นต้นไป

งานวิจัยนี้ยังคงไม่สามารถสรุปความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะความต้านทานต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าว กับวิธีสัญญาณกรดซาลิไซลิก เนื่องจาก *OsPR1b* สามารถยกระดับการแสดงออกของยีนในข้าวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยฮอร์โมนพืชชนิดอื่น ๆ ได้เช่นกัน เช่น กรดจัสโมนิก กรดแอบไซซิก (abscisic acid) รวมถึงฮอร์โมนไคเนติน (kinetin) (Agrawal et al., 2000) แต่จากการศึกษาของ Kouzai et al. (2018) พบว่า วิธีสัญญาณกรดซาลิไซลิกมีบทบาทเกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อเชื้อรา *R. solani* ก่อโรคกาบใบแห้งในข้าว ดังนั้นจึงควรมีการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดซาลิไซลิกที่สะสมภายในพืชระหว่างการเข้าทำลายโดยเชื้อรา *E. rostratum* ร่วมกับการแสดงออกของยีน *OsPR1b* และ *OsPBZ1* ในข้าวทั้งสองพันธุ์ ต่อไปเพื่อยืนยันถึงบทบาทที่ชัดเจนของกรดซาลิไซลิกในการทำหน้าที่เป็นสัญญาณโมเลกุลที่กระตุ้นความต้านทานต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าว

Table 2 Percentage of damaged leaf area of 5 rice varieties; Khao Dawk Mali 105 (KDML105), Rice Department31 (RD31), Rice Department41 (RD41), Pathum Thani 1 (PTT1), and Jao Hom Nin (JHN) after 72 hours separately inoculated with each isolates of *Exserohilum rostratum*

Isolate	Mean of damaged leaf area (%) on rice varieties				
	KDML 105	RD31	RD41	PTT1	JHN
ER-SBR1	79.80 ± 5.72 a ^{1/}	33.60 ± 4.26 d	65.72 ± 2.76 b	46.96 ± 4.24 c	6.22 ± 3.10 e
ER-CCO2	75.34 ± 6.69 a	44.02 ± 6.16 c	54.55 ± 8.92 b	50.99 ± 5.83 b	10.87 ± 4.10 d
ER-CCO4	73.23 ± 12.97 a	46.01 ± 7.37 c	52.32 ± 5.89 c	63.24 ± 3.65 b	10.76 ± 4.31 d
ER-CCO6	77.68 ± 3.96 a	43.77 ± 6.33 c	64.95 ± 3.11 b	64.53 ± 3.59 b	3.94 ± 3.18 d
ER-PTE2-1	75.23 ± 5.68 a	29.91 ± 4.51 d	50.64 ± 5.60 b	39.83 ± 6.68 c	5.80 ± 3.92 e
ER-PTE33-1	94.92 ± 3.86 a	32.25 ± 5.92 d	66.95 ± 4.82 b	59.12 ± 8.26 c	16.02 ± 6.88 e
ER-PTE33-2	80.13 ± 6.10 a	19.86 ± 4.17 d	32.53 ± 5.83 b	26.91 ± 3.69 c	2.53 ± 1.59 e
ER-PTE35-1	73.80 ± 5.86 a	24.16 ± 3.88 d	51.90 ± 8.10 b	36.43 ± 3.50 c	2.74 ± 1.34 e
ER-BKK1-3	70.31 ± 9.29 a	29.32 ± 6.56 c	46.03 ± 6.69 b	50.67 ± 7.45 b	1.39 ± 0.81 d
ER-BKK12-9	84.81 ± 3.44 a	32.59 ± 5.92 c	47.59 ± 5.95 b	30.46 ± 5.26 c	4.15 ± 3.17 d
All isolates ^{2/}	78.53 ± 7.09 a	33.55 ± 8.68 d	53.32 ± 10.56 b	46.91 ± 13.28 c	6.44 ± 4.67 e

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

^{2/} n=10

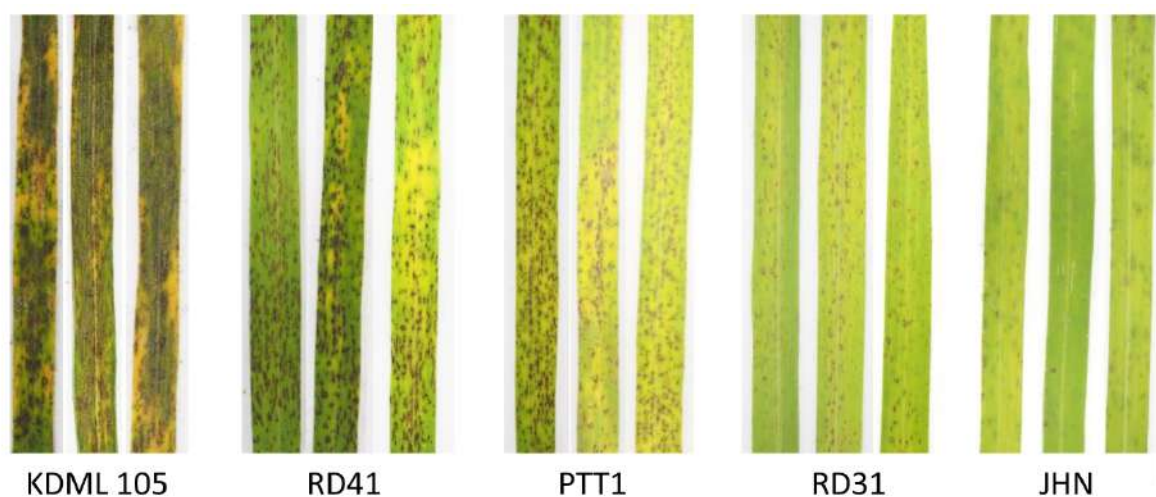


Figure 1 Rice leaf spot expression on the leaves of different rice varieties after the infection of the representative *Exserohilum rostratum* isolate PTE33-1; Disease formation on Khao Dawk Mali 105 (KDML105), Rice Department31 (RD31), Rice Department41 (RD41), Pathum Thani 1 (PTT1) and Jao Hom Nin (JHN) after 72 hours of *E. rostratum* infection on 30-day-old leaves with detached leaf inoculation technique

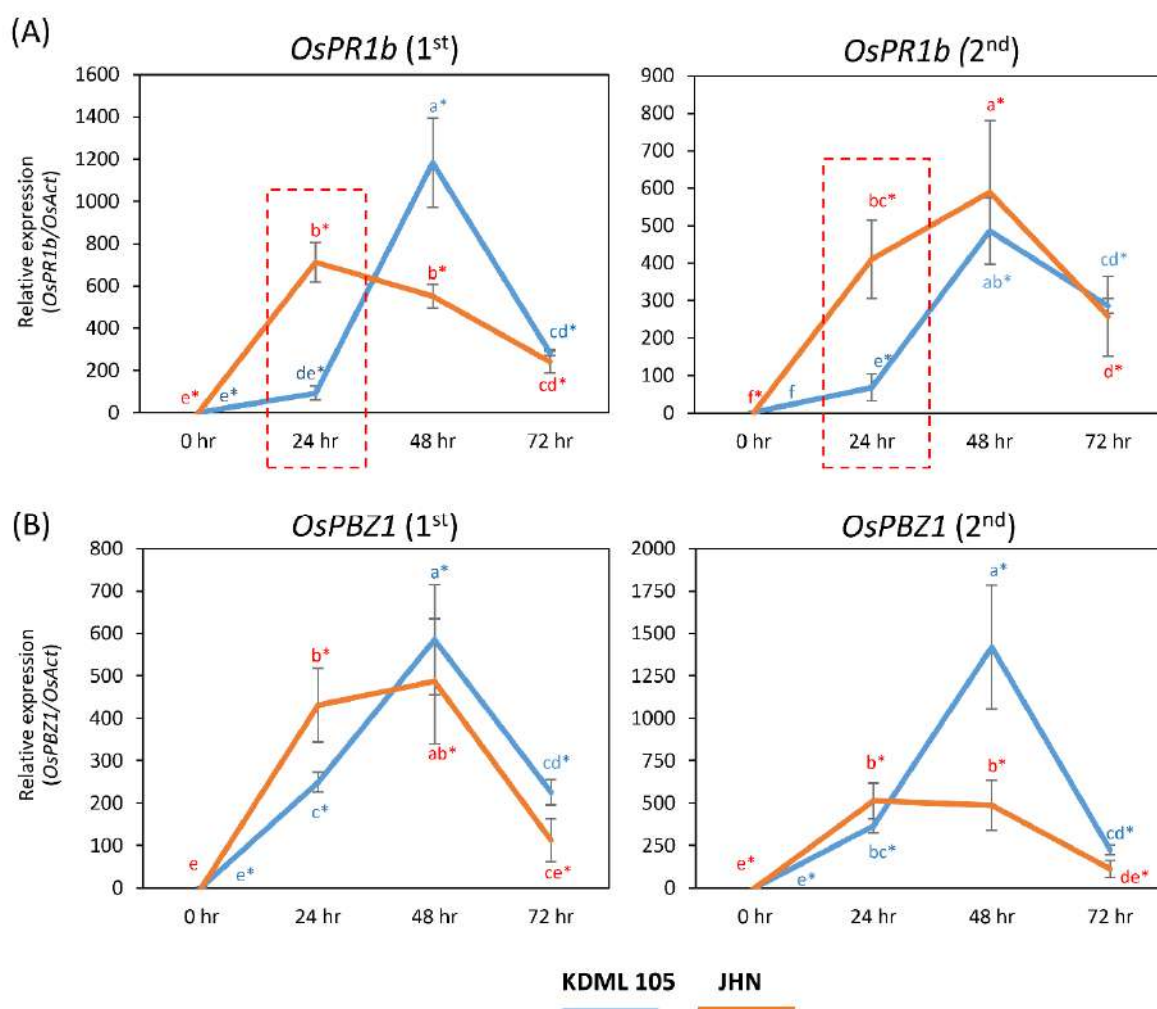


Figure 2 Gene expression analysis of salicylic acid (SA) responsive defense genes: *OsPR1b* (A) and *OsPBZ1* (B) in rice variety Khao Dawk Mali 105 (KDML105) (blue line) and Jao Hom Nin (JHN) (red line) infected with *Exserohilum rostratum* isolate PTE33-1 at 0, 24, 48 and 72 hours; Relative expression levels of the target genes (*OsPR1b* and *OsPBZ1*) were normalized to those of the rice Actin gene (*OsActin*); The bars represent mean $\pm$ SD from three technical replicates. Asterisk indicates significant difference at $P < 0.05$ between control tissue samples and infected tissue samples as determined by t-test; Means followed by different letters are significantly different among individual tissue samples with the treatment of *E. rostratum* at different time points of inoculation as indicated by DMRT at $P < 0.05$; Two independent experiments of each gene were performed and their results were separately presented (as the 1st and 2nd in the figure)

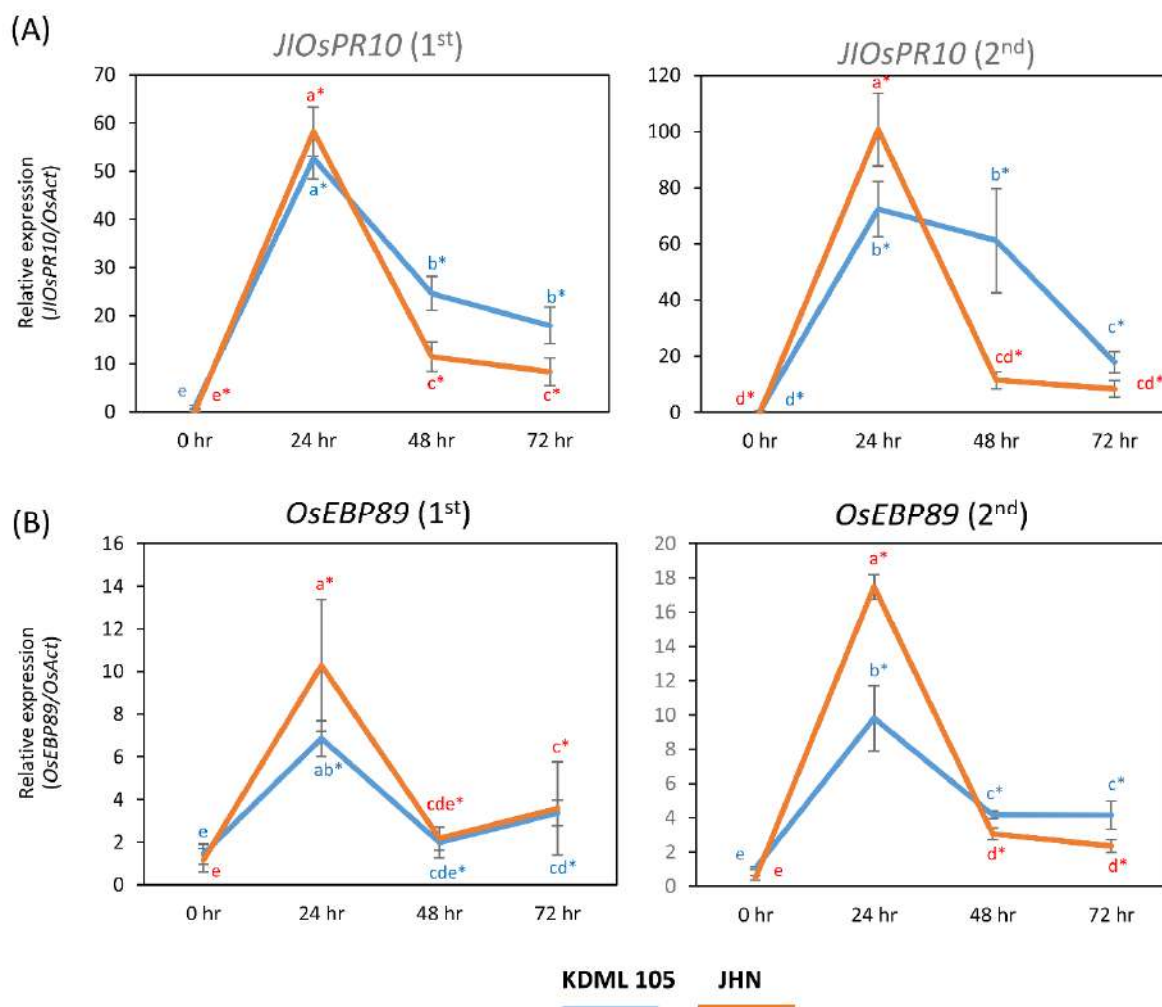


Figure 3 Gene expression analysis of jasmonic acid (JA) responsive defense gene, *JiOsPR1b* (A) and ethylene responsive gene, *OsEBP89* (B) in rice variety Khao Dawk Mali 105 (KDML105) (blue line) and Jao Hom Nin (JHN) (red line) infected with *Exserohilum rostratum* isolate PTE33-1 at 0, 24, 48 and 72 hours; Relative expression levels of the target genes (*JiOsPR1b* and *OsEBP89*) were normalized to those of the rice Actin gene (*OsActin*); The bars represent mean $\pm$ SD from three technical replicates; Asterisk indicates significant difference at $P < 0.05$ between control tissue samples and infected tissue samples as determined by t-test; Means followed by different letters are significantly different among individual tissue samples with the treatment of *E. rostratum* at different time points of inoculation as indicated by DMRT at $P < 0.05$; Two independent experiments of each gene were performed and their results were separately presented (as the 1st and 2nd in the figure)

สรุปผลการทดลอง

การตอบสนองของพันธุ์ข้าว กข31 กข41 ปทุมธานี 1 ขาวดอกมะลิ 105 และเจ้าหอมนิลต่อเชื้อรา *E. rostratum* จำนวน 10 ไอโซเลต พบว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงระดับการเกิดโรคสูงสุดและข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลแสดงระดับการเกิดโรคต่ำสุดในทุกไอโซเลตที่นำมาทดสอบ ทั้งนี้เมื่อทำการตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชและมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตนเองของข้าว ได้แก่ *OsPR1b* และ *OsPBZ1* (ยีนเครื่องหมายในวิถีกรดซาลิไซลิก) *JiOsPR10* (ยีนเครื่องหมายในวิถีกรดจัสโมนิก) และ *OsEBP89* (ยีนเครื่องหมายในวิถีฮอร์โมนเอทิลิน) ในพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์เจ้าหอมนิลระหว่างการเข้าทำลายโดยเชื้อรา *E. rostratum* พบว่า ยีนทั้ง 4 ชนิด มีการยกระดับการแสดงออกของยีนสูงในพันธุ์ข้าวทั้งสองชนิด แสดงให้เห็นถึงการทำงานของยีนดังกล่าว ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของข้าวต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *E. rostratum* อาจเป็นไปได้ว่าวิถีสัญญาณกรดจัสโมนิกและฮอร์โมนเอทิลินไม่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าว งานวิจัยนี้ทำให้ทราบข้อมูลพันธุ์ข้าวที่แสดงการเกิดโรคใบจุดในระดับต่ำ ซึ่งอาจมีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์สำหรับการจัดการโรคข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *E. rostratum* รวมถึงวางรากฐานความเข้าใจในเรื่องกลไกในการตอบสนองของข้าวและความต้านทานของข้าว-นำเสนอข้อมูลเบื้องต้นเพื่อสร้างความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกในการตอบสนองของข้าวเพื่อป้องกันตนเองจากเชื้อรา *E. rostratum* ในระดับโมเลกุล รวมถึงกลไกในการสร้างความต้านทานเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าวที่เกี่ยวข้องกับวิถี

ฮอร์โมนหลักของพืช ซึ่งองค์ความรู้ดังกล่าวนำไปสู่การวางรากฐานแนวคิดการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีชีวภาพรวมถึงฮอร์โมนพืชเพื่อเพิ่มศักยภาพข้าวให้ต้านทานต่อเชื้อรากลุ่มโรคใบจุดต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ส่วนหนึ่งได้รับงบประมาณสนับสนุนจากศูนย์ประสานงานนักเรียนทุนรัฐบาลทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

เอกสารอ้างอิง

- กัญญา เจริญไทย. 2545. เชื้อรา Dematiaceous Hyphomycetes บนข้าว ข้าวโพด วัชพืชใบแคบ และดินบริเวณราก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 163 หน้า.
- ดารา เจตนะจิตร นงรัตน์ นิลพานิชย์ พากเพียร อรัณนารถ วิชิต ศิริสันธนะ วิชชุดา รัตนากาญจน์ และรัศมี จิตติเกียรติพงศ์. 2550. โรคข้าวและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, กรุงเทพฯ. 68 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2566. Available at: <https://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/journal/2567/statistic2566.pdf>. Accessed: April 29, 2024.
- Agrawal, G.K, R. Rakwal and N.S. Jwa. 2000. Rice (*Oryza sativa* L.) *OsPR1b* gene is phytohormonally regulated in close interaction with light signals. Biochemical and Biophysical Research Communications. 278(2): 290-298.

- Ahmadpour, A., S. Karami, Z. Heidarian and M. Javan-Nikkhah. 2013. *Exserohilum rostratum* causing sugarcane leaf spot in Iran. Australasian Plant Disease Notes. 8: 97–99.
- Alazem, M. and N.S. Lin. 2015. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions. Molecular Plant Pathology. 16: 529–540.
- Boonkorn, Y., V. Tongsri, O. Piasai and P. Songkumarn. 2024. Characterization, pathogenicity and fungicide response of *Exserohilum rostratum* causing leaf spot on rice in Thailand. European Journal of Plant Pathology. 170: 549–566.
- De Vleeschauwer, D., Y. Yang, C. Vera Cruz and M. Höfte. 2010. Absciscic acid-induced resistance against the brown spot pathogen *Cochliobolus miyabeanus* in rice involves MAP kinase-mediated repression of ethylene signaling. Plant Physiology. 152(4): 2036–2052.
- Ding, L.N., Y.T. Li, Y.Z. Wu, T. Li, R. Geng, J. Cao, W. Zhang and X.L. Tan. 2022. Plant disease resistance-related signaling pathways: Recent progress and future prospects. International Journal of Molecular Sciences. 23(24): 16200.
- Duan, C., J. Yu, J. Bai, Z. Zhu and X. Wang. 2014. Induced defense responses in rice plants against small brown planthopper infestation. The Crop Journal. 2(1): 55–62.
- Farag, M.F. and F.M. Attia. 2020. A First record of *Exserohilum rostratum* as a new pathogen causing blight in Egypt. Journal of Plant Pathology & Microbiology. 11: 496.
- Gomes, T.C., R. Conrado, R.C. Oliveira, P. Selari, I.S. Melo, W.L. Araújo, D.A. Maria and A.O. De Souza. 2023. Effect of monocerin, a fungal secondary metabolite, on endothelial cells. Toxins (Basel). 15(5): 344.
- Jones, J.D.G. and J.L. Dangl. 2006. The plant immune system. Nature. 444: 323–329.
- Jwa, N.S., G.K. Agrawal, R. Rakwal, C.H. Park and V.P. Agrawal. 2001. Molecular cloning and characterization of a novel jasmonate inducible pathogenesis-related class 10 protein gene, *JlOsPR10*, from rice (*Oryza sativa* L.) seedling leaves. Biochemical and Biophysical Research Communications. 286: 973–983.
- Kouzai, Y., M. Kimura, M. Watanabe, K. Kusunoki, D. Osaka, T. Suzuki, H. Matsui, M. Yamamoto, Y. Ichinose, K. Toyoda, T. Matsuura, I.C. Mori, T. Hirayama, E. Minami, Y. Nishizawa, K. Inoue, Y. Onda, K. Mochida and Y. Noutoshi. 2018. Salicylic acid-dependent immunity contributes to resistance against *Rhizoctonia solani*, a necrotrophic fungal agent of sheath blight, in rice and *Brachypodium distachyon*. New Phytologist. 217: 771–783.
- Kusai, N.A., M.M.Z. Azmi, N.A.I.M. Zainudin, M.T. Yusof and A.A. Razak. 2016. Morphological and molecular characterization, sexual reproduction, and pathogenicity of *Setosphaeria rostrata* isolates from rice leaf spot. Mycologia. 108: 905–914.
- Lin, S.H., S.L. Huang, Q.Q. Li, C.J. Hu, G. Fu, L.P. Qin, Y.F. Ma, L. Xie, Z.L. Cen and W.H. Yan. 2011. Characterization of *Exserohilum rostratum*, a new causal agent of banana leaf spot disease in China. Australasian Plant Pathology. 40: 246.
- Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} method. Methods. 25: 402–408.

- Liu, J., C.H. Park, F. He, M. Nagano, M. Wang, M. Bellizzi, K. Zhang, X. Zeng, W. Liu, Y. Ning, Y. Kawano and G.L. Wang. 2015. The RhoGAP SPIN6 associates with SPL11 and OsRac1 and negatively regulates programmed cell death and innate immunity in rice. *PLOS Pathogens*. 11: e1004629.
- Pilet-Nayel, M.L., B. Moury, V. Caffier, J. Montarry, M.C. Kerlan, S. Fournet, C.E. Durel and R. Delourme. 2017. Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. *Frontiers in Plant Science*. 8: 1838.
- Poveda, J. 2020. Use of plant-defense hormones against pathogen-diseases of postharvest fresh produce. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 111: 101521.
- Ramalingam, J., C. Raveendra, P. Savitha, V. Vidya, T.L. Chaithra, S. Velprabakaran, R. Saraswathi, A. Ramanathan, M.P.A. Pillai, S. Arumugachamy and C. Vanniarajan. 2020. Gene pyramiding for achieving enhanced resistance to bacterial blight, blast, and sheath blight diseases in rice. *Frontiers in Plant Science*. 11: 591457.
- Shimono, M., S. Sugano, A. Nakayama, C.J. Jiang, K. Ono, S. Toki and H. Takatsuji, 2007. Rice WRKY45 plays a crucial role in Benzothiadiazole-inducible blast resistance. *The Plant Cell*. 19: 2064–2076.
- Songkumarn, P., P. Chaijuckam, V. Tongsri and J.J.G. Guerrero. 2019. Expression analysis of defense related genes in rice response to *Bipolaris oryzae*, the causal agent of rice brown spot. *Applied Science and Engineering Progress*. 12(2): 104–115.
- Tamaoki, D., S. Seo, S. Yamada, A. Kano, A. Miyamoto, H. Shishido, S. Miyoshi, S. Taniguchi, K. Akimitsu and K. Gomi, 2013. Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice. *Plant Signaling & Behavior*. 8: e24260.
- Wang, D., Y. Qin, J. Han, L. Zhang, X. Xu, X. Liu, C. Wang and X. Liu. 2014. Expression analysis of innate immunity related genes in the true/field blast resistance gene-mediated defence response. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 28: 999–1007.
- Wu, D. and B.G. Turgeon. 2013. *Setosphaeria rostrata*: Insights from the sequenced genome of *Setosphaeria turcica*. *Fungal Genetics and Biology*. 61:158–163.
- Yang, C. and W.G.D. Fernando. 2021. Hormonal responses to susceptible, intermediate, and resistant interactions in the *Brassica napus-Leptosphaeria maculans* pathosystem. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(9): 4714.

วิวัฒนาการของเชื้อ columnea latent viroid (CLVd) ในพืชอาศัย
โดยการศึกษา quasi-species population
Insight into Host-driven *in Planta* Evolution of Columnea Latent Viroid
through Quasi-species Population

ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภรณ์^{1/*} กาญจนา วาระวิชณี^{1/} Annelies Haegeman^{2/} Monica Höfte^{3/} Kris De Jonghe^{2/}
Parichate Tangkanchanapas^{1/*} Kanjana Warawichanee^{1/} Annelies Haegeman^{2/} Monica Höfte^{3/}
Kris De Jonghe^{2/}

Received 2 May 2024/Revised 2 Jul. 2024/Accepted 4 Jul. 2024

ABSTRACT

With a high mutation rate and fast replication, a population of mutated viroid progenies is generated and co-exists in the same host plant as a population of variants (so-called quasi-species), showing a huge level of genetic diversity. In our work, we report the evidence of the quasi-species in CLVd in several solanaceous plants; tomato (Rutgers and Seda 50), bolo maka and eggplant. An infectious dsDNA CLVd was synthesized from the recombinant plasmid containing the full-length genome of CLVd isolate Solanum-1 (JF742632) and then inoculated on the plants under specific conditions. The initial inoculation only successfully infected tomato cv. Rutgers. This CLVd-infected Rutgers was used for subsequent inoculation of the above-mentioned host plants. When all host plants proved to be systemically infected, RNA extraction and RT-PCR were performed. To study the CLVd population in individual host plants, the specific CLVd primers linked with an eight base sample-tagging sequence were used for amplifying libraries. The average 20,237 CLVd reads per PCR-replicate and 22 progeny variants in total from the first infected tomato plant were obtained. Among these 22 of CLVd variants, we found 22 total number of single-nucleotide polymorphisms in which average three point-mutations per CLVd genome mainly in Terminal Right and Pathogenic domains were observed. In addition, the estimated mutation rate of CLVd was calculated at 8.15×10^{-3} . Our data demonstrate that CLVd

^{1/} สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

^{1/} Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

^{2/} Plant Sciences Unit, Flanders Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food, Burgemeester Van Gansberghelaan 96, 9820 Merelbeke, Belgium

^{3/} Department of Plants and Crops, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Coupure links 653, 9000 Ghent, Belgium

* Corresponding author: parichate_tk@yahoo.com

in a host plant exists as a population of quasi-species while showing host specificity of the dominant variants as host-driven in *planta* evolution.

Keywords: columnnea latent viroid; quasi-species; population study; mutations; high-throughput sequencing

บทคัดย่อ

ไวรอยด์มีอัตราการกลายพันธุ์สูงและมีการจำลองตัวรวดเร็วมาก ส่งผลให้เกิดการสร้างกลุ่ม variant ของไวรอยด์ที่มีลำดับสารพันธุกรรมคล้ายกัน จำนวนมากอยู่ร่วมกันในพืชอาศัยต้นเดียวกัน หรือ quasi-species ส่งผลให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมอย่างมหาศาล งานวิจัยนี้ได้ศึกษา quasi-species ของ CLVd ในมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers และสีกดา50 รวมทั้งมะเขือเทศพันธุ์อื่นๆ และมะเขือเทศเปราะ โดยเริ่มจากการสังเคราะห์ infectious dsDNA clone ของ CLVd จาก recombinant plasmid ที่มีชิ้น full-length จีโนมของ CLVd isolate Solanum-1 (JF745632) บรรจุอยู่ใน plasmid ลงบนพืชทดสอบ พบว่า มีเพียงมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers เท่านั้นที่ติดเชื้อและแสดงอาการโรค จึงนำมะเขือเทศดังกล่าวมาใช้ปลูกเชื้อให้กับพืชทดสอบ ชนิดอื่น ๆ หลังจากพืชทดสอบทั้งหมดแสดงอาการติดเชื้อแล้ว จึงทำการสกัดอาร์เอ็นเอ RT-PCR และ amplicon library สำหรับการศึกษาประชากรของเชื้อ CLVd ที่แตกต่างกันในพืชทดสอบแต่ละชนิด โดยใช้เทคนิค amplicon sequencing และใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับเชื้อ CLVd ที่เชื่อมต่อกับ sample-tagging sequence เพื่อใช้ในการจำแนกชนิด variant ของ CLVd ใน library ผลการศึกษา

พบว่า ในพันธุ์ Rutgers ได้ข้อมูลจำนวน CLVd เฉลี่ย 20,237 read ต่อ PCR-replicate โดยพบจำนวน variant ทั้งสิ้น 22 variant และมี single-nucleotide polymorphisms เฉลี่ย 3 ตำแหน่งต่อจีโนม อยู่ในบริเวณ Terminal Right และ Pathogenic domain นอกจากนี้ พบอัตราการกลายพันธุ์เฉลี่ยของ CLVd Solanum-1 ที่ 8.15×10^{-3} ผลจากงานวิจัยนี้เป็น การพิสูจน์การเกิด quasi-species ของ CLVd และพบว่า ชนิดของ dominant variant มีความเกี่ยวข้องกับชนิดพืชอาศัย

คำสำคัญ: columnnea latent viroid; quasi-species; การศึกษาประชากร; การกลายพันธุ์; high throughput sequencing

บทนำ

Columnnea latent viroid (CLVd) เป็นเชื้อไวรอยด์ในสกุล *Pospiviroid* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคมะเขือเทศและพริกที่มีขนาดเล็กที่สุด มีองค์ประกอบเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยววงปิดที่ไม่มีโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค และไม่สามารถอ่านรหัสพันธุกรรมหรือสังเคราะห์โปรตีนใด ๆ ได้ มีขนาดจีโนมตั้งแต่ 367-374 นิวคลีโอไทด์ (Ding and Itaya, 2007; Gago-Zachert, 2016; Navarro et al., 2012) โดยทั่วไปจีโนมของเชื้อไวรอยด์ในสกุล *Pospiviroid* อยู่ในรูปโครงสร้างทุติยภูมิที่มีลักษณะคล้ายไม้เท้า (rod-like secondary structure) เนื่องจาก ลำดับเบสมีลักษณะเป็น self complementary base-pair (Dingley et al., 2003; Palukaitis, 2014) โดยโครงสร้างดังกล่าวมีความสำคัญต่อวงจรการก่อโรคในพืชอาศัยของเชื้อ CLVd และสามารถจำแนกออกเป็น 5 domain คือ terminal left (TL), pathogenic (P), central (C),

variable (V) และ terminal right (TR) domain โดย TL domain และ C domain มีบทบาทเกี่ยวข้องกับกลไกการจำลองตัวของเชื้อไวรอยด์ (Flores et al., 2012) เป็นบริเวณที่มีลำดับเบสอนุรักษ์จำนวนมาก มีลักษณะเป็น lethal mutations ซึ่งจะส่งผลกระทบร้ายแรงต่อการก่อโรคในพืชอาศัย (Tangkanchanapas et al., 2020; 2021) ขณะที่ P domain เกี่ยวข้องกับการพัฒนาอาการของโรคบนพืชอาศัย และ V domain เป็นบริเวณตำแหน่งที่มีลำดับเบสผันแปรมากที่สุด (Keese and Symons, 1985) และอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการควบคุมลักษณะอาการและความรุนแรงของโรค (Tangkanchanapas et al., 2021) และในบริเวณ TR domain ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายของอนุภาคไวรอยด์ภายในเซลล์พืชไปยังบริเวณนิวเคลียสพืช (nucleus-specific trafficking) โดยอาจอาศัย Virp1 โปรตีนพืชที่มีคุณสมบัติในการจับกับ TR domain ของไวรอยด์และพาอนุภาคไวรอยด์ไปยังนิวเคลียสพืช เป็นบริเวณที่ไวรอยด์เกิดการจำลองตัวและเป็นจุดเริ่มต้นของกลไกการติดเชื้อ รวมถึงการกระจายตัวของเชื้อไปตามระบบท่อลำเลียงในพืชอาศัย (Kalantidis et al., 2007; Steger, 2017; Zhong et al., 2008)

เชื้อ CLVd พบครั้งแรกในต้นลิปสติก (*Columnea erythrophaea*) ที่ไม่แสดงอาการผิดปกติ ในรัฐแมริแลนด์ ประเทศสหรัฐอเมริกา (Owens et al., 1978) เชื้อชนิดนี้มีพืชอาศัยที่ค่อนข้างจำกัด เช่น มะเขือเทศ มันฝรั่ง มะเขือเปราะ พริก พืชเนียบ มะฮอก Gynura แก้ว และแตงกวา เป็นพืชอาศัยหลัก (กนกมณี และ คณิงนิตย์, 2561; ปรีเชษฐ์ และคณะ, 2556; Matsushita and Tsuda, 2016; Owens et al., 1978; Verhoeven et al., 2004) เชื้อ CLVd สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด

พันธุ์ในมะเขือเทศ พืชเนียบ แตงกวา และ พริก (กนกมณี และคณิงนิตย์, 2561; ศศิประภา, 2551; Constable et al., 2019; Hammond et al., 1989; Matsushita and Tsuda, 2016) ในประเทศไทย พบเชื้อชนิดนี้เป็นครั้งแรกในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศลูกผสม ที่ จ. ขอนแก่น ในปี พ.ศ. 2547 ซึ่งเป็นเมล็ดพ่อแม่พันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อนำมาใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม (ปรีเชษฐ์, 2548) และในปี พ.ศ. 2554 พบเชื้อ CLVd variant ครั้งแรกในมะฮอก คือ CLVd isolate Solanum-1 (GenBank accession No. JF742632) ซึ่งเชื่อก่อให้เกิดอาการรุนแรงในมะฮอก และมะเขือเทศ (ปรีเชษฐ์ และคณะ, 2556)

ไวรอยด์ในวงศ์ *Pospiviroidae* อาศัยเอนไซม์ DNA-dependent RNA polymerase II (Pol II) ในนิวเคลียสของเซลล์พืชในการเพิ่มปริมาณ (Flores et al., 2011) เมื่อเอนไซม์ polymerases ของพืชต้องใช้ RNA ของไวรอยด์เป็น template แทนที่จะใช้ DNA ตามปกติ ผลที่ตามมาจึงทำให้ไวรอยด์ที่จำลองตัวออกมาใหม่มีอัตราการกลายพันธุ์ที่สูงมากขึ้น โดย ในวงศ์ *Pospiviroidae* จะมีอัตราการกลายพันธุ์ 5×10^{-3} (Brass et al., 2017) และ $1.43-2.63 \times 10^{-4}$ ใน potato spindle tuber viroid (PSTVd) (López-Carrasco et al., 2017) ซึ่งการเกิดอัตราการกลายพันธุ์ที่สูงในขั้นตอนการจำลองตัวของเชื้อไวรอยด์นี้ ส่งผลให้เกิดกลุ่ม variant ของอนุภาคไวรอยด์ (อนุภาคไวรอยด์ที่มีจีโนมที่มีลำดับเบสที่แตกต่างกัน) ปะปนอยู่ร่วมกันในเซลล์พืชเซลล์เดียวกัน ซึ่งเรียกปรากฏการณ์ดังกล่าวว่า “quasi-species” (Brass et al., 2017; Domingo et al., 2012) การเกิดการจำลองตัวซ้ำ ๆ ของ variant อนุภาคไวรอยด์ ทำให้เกิดการสะสมของกลุ่ม variant ไวรอยด์รุ่นลูกหลานที่มีการกลายพันธุ์

สะสม ซึ่งเรียกลักษณะดังกล่าวว่า “swarms” หรือ “clouds” ซึ่งแต่ละ variant จะมีปริมาณสะสมที่แตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของพืชอาศัยหรือสิ่งแวดล้อม (Domingo et al., 2012; Luring and Andino, 2010) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิวัฒนาการของประชากร CLVd variant ในพืชอาศัยหลายชนิด อัตราการกลายพันธุ์ของเชื้อ CLVd ความผันแปรของลำดับเบสของ quasi-species ที่เปลี่ยนแปลงตามชนิดพืชอาศัย และศึกษาผลของ hotspot mutation บนจีโนมของเชื้อ CLVd Solanum-1 ที่มีต่อความเสถียรของโครงสร้างทุติยภูมิของ variant ของเชื้อ CLVd เพื่อเป็นข้อมูลในการหาแนวทางป้องกันกำจัดและลดความรุนแรงของโรคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียม infectious dsDNA ของเชื้อ CLVd isolate Solanum-1

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีการสังเคราะห์ infectious dsDNA CLVd clone จาก recombinant plasmid ที่มีสาย full-length genome ของเชื้อ CLVd isolate Solanum-1 บรรจุอยู่ (Figure 1) เพื่อใช้เป็น CLVd variant เดียว (single unique sequence) โดยสังเคราะห์สาย linear full-length CLVd dsDNA จาก recombinant plasmid (Figure 1A) ที่มีสาย full-length genome ของเชื้อ CLVd isolate Solanum-1 ขนาด 369 bp (ตำแหน่ง 178-177) บรรจุอยู่ (Figure 1B) โดยอาศัยคู่ไพรเมอร์ PC-2 (Table 1) ตามวิธีการของ ปรีเชษฐ และคณะ (2548) โดยมีองค์ประกอบของปฏิกิริยาดังนี้; 10X *Pfu* buffer 5 µl, 0.2 mM dNTPs, 2 mM MgSO₄, 0.16 mM คู่ไพรเมอร์,

Pfu DNA polymerase with proofreading activity 1.5 U (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) และ purified recombinant plasmid 120 ng โดยปฏิกิริยามีปริมาตรรวมทั้งสิ้น 50 µl จากนั้นนำ blunt-end CLVd amplicon ที่สังเคราะห์ได้ไปทำให้บริสุทธิ์ด้วย SmartPure PCR kit (Kaneka Eurogentec S.A., Seraing, Belgium) ตรวจสอบความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ด้วย NanoDrop ND1000 spectrophotometer (Isogen Life Science, De Meern, The Netherlands) และ 2% agarose gel electrophoresis ขึ้นถัดมา นำ blunt-end CLVd amplicon ที่ได้ไปเชื่อมต่อบนแบบ self-circularization และ multimeric linear form เพื่อสังเคราะห์ CLVd infectious clone (Figure 1A) โดยมีองค์ประกอบของปฏิกิริยาดังนี้; polyethylene glycol MW 6000 5% (w/v), T4 DNA ligase 5 U (New England BioLabs Inc., Ipswich, MA, USA) และ blunt-end CLVd amplicon 10 ng/µl จากนั้นบ่มปฏิกิริยาที่ 16 °ซ. ข้ามคืน และหยุดปฏิกิริยาด้วยการบ่มที่ 65 °ซ. นาน 10 นาที (Tangkanchanapas et al., 2020) ตรวจสอบประสิทธิภาพของปฏิกิริยา ligation (Figure 1A) ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ CLVd-infect (Table 1) ตำแหน่ง 23-68 (Figure 1B) ส่วนประกอบของปฏิกิริยา PCR มีดังต่อไปนี้; 10X PCR buffer 2 µl, 0.2 mM dNTPs, 2 mM MgCl₂, 0.2 mM คู่ไพรเมอร์, FastStart™ *Taq* DNA Polymerase 1 U (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) และ ligated product 1 µl ปฏิกิริยามีปริมาตรรวม 20 µl ดำเนินปฏิกิริยา PCR ตามวิธีการของ Tangkanchanapas et al. (2020) ตรวจสอบผล PCR ด้วย 2% agarose gel electrophoresis

2. การปลูกเชื้อไวรัสต้นพืชทดสอบและการเก็บรักษา

นำ infectious dsDNA CLVd มาปลูกเชื้อบนมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers อายุ 3 สัปดาห์ ด้วยวิธีกล (slashing) จำนวน 10 ต้น โดยการใช้มีดกรีดบนบริเวณลำต้นสร้างแผลรูปปากฉลาม จากนั้นจึงไปเปตสารละลาย infectious dsDNA CLVd ปริมาณ 5-10 μ l หยดลงบนแผล และปิดแผลด้วยพาราฟิล์ม จากนั้นนำไปดูแลในโรงเรือนภายใต้ระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 27 °ซ. ตรวจสอบอาการโรคทุก 3-4 วัน เมื่อ

มะเขือเทศพันธุ์ Rutgers แสดงอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 6 สัปดาห์ และตรวจพบเชื้อ CLVd ด้วยวิธีการ RT-PCR จึงนำต้นมะเขือเทศที่ติดเชื้อมาใช้ปลูกเชื้อให้กับพืชทดสอบชนิดต่าง ๆ ได้แก่ มะเขือเทศพันธุ์สีดา 50 มะอึก และมะเขือเปราะ ด้วยวิธีกล จำนวน 5-6 ซ้ำต่อชนิดพืชอาศัย โดยพืชทั้งหมดถูกเก็บรักษาในโรงเรือนภายใต้สภาวะเดียวกัน เพื่อรอให้พืชทดสอบแสดงอาการที่จำเพาะของโรคอย่างชัดเจน จากนั้นจึงยืนยันการติดเชื้อ CLVd ด้วยเทคนิค RT-PCR

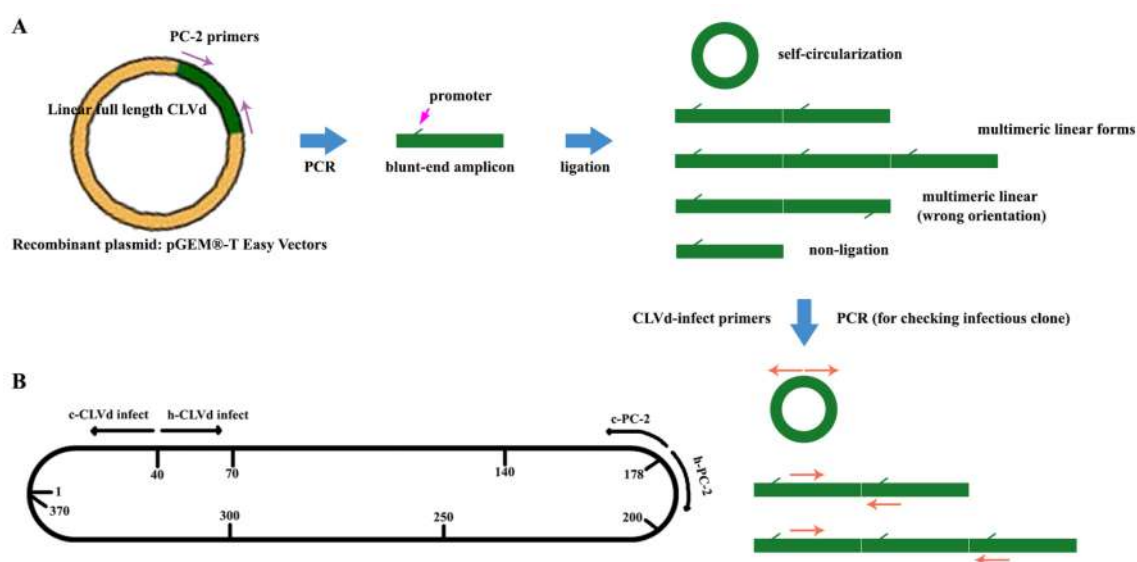


Figure 1 (A) scheme of infectious dsDNA CLVd construction: start from blunt-end linear dsDNA CLVd synthesis with PC-2 primers and *Pfu* DNA polymerase, then ligated the blunt-end amplicon which resulted in several ligation product forms (self-circularization, multimeric linear, multimeric linear with wrong orientation and non-ligation) and examine the efficiency of the ligation reaction by PCR with CLVd-infect primers; (B) The position of specific CLVd primers: PC-2 and CLVd-infect

Table 1 Details of primers used in this work

Primers	Sequences (5'-3')	Positions	Tm°
c-PC-2	TGTTTCWRCDDGGGATTACTCCTG	153-177	56.5
h-PC-2	GGGTTTTACCCCTTCCTTTC	178-197	56.2
c-CLVd-infect	TGCAGGGTCAGGTGTGAACCAC	23-39	63.2
h-CLVd-infect	GCCATGCAAAGRAAAAAGAAYGGG	40-68	63.0

3. การสกัดอาร์เอ็นเอ การเตรียม library และการทำ amplicon sequencing

สกัดอาร์เอ็นเอจากตัวอย่างใบพืชทดสอบที่ติดเชื้อ CLVd ตัวอย่างละ 100 มก. ด้วยชุด Spectrum™ plant total RNA kit (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) ตามวิธีการของผู้ผลิต และนำอาร์เอ็นเอที่ได้มาสังเคราะห์สาย complementary DNA (cDNA) ด้วย iScript™ cDNA synthesis kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) จากนั้นทำปฏิกิริยา PCR โดยการใช้คู่ไพรเมอร์ CLVd-infect (Table 1) ที่มีการเชื่อมต่อ tagging sequence จำนวน 8 นิวคลีโอไทด์ต่อท้ายที่ปลาย 5'-end ของคู่ไพรเมอร์ เพื่อใช้เป็นดัชนีในการจำแนกและติดตามชิ้น DNA amplicon จากพืชทดสอบแต่ละตัวอย่าง ส่วนประกอบของปฏิกิริยา PCR มีดังต่อไปนี้; BIO-X-ACT short mix 10 µl, 0.2 mM คู่ไพรเมอร์ที่เชื่อมต่อ tagging sequence และ cDNA 1 µl ปฏิกิริยามีปริมาตรรวม 20 µl ดำเนินปฏิกิริยา PCR ตามขั้นตอนดังนี้; 94 °ซ. นาน 3 นาที จากนั้นตามด้วยขั้นตอน PCR 40 รอบ (94 °ซ. นาน 40 วินาที, 59 °ซ. นาน 40 วินาที และ 72 °ซ. นาน 40 วินาที) และ 72 °ซ. นาน 10 นาที (Tangkanchanapas et al., 2020) ตัวอย่างละ 4 ซ้ำ โดยใช้ tagging sequence ที่แตกต่างกันเพื่อระบุแยกชนิดแหล่งที่มาของตัวอย่างพืชอาศัย

ในขั้นตอนต่อมา นำ amplicon product ทั้งหมดที่สังเคราะห์ได้มาผ่านการทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Sera-Mag™ SpeedBead carboxylate-modified magnetic particles (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) ตรวจสอบปริมาณของ amplicon product ที่ได้ด้วย QuantiFluor® dsDNA system (Promega

Corporation, Madison, WI, USA) จากนั้น ปรับความเข้มข้นของแต่ละตัวอย่างให้ได้ 80 นาโนกรัม และรวมตัวอย่างที่ได้เป็น library (2 ซ้ำ/pooled library) นำแต่ละ amplicon pool library เชื่อมต่อเข้ากับ Illumina adapter โดยผู้ให้บริการวิเคราะห์ลำดับเบส (Admera Health, South Plainfield, NJ, USA) ด้วยการใช้ชุด KAPA Hyper Prep PCR-free ligation kit (F. Homann-La Roche AG, Basel, Switzerland) นำ ligated library ทั้งหมดไปวิเคราะห์หาลำดับเบสโดยเครื่อง MiSeq v3 instrument (2 X 300 bp) (Illumina, San Diego, CA, USA)

4. ขั้นตอนการจัดการอ่านข้อมูล และการวิเคราะห์ในส่วนท้าย

จัดการข้อมูลที่ได้หลังจากวิเคราะห์หาลำดับเบสจาก high-throughput sequencing (HTS) library ตามวิธีการของ Tangkanchanapas et al. (2020) จากนั้นนำข้อมูล read sequence ทั้งหมดของ CLVd variant ที่ได้และ CLVd Solanum-1 isolate (master sequence) มาวิเคราะห์ multiple sequence alignment ด้วยโปรแกรม MUSCLE (MEGA7) (default parameter) (Kumar et al., 2016) และสร้าง phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม MEGA7 โดยเลือกวิธีการ neighbor-joining (bootstrap 1000 replicates) ทำการวิเคราะห์หา major SNPs (single nucleotide polymorphisms) ที่เกิดขึ้นทั้งหมด และโครงสร้างทุติยภูมิ (thermodynamic secondary structure) ของ variant CLVd Solanum-1 ทั้งหมดที่ตรวจพบด้วยโปรแกรม RNA folding form program (<http://unafold.rna.albany.edu/?q=mfold/RNA-Folding-Form>) โดยเลือกโครงสร้างทุติยภูมิที่มีค่า Gibbs free energy ต่ำที่สุดมาใช้ในการ

วิเคราะห์ และเปรียบเทียบโครงสร้างทุติยภูมิของ เชื้อ CLVd isolate อื่นได้แก่ Chaipayon-1 LP1-15c4 และ 93007481 (14A) (GenBank accession KM214216 JF446920 และ AY372392 ตามลำดับ) รวมถึง progeny variant ต่าง ๆ ของเชื้อ CLVd ทั้ง 3 isolates ด้วย

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของ infectious dsDNA CLVd Solanum-1

ผลการตรวจสอบการสังเคราะห์ infectious dsDNA CLVd isolate Solanum-1 ด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่า infectious CLVd clone ที่สังเคราะห์ได้ประกอบไปด้วย dsDNA CLVd ที่อยู่ในรูปแบบ self-circularized และ multimeric form (Figure 2) ซึ่งทั้ง 2 รูปแบบดังกล่าวมีคุณสมบัติก่อให้เกิดการ ติดเชื้อและเพิ่มปริมาณในพืชอาศัยได้ โดยหลังจาก

การปลูกเชื้อด้วย infectious dsDNA CLVd เป็น ระยะเวลา 6 สัปดาห์ มีเพียงมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers จำนวน 1 จาก 10 ต้นเท่านั้น ที่แสดงอาการผิดปกติ ตามลักษณะอาการของเชื้อ CLVd และสามารถ ยืนยันผลด้วยการตรวจ RT-PCR จึงใช้มะเขือเทศ พันธุ์ Rutgers ที่ติดเชื้อจาก infectious CLVd clone ดังกล่าวเป็น inoculum ในการปลูกเชื้อ บนพืชทดสอบ 3 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศพันธุ์สีดา50 มะอึก และมะเขือเปราะ (Figure 2) โดยหลังจาก ปลูกเชื้อ 1-2 เดือน พืชทดสอบทั้งหมดแสดงอาการ โรคที่เฉพาะของเชื้อ CLVd และสามารถยืนยัน ผลการติดเชื้อไวรอยต์ได้ด้วยเทคนิค RT-PCR (ข้อมูลไม่ได้แสดง) จากผลการทดลองปลูกเชื้อด้วย infectious dsDNA CLVd Solanum-1 เห็นได้ว่า infectious clone ดังกล่าวมีอัตราการติดเชื้อที่ ค่อนข้างต่ำ (1/10 ต้น)

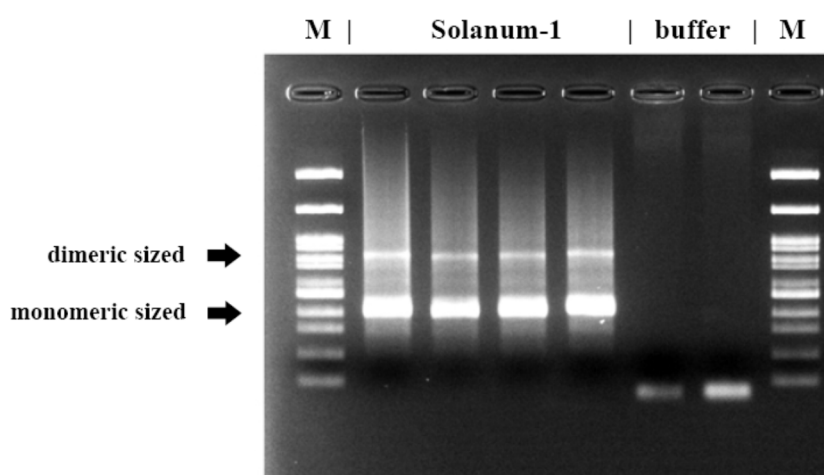


Figure 2 Infectious dsDNA CLVd Solanum-1 products. The mixture of infectious dsDNA CLVd products; self-circularization and multimeric dsDNA CLVd forms. Monomeric sized bands indicate the full-length genome of CLVd. Dimeric-sized bands indicate the double full-length genome size of CLVd. Solanum-1 indicates ligation products from CLVd GenBank accession JF742632, buffer indicates non-DNA target and lanes M: 100 bp DNA ladder

2. ประชากร quasi-specie ของเชื้อ CLVd Solanum-1 ในมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers

ในการศึกษา quasi-species sequence variation ของกลุ่มประชากร CLVd variant ด้วยเทคนิค indexed amplicon sequencing พบจำนวน CLVd sequence read เฉลี่ย 20,237 ต่อ PCR replicate ในมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers (Table 2) โดยลักษณะประชากร ของ CLVd progeny variant ทั้งหมดที่พบมีความแตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Solanum-1 master sequence (GenBank Accession No. JF742632) อย่างชัดเจน กล่าวคือ progeny variant ทั้งหมดที่ตรวจพบมีจำนวนทั้งสิ้น 22 variants ซึ่งมีลำดับเบสต่างจาก CLVd Solanum-1 (Table 2) โดยทั้ง 22 CLVd progeny variants นั้น สามารถจำแนกเป็น major progeny variant ($\geq 1\%$ prevalence) จำนวน 7 variants ได้แก่ variant9_Run2 (60.7%) variant23_Run2 (19.8%) variant207_Run2 (2.8%) variant472_Run2 (1.5%) variant514_Run2 (1.4%) variant698_Run2 (1.1%) และ variant718_Run2 (1.0%) ในขณะที่ตรวจไม่พบ CLVd Solanum-1 sequence เริ่มต้น (Figure 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ angkanchanapas et al. (2020) ที่พบว่า หลังกลไกการติดเชื้อไวรอยต์ในพืชอาศัยจะก่อให้เกิดการสร้างและสะสมกลุ่มของ variant ใหม่ที่มีความแตกต่างจากไวรอยต์เริ่มแรก นอกจากนี้ จากการตรวจสอบประชากร ของ CLVd Solanum-1 variant ในพืชทดสอบทั้งหมด ไม่พบ CLVd Solanum-1 master sequence ที่ได้ทำการปลูกเชื้อตั้งแต่นั้นในขั้นตอนแรก

สำหรับการวิเคราะห์ตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์ (single-nucleotide polymorphisms, SNPs) พบว่า CLVd progeny variant ทั้งหมด

มี SNPs 22 ตำแหน่ง (Table 2) ปรากฏอยู่ 2-5 ตำแหน่งต่อจีโนม โดยมี SNPs หลัก 2 ตำแหน่ง คือ SNP_{C169A} และ SNP_{A172U} อยู่ในบริเวณ TR domain ซึ่งปรากฏอยู่ในทุก CLVd progeny variant (100%) ในขณะที่ในบริเวณ P domain พบ SNPs จำนวน 6 ตำแหน่ง ได้แก่ SNP_{A74G} SNP_{A290G} SNP_{A297G} SNP_{U298A} SNP_{U311A} และ SNP_{A313U} โดยมีความถี่ในการตรวจพบเท่ากับ 1.0 1.0 21.4 22.4 1.5 และ 2.2% ตามลำดับ (Figure 4) นอกจากนี้ยังพบ SNPs ในบริเวณอื่น ๆ ของเชื้อ CLVd ดังนี้ SNP_{U22G} (1.4%) ใน TL domain, SNP_{A97C} (3.6%) ใน C domain และ SNP_{C143U} (2.7%) ใน V domain (Figure 4) การวิเคราะห์และคำนวณอัตราการกลายพันธุ์ของเชื้อ CLVd Solanum-1 โดยไม่รวมลำดับเบสบริเวณไพรเมอร์ทั้ง 2 ด้าน พบว่า อัตราการกลายพันธุ์เฉลี่ยของเชื้ออยู่ในระดับสูง คือ 8.15×10^{-3} (Table 2) ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของเชื้อ PSTVd ซึ่งเป็นไวรอยต์ในสกุลเดียวกัน ที่มีอัตราการกลายพันธุ์เฉลี่ยอยู่ที่ 1.5×10^{-4} (López-Carrasco et al., 2017)

สำหรับการวิเคราะห์โครงสร้างทุติยภูมิของ progeny variant เชื้อ CLVd Solanum-1 พบว่า SNPs หลัก 2 ตำแหน่ง คือ SNP_{C169A} และ SNP_{A172U} ส่งผลโดยตรงต่อโครงสร้างทุติยภูมิ โดยพื้นที่โครงสร้างทุติยภูมิที่ไม่สมบูรณ์ของ CLVd Solanum-1 กลับมาอยู่ในสภาพ rod-like secondary structure ที่สมบูรณ์ได้ (Figure 4) และในการทดลองนี้ไม่พบ CLVd Solanum-1 master sequence ที่ได้ปลูกเชื้อไว้ในขั้นตอนแรกกับพืชทดสอบทุกชนิด แสดงให้เห็นว่า โครงสร้าง rod-like structure ที่สมบูรณ์มีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อกระบวนการติดเชื้อและก่อให้เกิดโรค จึงอาจเป็นสาเหตุให้ CLVd progeny ทุก variant ที่ตรวจพบในมะเขือเทศ

พันธุ์ Rutgers เกิดการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง SNP_{C169A} และ SNP_{A172U} ซึ่งอยู่บริเวณ TR domain สอดคล้องกับรายงานของ Tangkanchanapas et al. (2020) ที่พบว่า variant9_Run2 ซึ่งเป็น progeny variant ที่ตรวจพบได้มากที่สุด (60.7%) มี SNPs ปรากฏเพียง 2 ตำแหน่งเท่านั้น คือ SNP_{C169A} และ SNP_{A172U}

จึงมีความเป็นไปได้ว่า CLVd variant9_Run2 อาจเป็น variant แรกที่เกิดการกลายพันธุ์หลังการปลูกเชื้อในมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers ซึ่งงานวิจัยนี้ได้พิสูจน์การปรากฏและมีอยู่ของ quasi-species evolution ของเชื้อ CLVd Solanum-1

Table 2 Summary of the data obtained for CLVd Solanum-1 in the first tomato cv. Rutgers

Data obtained	CLVd Solanum-1 in tomato CV. Rutgers
Total bases read (4 replicates)	2,606,469,600
Mean depth	20,237
Unique mutations ^{1/}	22
Average mutation per genome	3
Total mutation count ^{2/} (4 replicates)	21,238,300
Mutation frequency ^{3/} (x 10 ³)	8.15

^{1/} Number of different mutations found (presence/absence)

^{2/} Number of mutation reads

^{3/} Total mutation count divided by total bases read

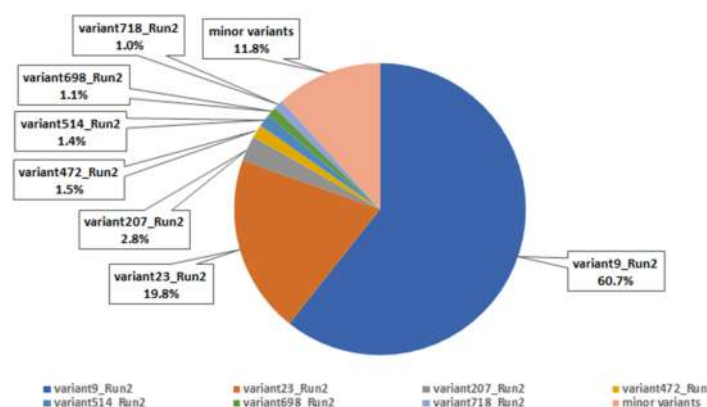


Figure 3 Pie chart displays major variants of the first tomato cv. Rutgers plant infected with CLVd Solanum-1

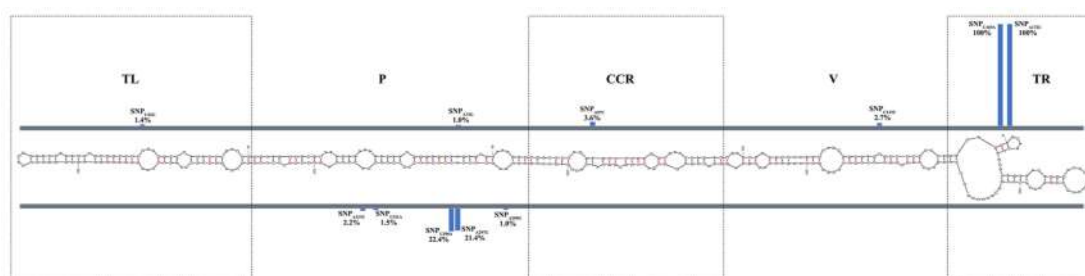


Figure 4 Position of major SNPs on the CLVd Solanum-1 secondary structure. The blue bar shows the % prevalence of major SNPs and the position on CLVd Solanum-1 secondary structure

3. วิวัฒนาการของประชากร quasi-species ของ infectious CLVd Solanum-1

จากการศึกษาวิวัฒนาการของ quasi-species ของ CLVd Solanum-1 พบว่า variant หลักทั้งหมดของ CLVd Solanum-1 สามารถจัดกลุ่มได้ 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มหลักที่ประกอบด้วย variant เกือบทั้งหมดที่พบในมะเขือเทศ และมะเอ็ก (tomato and bolo maka group) และ กลุ่มรองที่ประกอบไปด้วย variant ทั้งหมดที่พบในมะเขือเปราะ (eggplant group) (Figure 5) โดยในกลุ่มหลักประกอบไปด้วย variant ส่วนใหญ่ที่พบในมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers โดยมี variant9_Run2 เป็น variant หลัก (60.7%) ซึ่งแสดงอยู่ตรงกลางของ clade นอกจากนี้แล้วยังมี variant หลักทั้งหมดที่พบในมะเอ็ก รวมอยู่ในกลุ่มหลักนี้ด้วย (Figure 5) โดยกลุ่มหลักดังกล่าวเชื่อมต่อโดยตรงกับ CLVd Solanum-1 sequence เริ่มต้น ในขณะที่กลุ่มที่ 2 (minor clade) มีความสัมพันธ์ที่ค่อนข้างห่างกันกับกลุ่มหลักกลุ่มแรกพอสมควร โดยในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วย variant หลักทั้งหมดที่พบในมะเขือเปราะร่วมกับ variant ลำดับรองที่พบในมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers จำนวน 2 variant (แสดงด้วยวงกลมสีแดง) และ variant ลำดับรองที่พบในมะเอ็กจำนวน 2 variant (แสดงด้วยวงกลมสีชมพู) แสดงให้เห็นว่า กลุ่มหลักดังกล่าว (tomato and bolo maka group) น่าจะเป็น progeny variant กลุ่มแรกที่เกิดการกลายพันธุ์จาก CLVd Solanum-1 infectious sequence เริ่มต้น เพื่อเป็นการปรับตัวให้เหมาะสมกับการเพิ่มปริมาณตัวเองในมะเขือเทศ ก่อน รวมถึงการฟื้นฟูโครงสร้างทุติยภูมิที่ไม่สมบูรณ์ให้กลับมาอยู่ในสภาพ rod-like secondary structure ตามปกติก่อน จากนั้นเป็นไปได้ว่า มีบาง variant ในมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers ถูกนำมาใช้เป็นต้นแบบ

ในการสร้าง variant ใหม่ที่มีความเหมาะสมกับมะเขือเปราะ (หรือพืชอาศัยชนิดอื่น ๆ) ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นถึงความจำเพาะของ progeny variant ที่มีต่อชนิดพืชโดยอาศัยกลไก quasi-species

จากผลการวิเคราะห์ radiation phylogenetic tree พบว่า CLVd Solanum-1 sequence เริ่มต้น (แสดงด้วยเครื่องหมายสี่เหลี่ยมสีน้ำเงิน) มีโครงสร้างทุติยภูมิที่ไม่สมบูรณ์บริเวณปลาย TR domain เชื่อมต่อโดยตรงกับ CLVd variant9_Run2 (ตั้งอยู่ตรงตำแหน่งจุดกึ่งกลางของกลุ่มหลัก) ซึ่งเป็น progeny variant ที่มีปริมาณมากที่สุด และมี SNPs จำนวนน้อยที่สุดเพียง 2 ตำแหน่ง (SNP_{C169A} และ SNP_{A172U}) แต่ตรวจไม่พบ CLVd Solanum-1 master sequence ในพืชทดสอบอื่น ๆ เนื่องมาจากในระยะเริ่มต้นของการติดเชื้อ CLVd Solanum-1 clone ในมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers เกิดการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง SNP_{C169A} และ SNP_{A172U} ก่อน เพื่อฟื้นฟูโครงสร้างทุติยภูมิที่ไม่สมบูรณ์ของ CLVd Solanum-1 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการติดเชื้อและเพิ่มปริมาณตัวเองให้กลับมาอยู่ในลักษณะโครงสร้างปกติของไวรอยด์คือกลายพันธุ์มาเป็น CLVd variant9_Run2 จากนั้นจึงอาศัย CLVdvariant9_Run2 เป็น template ในการเพิ่มปริมาณในพืชอาศัย หลังจากนั้น progeny variant ที่มีความเหมาะสมกับชนิดพืชอาศัยและเนื้อเยื่อพืชจะถูกสร้างขึ้นมา และจากการวิเคราะห์ radiation phylogenetic analysis แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อ CLVd Solanum-1 ในมะเขือเปราะ (รวมถึงมะเอ็ก) จำเป็นต้องอาศัย CLVd progeny variant ที่จำเพาะจากต้นมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers ต้นแรก ก่อนการสร้าง progeny variant ที่เหมาะสมสำหรับมะเขือเปราะ ซึ่งผลสอดคล้องกับรายงานของ (Tangkanchanapas et al., 2020)

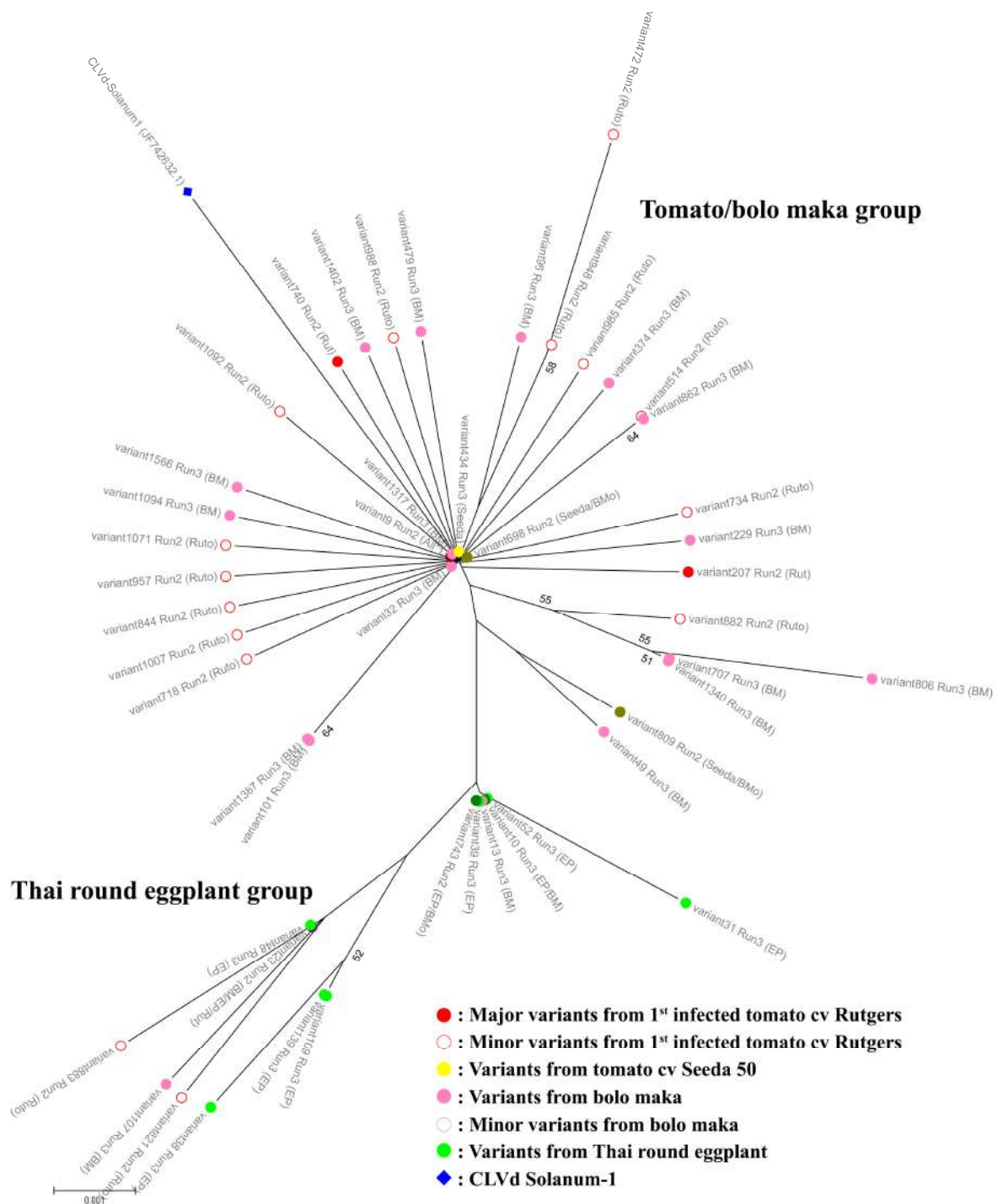


Figure 5 Evolution of CLVd Solanum-1 quasi-species within different host species from the neighbor-joining phylogenetic tree analysis. The major and minor variants from the first tomato cv. Rutgers are indicated with red dots and circles, respectively. Progeny variants from tomato cv. Seeda50, bolo maka and Thai round eggplant are indicated with yellow, purple, green and light blue dots, respectively. The blue diamond shape indicated the CLVd Solanum-1 original sequence. A tree was constructed using MEGA version 7.0.21 with 1,000 bootstrap replicates and 50% cut-off value

4. ลักษณะโครงสร้างของ CLVd Solanum-1 progeny variant

จากการวิเคราะห์ SNPs ที่ปรากฏบน CLVd Solanum-1 progeny หลัก ($\geq 1\%$ prevalence) ทั้ง 41 variant พบ SNPs หลักจำนวน 11 ตำแหน่ง โดยอยู่ที่บริเวณ TR domain จำนวน 2 SNPs ที่ P domain พบ 6 SNPs และ base deletion 2 ตำแหน่ง และ บริเวณ TL domain พบ 1 SNPs โดยแต่ละ SNPs มีความถี่ในการปรากฏที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดพืชทดสอบ นอกจากนี้ SNPs บางตำแหน่งยังส่งผลต่อโครงสร้างทุติยภูมิของเชื้อ CLVd Solanum-1 ด้วย (Figure 6) SNP_{C21A} เป็นการกลายพันธุ์หลักตำแหน่งเดียวที่พบบน TL domain โดย SNPs นี้จะพบเฉพาะในเนื้อเยื่อใบแก่ของมะอึกต้นที่ 1 มีความถี่อยู่ที่ 11.7% ส่งผลทำให้ loop ที่บริเวณ TL domain ขยายขนาดใหญ่ขึ้น (Figure 6) ขณะที่บริเวณ P domain พบการกลายพันธุ์หลักทั้งสิ้น 8 ตำแหน่ง ได้แก่ SNP_{A73G} SNP_{-73A} SNP_{A81G} SNP_{A297U} SNP_{A297G} SNP_{U298A} SNP_{U305C} และ SNP_{-309C} ซึ่งการกลายพันธุ์ทั้งหมดที่เกิดขึ้นใน domain นี้ไม่ส่งผลกับโครงสร้างทุติยภูมิของเชื้อ CLVd Solanum-1 นอกจากนี้ยังไม่พบความเกี่ยวข้องระหว่าง SNPs ทั้ง 8 ตำแหน่งนี้กับชนิดของพืชอาศัยด้วย (Figure 6) ที่บริเวณ TR domain พบการกลายพันธุ์หลัก 2 ตำแหน่ง คือ SNP_{C169A} และ SNP_{A172U} ซึ่ง SNPs ทั้ง 2 ตำแหน่ง เป็นการกลายพันธุ์ที่ตรวจพบในทุก ๆ progeny variant ของ CLVd Solanum-1 (Figure 6) โดย SNP_{C169A} เป็นตำแหน่งการกลายพันธุ์ที่สำคัญในการฟื้นฟูสภาพโครงสร้างทุติยภูมิที่ไม่สมบูรณ์ของเชื้อ CLVd Solanum-1 ให้กลับมาอยู่ในโครงสร้างปกติของไวรอยด์ อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทุติยภูมิของไวรอยด์และชนิดพืช

อาศัย เนื่องจาก progeny variant ทั้งหมดของเชื้อ CLVd Solanum-1 ที่ตรวจพบ ($\geq 0.1\%$ prevalence) จะมีลักษณะโครงสร้างทุติยภูมิที่บริเวณปลายด้านขวา (TR end) คล้ายกัน คือ ประกอบไปด้วย 3 loops ซึ่งคล้ายคลึงกันกับโครงสร้างทุติยภูมิของเชื้อ CLVd หลาย isolate ที่ตรวจพบในมะเขือเทศ ได้แก่ Chaipayon-1 variant 1 2 10 11 12 15 17 18 19 20 และ 22 ที่พบในมะเขือเทศ และมะอึก (GenBank accession no. MN921165 MN921166 MN921172 MN921173 MN921174 MN921175 MN921177 MN921178 MN921179 MN921180 และ MN921181 ตามลำดับ) (Tangkanchanapas et al., 2020) รวมถึง CLVd isolate LP1-15c4 (GenBank accession no. JF446920) ที่ตรวจพบกับมะเขือเทศที่ปลูกในประเทศไทย และ CLVd isolate 93007481 (14A) (GenBank accession no. AY372392) (Figure 7) ที่มีรายงานการตรวจพบในมะเขือเทศที่ปลูกในประเทศเนเธอร์แลนด์ (Verhoeven et al., 2004) จึงมีความเป็นไปได้ว่า ลักษณะโครงสร้างที่บริเวณปลาย TR end ซึ่งประกอบไปด้วย 3 loops อาจเป็นโครงสร้างที่มีความเสถียรและเหมาะสมต่อการจับกับโปรตีน Virp1 ของมะเขือเทศ จึงทำให้ variant เหล่านี้มีความเหมาะสมในการเพิ่มปริมาณและการก่อโรคในมะเขือเทศ

สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ ได้แสดงให้เห็นถึงการวิวัฒนาการและพลวัตของ quasi-species ของเชื้อ CLVd ในแง่มุมด้านปฏิสัมพันธ์ระหว่างชนิดพืชอาศัยและเชื้อ CLVd โดยได้พิสูจน์ให้เห็นถึงการพัฒนาของ host-specific variant spectra ของเชื้อ CLVd Solanum-1 ที่เกิดขึ้นเฉพาะในพืชอาศัย

แต่ละชนิดรวมถึงชนิดของเนื้อเยื่อพืช ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อ CLVd มีวิวัฒนาการแบบไม่สิ้นสุด โดยเชื้อมีแนวโน้มเปลี่ยนแปลง variant ไปตามสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับชนิดพืชอาศัย นอกจากนี้ ผล

จากงานวิจัยนี้ยังเป็นการยืนยันความสำคัญของ
โครงสร้างทุติยภูมิ rod-like structure ต่อกลไกและ
วงจรการก่อโรคของเชื้อ CLVd อีกด้วย



Figure 6 Structural consequences of major single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of dominant variants and mutation frequency (in percentage) per individual plant and plant tissues of CLVd Solanum-1. The table shows the positions and domains where mutations occurred with mutation frequency in percentage and the secondary structures. The color scale represents a mutation frequency ranging from grey (0%) over green and brown to red (100%). 0.0 = <0.1% prevalence, - = not present

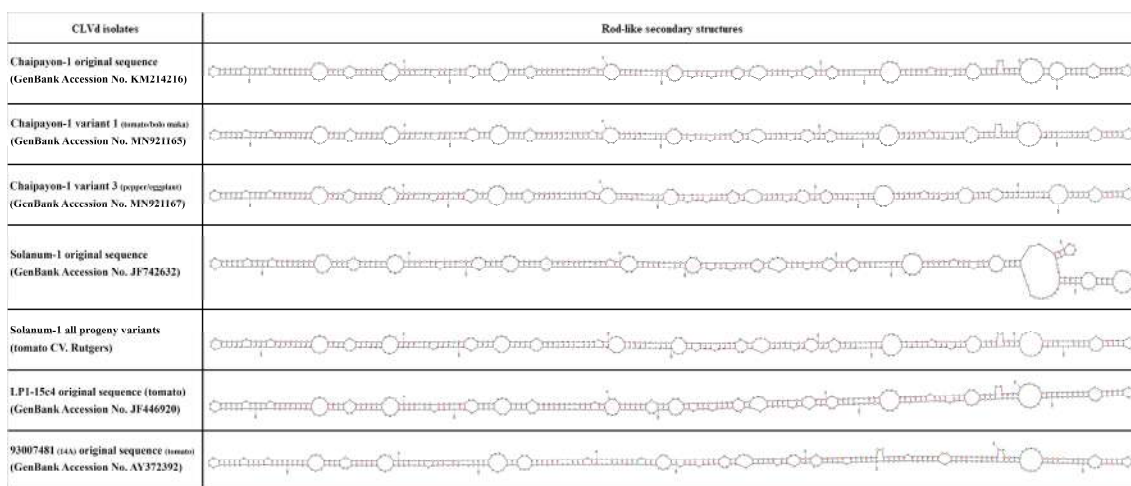


Figure 7 Rod-like secondary structures of four CLVd isolates: (1) Chaipayon-1, Chaipayon-1 variant 1 and Chaipayon-1 variant 3 (GenBank accession KM214216, MN921165 and MN921167, respectively); (2) Solanum-1 (GenBank accession no. JF742632) and all variants; (3) LP1-15c4 (GenBank accession no. JF446920); and 93007481 (14A) (GenBank accession no. AY372392)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงาน ก.พ. ในการสนับสนุน
ทุนวิจัย (PhD) นอกจากนี้ทางคณะผู้วิจัยขอขอบคุณ
Ariane Staelens Kris Van Poucke Thomas
Goedefroit และ Cinzia Vanmalderghem ที่มี
ส่วนช่วยในงานทดลองวิจัยนี้ ขอขอบคุณ ดร. วันเพ็ญ
ศรีทองชัย สำหรับการตรวจแก้ไขภาษา

เอกสารอ้างอิง

- กนกมณี ต้นสุวรรณ และคณินนิตย เจริญวรารกร. 2561.
การถ่ายทอดเชื้อ *Columnnea latent viroid* ผ่าน
ทางเมล็ดของแตงกวา. วารสารวิชาการเกษตร. 36:
130–140.
- ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์. 2548. การตรวจสอบเชื้อ
ไวรอยด์ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศในเขต
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์. จ.นครปฐม. 85 หน้า.
- ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ คณินนิตย เจริญวรารกร เสริมศิริ
จันทร์เปรม และรัชณี ธงประยูร. 2548. ไพโรเมอร์
สำหรับตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคใน
มะเขือเทศ 6 ชนิด ในกลุ่ม *Pospiviroid* ด้วย
เทคนิค RT-PCR. วารสารโรคพืช. 1(2): 13-21.
- ปรีเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ คณินนิตย เจริญวรารกร และ
วิภา เกิดพิพัฒน์. 2556. เชื้อ *Columnnea latent
viroid* (CLVd) สายพันธุ์ใหม่ที่เกิดอาการ
รุนแรงในมะเขือ (*Solanum stramonifolium* Jacq.).
วารสารวิชาการเกษตร. 31: 53–68.
- ศศิประภา มาราช. 2551. โคลนก่อโรคของเชื้อ *Columnnea
latent viroid* และผลกระทบต่อมะเขือเทศพันธุ์
การค้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต. มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์. จ.นครปฐม. 86 หน้า.
- Brass, J.R.J., R.A. Owens, J. Matoušek and G.
Steger. 2017. Viroid quasispecies revealed by
deep sequencing. RNA Biology. 14: 317–325.

- Constable, F., G. Chambers, L. Penrose, A. Daly, J.
Mackie, K. Davis, B. Rodoni and M. Gibbs.
2019. Viroid-infected tomato and Capsicum
seed shipments to Australia. Viruses. 11(2): 98.
- Ding, B. and A. Itaya. 2007. Viroid: A useful model
for studying the basic principles of infection
and RNA biology. Molecular Plant-microbe
Interactions. 20(1): 7–20.
- Dingley, A.J., G. Steger, B. Esters, D. Riesner and
S. Grzesiek. 2003. Structural characterization
of the 69 nucleotide potato spindle tuber
viroid left-terminal domain by NMR and
thermodynamic analysis. Journal of Molecular
Biology. 334: 751–767.
- Domingo, E., J. Sheldon and C. Perales. 2012. Viral
quasispecies evolution. Microbiology and
Molecular Biology Reviews. 76(2): 159–216.
- Flores, R., D. Grubb, A. Elleuch, M.Á. Nohales, S.
Delgado and S. Gago. 2011. Rolling-circle
replication of viroids, viroid-like satellite
RNAs and hepatitis delta virus: Variations
on a theme. RNA Biology. 8: 200–206.
- Flores, R., P. Serra, S. Minoia, F. Di Serio and B.
Navarro. 2012. Viroids: From genotype
to phenotype just relying on RNA
sequence and structural motifs. Frontiers in
Microbiology. 3: 217.
- Gago-Zachert, S.. 2016. Viroids, infectious long
non-coding RNAs with autonomous replication.
Virus Research. 212: 12–24.
- Hammond, R., D.R. Smith and T.O. Diener. 1989.
Nucleotide sequence and proposed
secondary structure of *Columnnea latent
viroid*: A natural mosaic of viroid sequences.
Nucleic Acids Research. 17: 10083–10094.

- Kalantidis, K., M.A. Denti, S. Tzortzakaki, E. Marinou, M. Tabler and M. Tsagris. 2007. Virp1 is a host protein with a major role in Potato Spindle Tuber Viroid infection in Nicotiana plants. *Journal of Virology*. 81(23): 12872–12880.
- Keese, P. and R.H. Symons. 1985. Domains in viroids: Evidence of intermolecular RNA rearrangements and their contribution to viroid evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 82(14): 4582–4586.
- Kumar, S., G. Stecher and K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33(7): 1870–1874.
- Lauring, A.S. and R. Andino. 2010. Quasispecies theory and the behavior of RNA viruses. *PLoS Pathogens*. 6(7): e1001005.
- López-Carrasco, A., C. Ballesteros, V. Sentandreu, S. Delgado, S. Gago-Zachert, R. Flores and R. Sanjuán. 2017. Different rates of spontaneous mutation of chloroplastic and nuclear viroids as determined by high-fidelity ultra-deep sequencing. *PLoS Pathogens*. 13(9): e1006547.
- Matsushita, Y. and S. Tsuda. 2016. Seed transmission of potato spindle tuber viroid, tomato chlorotic dwarf viroid, tomato apical stunt viroid, and Columnea latent viroid in horticultural plants. *European Journal of Plant Pathology*. 145: 1007–1011.
- Navarro, B., A. Gisel, M.E. Rodio, S. Delgado, R. Flores and F. Di Serio. 2012. Viroids: How to infect a host and cause disease without encoding proteins. *Biochimie*. 94(7): 1474–1480.
- Owens, R.A., D.R. Smith and T.O. Diener. 1978. Measurement of viroid sequence homology by hybridization with complementary DNA prepared in vitro. *Virology*. 89(2): 388–394.
- Palukaitis, P., 2014. What has been happening with viroids?. *Virus Genes*. 49: 175–184.
- Steger, G., 2017. Modelling the three-dimensional structure of the right-terminal domain of pospiviroids. *Scientific Reports*. 7(1): 711.
- Tangkanchanapas, P., A. Haegeman, M. Höfte and K. De Jonghe. 2021. Reassessment of the Columnea latent viroid (CLVd) taxonomic classification. *Microorganisms*. 9: 1117.
- Tangkanchanapas, P., A. Haegeman, T. Ruttink, M. Höfte and K. De Jonghe. 2020. Whole-Genome deep sequencing reveals host-driven in-plant evolution of columnea latent viroid (CLVd) quasi-species populations. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(9): 3262.
- Verhoeven, J.T.J., C.C.C. Jansen, T.M. Willems, L.F.F. Kox, R.A. Owens and J.W. Roenhorst. 2004. Natural infections of tomato by Citrus exocortis viroid, Columnea latent viroid, Potato spindle tuber viroid and Tomato chlorotic dwarf viroid. *European Journal of Plant Pathology*. 110: 823–831.
- Zhong, X., A.J. Archual, A.A. Amin and B. Ding. 2008. A genomic map of viroid RNA motifs critical for replication and systemic trafficking. *The Plant Cell*. 20(1): 35–47.

การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SNP เพื่อตรวจประชากรเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv.

oryzae สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวในประเทศไทยด้วยเทคนิค MassARRAY

Development of SNP Molecular Markers for Detection of *Xanthomonas*

oryzae pv. *oryzae* Population Causing Bacterial Blight Disease of Rice

in Thailand Using MassARRAY Technique

ลูกศร ทุมอะริยะ^{1/} ธิติมา จินตกานนท์^{1/} วินิตชาญ รื่นใจชน^{2/} สุจินต์ ภัทรภูวadol^{3/*}

Luksorn Tumariya^{1/} Thitima Chintaganon^{1/} Vinitchan Ruanjaichon^{2/}

Sujin Patarapuwadol^{3/*}

Received 27 Mar. 2024/Revised 20 May 2024/Accepted 20 May 2024

ABSTRACT

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (Xoo), the causal organism of bacterial blight, exhibits genetic diversity and adapts continuously to overcome rice varieties with inherent resistance to this disease. To effectively manage bacterial blight, rapid and high-throughput diagnostic tools are essential for monitoring changes in Xoo populations across different regions. In this study, we aimed to develop molecular SNP markers using data from housekeeping gene clusters in Xoo. We analyzed 50 Xoo strains collected during 2008 - 2018 from rice cultivation areas in 14 provinces of Thailand. We designed Xoo-SNPs (single nucleotide polymorphisms) to enable high-throughput multiplex detection based on MassARRAY technology. Our research successfully developed 9 SNP positions derived from eight housekeeping genes (*DnaK*, *gluS*, *leuA*, *pyk*, *pyrH*, *RecA*, *rpoB*, and *tpiA*). These markers effectively tracked Xoo populations, representing 33 races prevalent in Thailand, within a remarkable turnaround time of 2 days, excluding the sample preparation step. Furthermore, our approach allowed the simultaneous examination of up to 45 samples per day. Notably, the developed Xoo-SNPs MassARRAY-based markers not only differentiated Xoo strains

^{1/} ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

^{1/} Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{2/} ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ จ.ปทุมธานี 12120

^{2/} National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Pathum Thani 12120, Thailand

^{3/} ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

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

* Corresponding author: agrsujp@ku.ac.th

based on their pathogenicity toward rice varieties carrying the *xa5* resistance gene but also identified markers specific to the geographical origin of the strains in provinces such as Nakhon Si Thammarat, Buriram, Roi Et, Sukhothai, and Chiang Rai. However, no significant correlation was observed between the SNP markers designed from housekeeping genes and the race-specific or disease severity characteristics.

Keywords: bacterial blight disease; housekeeping genes; MassARRAY; SNP marker; *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

บทคัดย่อ

โรคขอบใบแห้งในข้าวเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม และสามารถปรับตัวให้เข้าทำลายข้าวที่มีถิ่นกำเนิดต่อโรคนี้ได้อย่างต่อเนื่อง การพัฒนาเครื่องมือตรวจวินิจฉัยเชื้อ Xoo แบบ high-throughput multiplex detection ทำให้ทราบข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของประชากรเชื้อในแต่ละพื้นที่ และช่วยให้สามารถวางแผนพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SNP จากข้อมูลกลุ่มยีน housekeeping genes จากเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ ที่สำรวจในช่วงปี พ.ศ. 2551 ถึงปี พ.ศ. 2561 จากพื้นที่ปลูกข้าว 14 จังหวัดของประเทศไทย เพื่อตรวจติดตามประชากรเชื้อ Xoo ด้วยเทคโนโลยีของ MassARRAY งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล Xoo-SNPs MassARRAY based จำนวน 9 ตำแหน่ง

ที่ออกแบบจาก housekeeping genes จำนวน 8 ยีน ได้แก่ *DnaK gluS leuA pyk pyrH RecA rpoB* และ *tpiA* ที่สามารถตรวจประชากรเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นตัวแทนของ 33 races ที่พบระบาดในประเทศไทยได้สำเร็จ ภายใน 2 วัน โดยไม่นับรวมขั้นตอนการเตรียมดีเอ็นเอของเชื้อ อีกทั้งยังสามารถตรวจสอบได้มากถึง 45 ตัวอย่าง/วัน นอกจากนี้ยังพบว่า เครื่องหมายโมเลกุล Xoo-SNPs MassARRAY based ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาใช้ตรวจแยกกลุ่มเชื้อที่ทำลายหรือไม่ทำลายข้าวที่มีถิ่นกำเนิด *xa5* และเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะกับแหล่งที่มาของเชื้อใน จ.นครศรีธรรมราช บุรีรัมย์ ร้อยเอ็ด สุโขทัย และเชียงราย อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุล Xoo-SNPs MassARRAY based ที่ออกแบบจาก housekeeping genes กับชนิดของ race หรือลักษณะความรุนแรงของโรค

คำสำคัญ: โรคขอบใบแห้ง; housekeeping genes; MassARRAY; SNP marker; *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

บทนำ

โรคขอบใบแห้ง (bacterial blight) ในข้าวเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) มีความหลากหลายทางพันธุกรรมและความผันแปรภายในยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค หรือการปรับตัวให้เข้ากับระบบนิเวศการปลูกข้าวในแต่ละพื้นที่ ทำให้เชื้อพัฒนาเข้าทำลายข้าวที่มีถิ่นกำเนิดโรคขอบใบแห้งได้อย่างต่อเนื่อง ในประเทศไทยมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรของเชื้อ Xoo ในรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรค (physiological race) ด้วยปฏิกิริยาการตอบสนองต่อการเกิดโรคใน

ข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (near isogenic lines) (แสงชัย, 2552; ปริศนา และคณะ, 2558ก; ไพเราะ และคณะ, 2562; จารูวี และคณะ, 2564) และเครื่องหมายโมเลกุลระดับดีเอ็นเอหลายชนิด ได้แก่ amplified fragment length polymorphism (AFLP), repetitive sequence-based polymerase chain reaction (rep-PCR), RFLP-Tal และ PCR จาก *avr* gene (สุธิตา และคณะ, 2553; ปริศนา และคณะ, 2558ข) ด้วยความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยี next generation sequencing (NGS) ช่วยให้การศึกษข้อมูลทางด้านจีโนมมีความรวดเร็วและราคาถูกลง จึงมีการศึกษาจีโนมเชื้อ *Xoo* สายพันธุ์ SK2-3 จาก จ. สุโขทัย ด้วยเทคนิค single-molecular real-time; SMRT (Pac Bioscience; PacBio) (Carpenter et al., 2020) และจีโนมเชื้อ *Xoo* จำนวน 50 สายพันธุ์ด้วยเทคนิค Illumina HiSeq platform (อิติมา และคณะ, 2565) จากการศึกษาดังที่กล่าวมาข้างต้นพบว่า เชื้อ *Xoo* ในประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงและประชากรมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว วิธีการศึกษาในระดับ physiological race จำเป็นต้องใช้แรงงานและระยะเวลานาน ส่วนเครื่องหมายโมเลกุลในบางเทคนิคยังต้องอาศัยความชำนาญ ใช้ระยะเวลาทดสอบค่อนข้างนาน มีค่าใช้จ่ายสูง และตรวจสอบตัวอย่างได้จำนวนจำกัดในคราวเดียวกัน จึงส่งผลให้ยากต่อการติดตามความหลากหลาย หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรของเชื้อในแต่ละพื้นที่ได้ทันทั่วถึง และยากต่อการออกแบบโปรแกรมปรับปรุงพันธุ์ให้ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรเชื้อ

Housekeeping genes คือ ยีนของเซลล์ที่มีการแสดงออกตลอดเวลา และเกี่ยวข้องกับการกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ในเชื้อแบคทีเรีย

มีความสำคัญต่อการดำรงชีพ ค่อนข้างมีความอนุรักษ์สูง (Marcelletti et al., 2010) ดังนั้นการกลายพันธุ์ที่พบใน housekeeping genes จึงส่งผลต่อความหลากหลายและวิวัฒนาการของสายพันธุ์เชื้อได้ (Maiden et al., 1998) เช่น ยีน *RecA* มีหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการซ่อมแซม การปรับตัวต่อสภาวะเครียด และค่อนข้างมีความอนุรักษ์ เมื่อเกิดการกลายพันธุ์จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงในการเข้าทำลายยีนต้านทานโรคหรือการก่อโรคได้ (Rabibhadana et al., 1993) รวมไปถึงการพบตำแหน่งการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสในยีน *GyrB* ที่มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างประชากรเชื้อ *Xoo* (Hajri et al., 2012) ซึ่ง housekeeping genes เหล่านี้มีศักยภาพในการใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อจัดจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมและวิวัฒนาการของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ได้ (Marcelletti et al., 2010) เช่น รายงานของ Sakthivel et al. (2021) ที่ใช้ housekeeping genes ได้แก่ *DnaK FyuA FusA GapA gltA gyrB gyrB lepA* และ *rpoD* มาประเมินความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ *Xoo* บริเวณหมู่เกาะอันดามันของประเทศอินเดีย และในประเทศไทยพบรายงานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ housekeeping genes ภายในจีโนมเชื้อ *Xoo* จำนวน 50 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นแหล่งข้อมูลสำคัญที่สามารถนำมาใช้ในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลได้ (อิติมา และคณะ, 2565)

Single nucleotide polymorphism (SNP) คือ ความแปรผันหรือความหลากหลายทางพันธุกรรมรูปแบบหนึ่ง โดยมีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสบนสายโพลีนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียว ที่ทำให้เกิดความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต ซึ่งในจีโนมของสิ่งมีชีวิตพบมีตำแหน่ง SNP เป็นจำนวนมาก โดยในเชื้อ *Xoo* มีรายงานการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SNP

โดยออกแบบจากกลุ่ม race และ lineage เพื่อใช้ติดตามกลุ่มประชากรเชื้อ Xoo ในฟิลิปปินส์ (Aung, 2017) และรายงานของ ธิติมา และคณะ (2565) นำข้อมูล SNP ทั้งจีโนมจำนวน 21,181 ตำแหน่ง มาจัดกลุ่มประชากรเชื้อ Xoo ในประเทศไทยด้วยวิธี neighbor joining clustering และ principal component analysis (PCA) พบว่า มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง และมีความสัมพันธ์กับพื้นที่ที่แยกเชื้อได้ อย่างไรก็ตามในการศึกษาที่มีตัวอย่างและมี SNP ที่ต้องการศึกษาจำนวนมาก นิยมทำในรูปแบบ PCR-based ส่งผลให้การวิเคราะห์แบบมัลติเพล็กซ์ใช้ระยะเวลามากขึ้น จึงเป็นข้อจำกัดในการนำมาประยุกต์ใช้

การพัฒนาเทคโนโลยี MassARRAY ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ตรวจวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของ DNA (mass) ของเบสบนสายลำดับนิวคลีโอไทด์ที่นำมาวิเคราะห์ SNP ได้พร้อมกันถึง 40 ตำแหน่งอย่างรวดเร็วในปฏิกิริยาเดียวกัน (multiplex assays) (Patiya, 2020) ซึ่งเทคโนโลยีนี้ได้นำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการระบุเชื้อแบคทีเรียของงานวิจัยทางด้านคลินิก (Nyasinga et al., 2019) การพัฒนาเครื่องมือตรวจวินิจฉัยที่มีความรวดเร็วและรองรับตัวอย่างจำนวนมากแบบ high-throughput สำหรับใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ Xoo จะมีผลต่อการวางแผนพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งได้อย่างมีประสิทธิภาพและทันต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรเชื้อในแต่ละพื้นที่ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SNP จากข้อมูลกลุ่มยีน housekeeping genes จากเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ ที่สำรวจในช่วงปี พ.ศ. 2551-2561 จากพื้นที่ปลูกข้าว 14 จังหวัดของประเทศไทย เพื่อตรวจติดตามประชากรเชื้อ Xoo ด้วยเทคโนโลยีของ

MassARRAY ให้รองรับตัวอย่างจำนวนมากแบบ high-throughput multiplex detection

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อแบคทีเรีย Xoo และข้อมูลจีโนม

คัดเลือกตัวแทนเชื้อแบคทีเรีย Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ และข้อมูลจีโนมจากการศึกษาของ ธิติมา และคณะ (2565) ซึ่งเป็นตัวแทนของ 33 races ได้แก่ race1 2 4 5 6 7 8 10 12 13 14 15 17 18 19 20 21 22 23, 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 49 50 และ 51 ตามลำดับที่สำรวจระหว่างปี พ.ศ. 2551-2561 จากพื้นที่ปลูกข้าว 14 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ สุโขทัย ร้อยเอ็ด มหาสารคาม บุรีรัมย์ อุทัยธานี นครนายก สุพรรณบุรี ชัยนาท ราชบุรี นนทบุรี ปราจีนบุรี และ นครศรีธรรมราช แบ่งเชื้อเป็น 5 กลุ่มจากรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคในข้าวสายพันธุ์คู่แข่ง (NILs) ที่มียืนต้านทานเดี่ยว (*Xa* gene) จำนวน 11 ยีน ได้แก่ *Xa1* *Xa3* *Xa4* *xa5* *Xa7* *xa8* *Xa10* *Xa11* *xa13* *Xa14* และ *Xa21* (ปริศนา และคณะ, 2558ก; ไพเราะ และคณะ, 2562; จารูวี และคณะ, 2564) มาศึกษาหาตำแหน่ง housekeeping genes เพื่อออกแบบและทดสอบพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SNP

2. การวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในกลุ่มยีน housekeeping genes

คัดเลือกข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มยีน housekeeping genes จำนวน 18 ยีน ได้แก่ *clpA* *DnaK* *Efp* *FusA* *Gap* *GlnA* *gluS* *glyA* *GyrB* *leuA* *proC* *pyk* *pyrH* *RecA* *rho* *rpoB* *rpoD* และ *tpiA* จากฐานข้อมูล National Centre for Biotechnology Information (NCBI) Xanthomonas.org และ UniProt จากจีโนมเชื้อ Xoo สายพันธุ์ PXO99A KACC10331 และ SK2-3 จากฟิลิปปินส์

เกาหลี และไทย ตามลำดับ (Salzberg et al., 2008; Lee et al., 2005; Carpenter et al., 2020)

วิเคราะห์เปรียบเทียบด้วยโปรแกรม Blastn เพื่อค้นหาตำแหน่งยีนภายในจีโนมของเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ และสายพันธุ์อ้างอิง SK2-3 จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละยีนออกจากจีโนมด้วยโปรแกรม samtools faidx (<https://www.biostars.org/p/177363>) และทำ reverse complement ด้วยโปรแกรม Seqtk (<https://github.com/lh3/seqtk>) ตามวิธีการของ ธิติมา และคณะ (2565) เปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในกลุ่ม housekeeping genes และสายพันธุ์อ้างอิง SK2-3 โดยใช้ ClustalW และ MegaX 10.2.6 (Kumar et al., 2018) เพื่อหาความแตกต่างในลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนในแต่ละยีน นำมาออกแบบเครื่องหมายโมเลกุล SNP

3. การคัดเลือกตำแหน่ง SNP

คัดเลือกยีนที่พบความแตกต่างภายในลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโน นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่คัดเลือกมาสร้างแผนผังความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) เพื่อจัดกลุ่มเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ และสายพันธุ์อ้างอิง SK2-3 ของแต่ละยีน ด้วยวิธี maximum likelihood ตามโมเดลของ Tamura-nei model (Tamura et al., 2011) สร้าง phylogenetic tree ด้วย MegaX 10.2.6 (Kumar et al., 2018) ปรับแต่งด้วย Figtree (Schneider et al., 2000) คัดเลือกยีนที่สามารถแบ่งกลุ่มประชากรเชื้อ Xoo ได้ตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป และนำข้อมูลตำแหน่ง SNP แต่ละตำแหน่งของแต่ละยีนที่คัดเลือกไว้มาสร้าง phylogenetic tree ต่อไป โดยตำแหน่ง SNP ของยีนที่สามารถแบ่งได้ตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป นำมาออกแบบเครื่องหมายโมเลกุล SNP

4. การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SNP เพื่อตรวจเชื้อด้วยเทคนิค MassARRAY

นำเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ มาเลี้ยงบนอาหาร nutrient agar (NA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 °ซ. เป็นเวลา 48 ชม. สกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป Presto mini gDNA bacteria kit (Geneaid, Taiwan) ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยเครื่อง nanodrop 8000 spectrophotometer (Thermo scientific, USA) จากนั้นปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ 10 ng/μl ตรวจสอบความสมบูรณ์ของเส้นดีเอ็นเอด้วย 0.8% agarose gel ใช้กระแสไฟที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที

นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่ง SNP จากกลุ่ม housekeeping genes ที่คัดเลือกมาออกแบบไพรเมอร์ ประกอบไปด้วย PCR amplification primer และ extension primer ที่ออกแบบด้วยโปรแกรม MassARRAY Agena Bioscience Assay Design Suite version 2.0 (Agena Bioscience, USA) ตั้งค่าการออกแบบและวิเคราะห์ตามคำแนะนำของบริษัท โดยออกแบบ extension primer ให้จำเพาะต่อบริเวณที่ใกล้เคียงตำแหน่ง SNP ซึ่งจะอยู่ถัดจากเบสสุดท้ายของเส้นไพรเมอร์บริเวณปลาย 3' และอาจเติมเบสที่บริเวณปลาย 5' ของเส้นไพรเมอร์เพื่อปรับน้ำหนักโมเลกุล และส่งส่งเคราะห์กับบริษัทแปซิฟิก ไบโอเทค จำกัด

ทดสอบเครื่องหมายโมเลกุล SNP ที่ออกแบบกับดีเอ็นเอของเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ ตามวิธีการของ Gabriel et al. (2009) โดยใช้ชุดน้ำยา PCR accessory set (Agena Bioscience) นำตัวอย่างดีเอ็นเอ ที่ความเข้มข้น 10 ng/μl เพิ่มปริมาณด้วยเครื่อง thermal cycler (Eppendorf, USA) ที่อุณหภูมิ 60 °ซ. จำนวน 50 รอบ จากนั้น

กำจัด dNTPs ที่เหลือในผลผลิต PCR ด้วยการทำ shrimp alkaline phosphatase (SAP treatment) นำผลผลิต PCR มาทำปฏิกิริยา single-base extension โดยการเติมน้ำยา iPLEX reagent set (Agena Bioscience) ซึ่งประกอบไปด้วย ddNTPs ที่ใช้ในการหยุดปฏิกิริยาหลังจากขยายนิวคลีโอไทด์ไปเพียง 1 เบส (single-base extension termination) ดำเนินการด้วยเครื่อง thermal cycler (Eppendorf, USA) ที่อุณหภูมิ 52 °C. จำนวน 45 รอบ นำ extension product มาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 29 µl และนำตัวอย่างมาวิเคราะห์มวลด้วยเครื่อง MassARRAY โดยการเติม clean resin และอ่านผลบน SpectroCHIP Array เพื่อวัดขนาดมวลของไพรเมอร์ที่บรรจุตำแหน่ง SNP บันทึกผลกราฟ (peak) แต่ละตำแหน่ง SNP จากการวิเคราะห์ด้วย TyperAnalyzer ตรวจสอบความถูกต้องการอ่านมวลของลำดับนิวคลีโอไทด์จากเทคนิค MassARRAY กับผลลำดับนิวคลีโอไทด์จากการนำมาออกแบบ

5. Xoo-SNPs MassARRAY based เพื่อการตรวจประชากร

นำเครื่องหมายโมเลกุล SNP ที่ออกแบบจากกลุ่มยีน housekeeping genes ด้วยเทคนิค MassARRAY มาประยุกต์ใช้ในการตรวจตัวแทนประชากรเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นตัวแทนของ 33 races โดยใช้ชุดน้ำยา PCR accessory set และวิเคราะห์ข้อมูลเทียบกับผลการจัดกลุ่มจากตำแหน่ง SNP ดังกล่าวของเชื้อ 50 สายพันธุ์ที่ได้จาก Illumina sequence platform

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในกลุ่มยีน housekeeping genes ของจีโนม

การวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในกลุ่ม housekeeping genes จำนวน 18 ยีน จากข้อมูลจีโนมเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นตัวแทนของ 33 races และแบ่งเป็น 5 กลุ่มจากรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคในข้าวสายพันธุ์คู่แข่ง (NILs) จำนวน 11 ยีน โดยที่ยีน *xa5* ยังเป็นยีนที่มีความต้านทานแบบกว้างต่อประชากรเชื้อเป็นส่วนใหญ่ ยกเว้นเชื้อในกลุ่มที่ 5 ที่สามารถเข้าทำลายยีน *xa5* โดยส่วนใหญ่เป็นเชื้อจาก จ. เชียงราย และสุโขทัย (Figure 1) เทียบกับข้อมูลยีนดังกล่าวในจีโนมของเชื้อ Xoo สายพันธุ์อ้างอิง SK2-3 พบตำแหน่ง SNP หรือความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์ จำนวน 11 ยีน ได้แก่ *clpA*, *DnaK*, *gluS*, *glyA*, *GyrB*, *leuA*, *pyk*, *pyrH*, *RecA*, *rpoB* และ *tpiA* ในขณะที่ไม่พบตำแหน่ง SNP จำนวน 7 ยีน ได้แก่ *Efp*, *FusA*, *Gap*, *GlnA*, *proC*, *rho* และ *rpoD* ส่วนการเปลี่ยนแปลงในลำดับกรดอะมิโนพบเพียง 6 ยีน ได้แก่ *DnaK*, *gluS*, *GyrB*, *pyk*, *rpoB* และ *pyk* พบตำแหน่ง SNP สูงที่สุดจำนวน 14 11 9 และ 6 ตำแหน่งตามลำดับ (Table 1)

จากรายงานของ Maiden et al. (1998) พบว่า การกลายพันธุ์ใน housekeeping genes นั้นส่งผลถึงความหลากหลายและวิวัฒนาการของสายพันธุ์เชื้อ และนำมาใช้ในการตรวจสอบโคลนต่าง ๆ ของสายพันธุ์แบคทีเรียในประชากรเชื้อก่อโรคได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่า ยีน *GyrB* ของเชื้อ Xoo ในประเทศไทย มีตำแหน่ง SNP มากที่ 9 ตำแหน่ง และให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Hajri et al. (2012) ที่พบความแตกต่างมากภายในยีน *GyrB* และนำมาจัดกลุ่มสายพันธุ์เชื้อ Xoo จากเอเชียและแอฟริกาออกจากกันได้ ซึ่งยีน *GyrB* มีความเกี่ยวข้องกับขั้นตอนการจำลองดีเอ็นเอ การกลายพันธุ์และความต่างภายใน

ยีนนี้ เกี่ยวข้องกับการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ (Jung et al., 2010) นอกจากนี้ยังพบตำแหน่ง SNP ในยีน *RecA* ซึ่งยีนนี้มีหน้าที่เกี่ยวกับการซ่อมแซมดีเอ็นเอ การรวมตัวของดีเอ็นเอ หากมีการแสดงออกในระดับสูงร่วมกับลำดับเบสซ้ำ ๆ ภายในจีโนมและยีน *avr* จะเพิ่มการรวมตัวกันภายในเซลล์ใหม่ ส่งผลให้การทำงานของยีนเปลี่ยนไป โดยพบรายงานกลายพันธุ์ภายในยีน *RecA* จะส่งผลต่อการก่อโรคของเชื้อ *Xanthomonas* (Rabibhadana

et al.,1993; Sukchawalit and Mongkolsuk, 2001) ในขณะที่ *rpoD* ไม่พบตำแหน่ง SNP เนื่องจากยีนดังกล่าวมีความอนุรักษ์สูง มีหน้าที่สำคัญที่ควบคุมการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย การตอบสนองต่อความเครียด และความรุนแรงการก่อโรค การกลายพันธุ์ของยีนนี้จะส่งผลการถอดรหัสที่ผิดปกติ ส่งผลต่อความรุนแรงและความสามารถในการเข้าทำลายพืชผลลง (Xu et al., 2023)

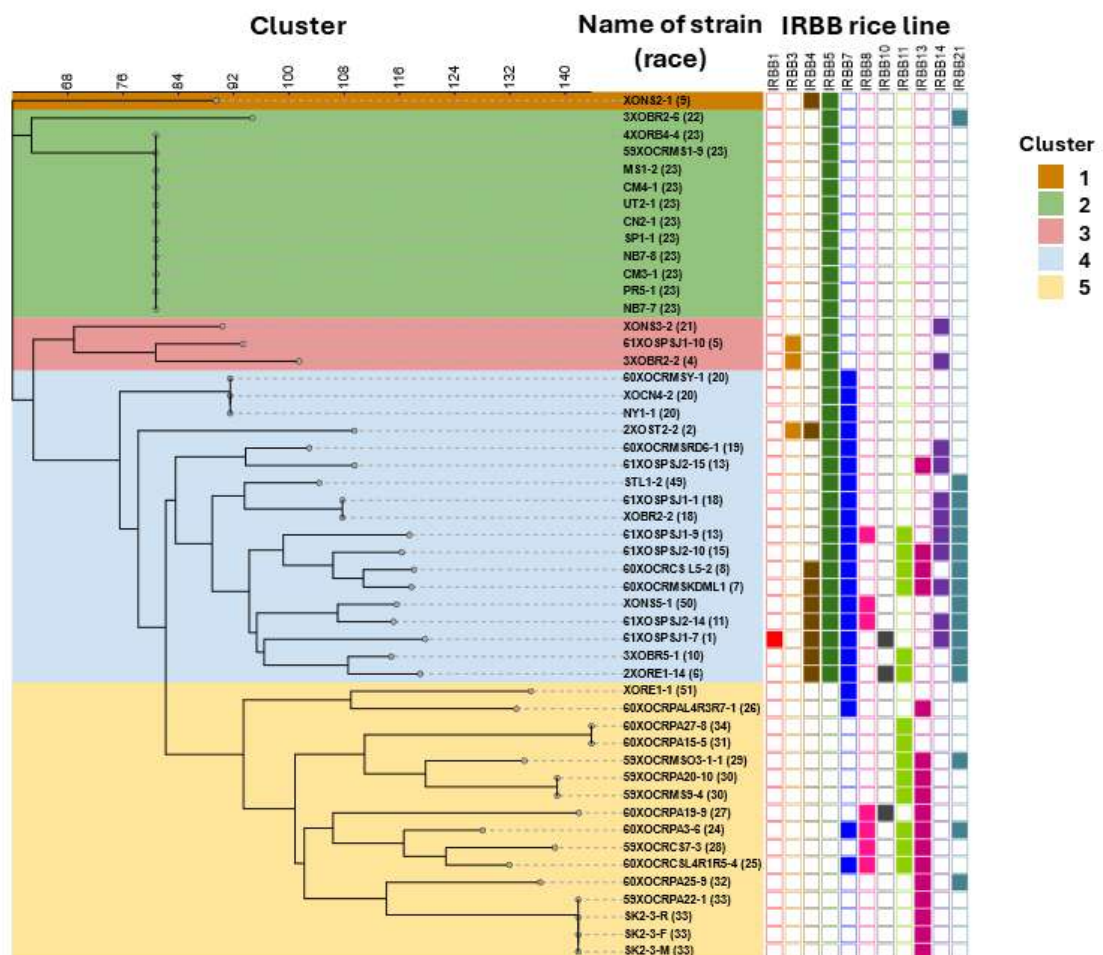


Figure 1 Dendrogram of 50 Xoo strains based on reaction to 11 NIL lines using neighbor-joining tree method (highlight boxes = resistance reaction, no highlight = susceptible reaction)

Table 1 Number of nucleotide and amino acid variations of housekeeping genes and cluster analysis based on nucleic acid sequence of individual gene

Gene	Size(bp)	Product	No. of nucleotide variation	No. of amino acid variation	No. of clusters by maximum likelihood
<i>clpA</i>	2211	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpA	1	0	2
<i>DnaK</i>	1926	chaperone protein DnaK	3	2	3
<i>Efp</i>	552	translation elongation factor P	0	0	1
<i>FusA</i>	2073	translation elongation factor G	0	0	1
<i>Gap</i>	1002	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, type I	0	0	1
<i>GlnA</i>	1404	glutamine synthetase, type I	0	0	1
<i>gluS</i>	1404	glutamyl-tRNA synthetase	14	5	3
<i>glyA</i>	1254	serine hydroxymethyltransferase	1	0	2
<i>GyrB</i>	2445	DNA gyrase subunit B	9	1	4
<i>leuA</i>	1476	2-isopropylmalate synthase	1	0	2
<i>proC</i>	861	pyrroline-5-carboxylate reductase	0	0	1
<i>pyk</i>	1401	pyruvate kinase	6	5	6
<i>pyrH</i>	723	uridylate kinase	1	0	2
<i>RecA</i>	1035	protein RecA	1	0	2
<i>rho</i>	1890	transcription termination factor Rho	0	0	1
<i>rpoB</i>	4152	DNA-directed RNA polymerase, beta subunit	2	1	3
<i>rpoD</i>	1890	RNA polymerase sigma-70 factor	0	0	1
<i>tpiA</i>	756	triosephosphate isomerase	11	7	3

2. การคัดเลือกตำแหน่ง SNP จากกลุ่มยีน housekeeping genes

จากการนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ กลุ่มยีน housekeeping genes บนจีโนมของเชื้อ Xoo 50 สายพันธุ์เทียบกับ SK2-3 ที่คัดเลือกได้ 11 ยีน มาสร้าง phylogenetic tree พบว่า มี 10 ยีน ได้แก่ *DnaK gluS glyA GyrB leuA pyk pyrH RecA rpoB* และ *tpiA* สามารถแบ่งกลุ่มประชากร เชื้อได้ตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป โดยมีความสัมพันธ์กับ ทางภูมิศาสตร์แหล่งที่มาของเชื้อและความต้านทาน โรคบางยีน ยกเว้นยีน *clpA* ที่ให้ผลการแบ่งกลุ่ม ประชากรเชื้อไม่สัมพันธ์กับสิ่งใด โดยยีน *pyk* ให้ผล การแบ่งกลุ่มได้มากที่สุดจำนวน 6 กลุ่ม (Table 1) ยีน *GyrB* สามารถแบ่งเชื้อออกเป็น 4 กลุ่ม พบว่า เชื้อในกลุ่มที่ 1 และ 4 เป็นเชื้อที่พบใน จ. สุโขทัย และร้อยเอ็ดเท่านั้น (Figure 2A) ส่วนยีน *DnaK* สามารถแบ่งเชื้อออกเป็น 3 กลุ่ม พบว่า เชื้อในกลุ่ม ที่ 1 เป็นเชื้อที่พบใน จ. สุโขทัย และเชื้อในกลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มเชื้อที่มาจาก จ. เชียงราย และเข้าทำลาย พันธุ์ข้าวที่มีถิ่นกำเนิดใน จ. เชียงราย ได้ (Figure 2B) จึง

เลือกทั้ง 10 ยีน และนำตำแหน่ง SNP ที่พบในแต่ ละยีนมาคัดเลือกเพื่อใช้ในการพัฒนาเครื่องหมาย โมเลกุล SNP โดยนำตำแหน่ง SNP ดังกล่าว จำนวน ทั้งสิ้น 54 ตำแหน่ง มาสร้าง phylogenetic tree เพื่อจัดกลุ่มเชื้อ Xoo 50 สายพันธุ์

จาก SNP 54 ตำแหน่ง ที่นำมาทดสอบ พบว่า มี SNP เพียงจำนวน 12 ตำแหน่ง ใน housekeeping genes จำนวน 10 ยีนประกอบด้วย ได้แก่ *DnaK gluS glyA GyrB leuA pyk pyrH RecA rpoB* และ *tpiA* (Table 2) ที่สามารถ แบ่งกลุ่มประชากรเชื้อตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป มีความสัมพันธ์กับทางภูมิศาสตร์แหล่งที่มาของเชื้อ และความต้านทานโรคบางยีน ได้แก่ SNP ที่ตำแหน่ง 161 ของยีน *DnaK* สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่ม ซึ่งเชื้อในกลุ่มที่ 2 เป็นเชื้อจาก จ. เชียงรายที่ส่วนใหญ่ทำลายข้าวที่มีถิ่นกำเนิดใน จ. เชียงราย เช่นเดียวกับ SNP ที่ตำแหน่ง 511 ของ ยีน *pyk* (Figure 3G) และ SNP ที่ตำแหน่ง 153 ของ ยีน *RecA* (Figure 3J) ในขณะที่ SNP ที่ตำแหน่ง 659 ของยีน *gluS* (Figure 3B) และ SNP ที่ตำแหน่ง 1962

ของยีน *GyrB* (Figure 3E) สามารถแบ่งเชื้อในกลุ่มที่ 1 ที่มาจาก จ. สุโขทัยได้ ส่วน SNP ที่ตำแหน่ง 1020 ของยีน *glyA* (Figure 3C) และ SNP ที่ตำแหน่ง 3593 ของยีน *rpoB* (Figure 3K) สามารถแบ่งเชื้อในกลุ่มที่ 2 ที่มาจาก จ. บุรีรัมย์ ในขณะที่ SNP ที่ตำแหน่ง 1602 ของยีน *GyrB* (Figure 3D) และ SNP ที่ตำแหน่ง 718 ของยีน *pyk* (Figure 3H) สามารถแบ่งเชื้อในกลุ่มที่ 2 ที่มาจาก จ. ร้อยเอ็ดได้ ส่วน SNP ที่ตำแหน่ง 144 ของยีน *pyrH* (Figure 3I) และ SNP ที่ตำแหน่ง 337 ของยีน *tpiA* (Figure 3L) สามารถแบ่งเชื้อในกลุ่มที่ 2 ที่มาจาก จ. นครศรีธรรมราช จึงคัดเลือกตำแหน่ง SNP จากยีนทั้ง 10 ยีนดังกล่าว มาพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับตรวจเชื้อ Xoo ด้วยเทคนิค MassArray ต่อไป

3. เครื่องหมายโมเลกุล SNP จากกลุ่ม housekeeping genes เพื่อตรวจเชื้อด้วยเทคนิค MassARRAY

ข้อมูล SNP จำนวน 12 ตำแหน่ง จาก housekeeping genes จำนวน 10 ยีน (Table 2) นำมาออกแบบ PCR amplification primer และ extension primer เพื่อใช้ในการตรวจเชื้อ Xoo ด้วยเทคนิค MassARRAY พบว่า PCR amplification primer ให้ขนาดของผลผลิต PCR อยู่ในช่วง 92-140 bp (Table 2) และ extension primer ให้น้ำหนักของโมเลกุล mass (Da) ที่ต่างกัน เมื่อนำเครื่องหมายโมเลกุล SNP ทั้ง 12 ตำแหน่ง มาทดสอบกับดีเอ็นเอของเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ พบว่า มีเพียงเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 9 ตำแหน่ง (Table 3) ที่อ่านน้ำหนักโมเลกุลของเบสได้ถูกต้อง โดยพบ analyte peak ขนาดใหญ่และไม่เกิด extend peak เกิดผลผลิต PCR ได้ดี (Figure 4A) ไม่ถูกต้องจำนวน 3 ตำแหน่ง ได้แก่ 12 *glyA* 1020 01 *GyrB* 1602 และ 01 *GyrB* 1962 เกิด analyte peak ขนาดเล็ก และเกิด

extend peak ขนาดใหญ่ เครื่องหมายโมเลกุล SNP ไม่สามารถสร้างผลผลิต PCR ได้ (Figure 4B) โดยพบว่ามี 2 ใน 3 ตำแหน่งนี้ไม่สามารถอ่านน้ำหนักโมเลกุลของเบสได้ในบางจุด ซึ่งไม่เกิด analyte peak และเกิด extend peak ขนาดใหญ่ (Figure 4C) ซึ่งทั้งสองกรณีนี้ เนื่องจากการที่เครื่องหมายโมเลกุล SNP ไม่สามารถสร้างผลผลิต PCR ได้ และการจับกันเองของ primer-primer dimer (Gabriel et al., 2009) ทั้งนี้ในขั้นตอนการออกแบบไพรเมอร์พบการแจ้งเตือนว่าไพรเมอร์ที่ไม่สามารถอ่านมวลได้ถูกต้อง จะมีโอกาสเกิด extend primer dimer ร่วมกับไพรเมอร์อื่นในระดับน้อยถึงปานกลาง ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่า การออกแบบไพรเมอร์เป็นสิ่งสำคัญสำหรับการทำ multiplex assay ด้วยเทคนิค MassARRAY ควรหลีกเลี่ยงการเกิด primer-primer dimer ค่า Tm ระหว่างคู่ไพรเมอร์ไม่ควรต่างกันมากกว่า 4 °ซ. (Nyasinga et al., 2019)

แสดงให้เห็นว่าเทคนิค MassARRAY สามารถวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักโมเลกุลของเบสของเชื้อ Xoo ได้อย่างถูกต้อง และได้จำนวนมากพร้อมกันในคราวเดียว (high-throughput multiplex detection) ทราบผลได้ภายใน 2 วัน ไม่นับรวมขั้นตอนการเตรียมดีเอ็นเอของเชื้อ โดยในเชื้อ 1 ตัวอย่าง สามารถตรวจสอบได้พร้อมกันกับ 9 ไพรเมอร์ อีกทั้งยังตรวจสอบได้มากถึง 45 ตัวอย่าง/วัน ใช้ระยะเวลาสั้นกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่น ๆ เช่น การใช้ข้าวสายพันธุ์คู่แฝดที่ต้องใช้ระยะเวลาประมาณ 2 เดือน/เชื้อ/ตัวอย่าง การใช้เทคนิค PCR ที่ตรวจสอบได้ครั้งละ 1 ไพรเมอร์ และการวิเคราะห์ข้อมูล SNP ทั้งจีโนมที่ต้องอาศัยความเชี่ยวชาญทางด้านชีวสารสนเทศ (แสงชัย, 2552; ปริศนา

และคณะ, 2558ก; ไพเราะ และคณะ, 2562; สุจิตา และคณะ, 2553; จารูวี และคณะ, 2564; จิตินา และคณะ, 2565) ดังนั้น เครื่องหมายโมเลกุล SNP เพื่อการตรวจหาและจำแนกประชากรเชื้อ Xoo ของเทคนิค MassARRAY จึงมีประสิทธิภาพสูงในการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรเชื้อจำนวนหลายตัวอย่างพร้อม ๆ กันได้ในคราวเดียวกัน

4. Xoo-SNPs MassARRAY based เพื่อการตรวจประชากร

ผลการตรวจประชากร พบว่า ตำแหน่ง SNP ที่ตรวจพบมีความสัมพันธ์จำเพาะกับแหล่งที่มาของเชื้อ เช่น จ.นครศรีธรรมราช บุรีรัมย์ ร้อยเอ็ด สุโขทัย และเชียงราย และเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถแยกเชื้อเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่

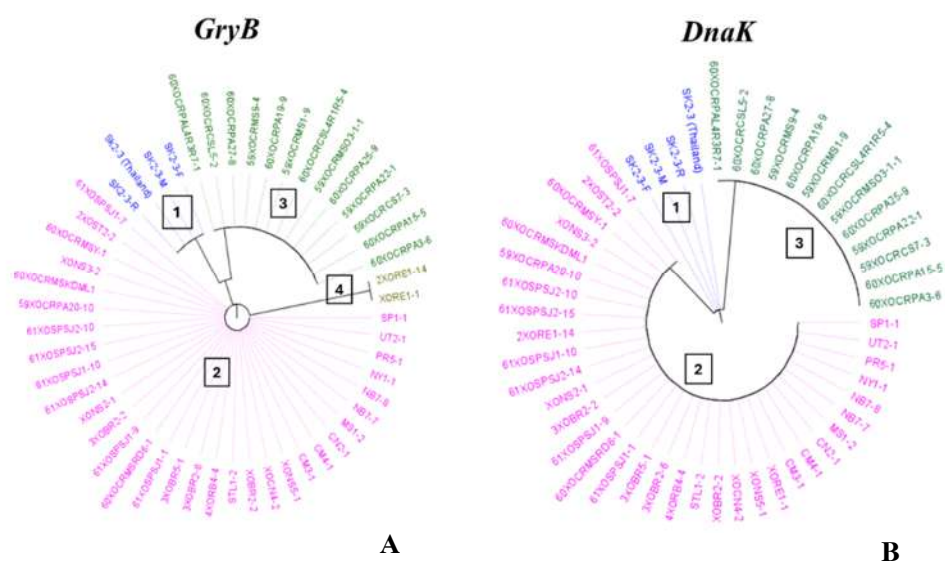


Figure 2 Phylogenetic tree clustering based on nucleic acid sequence of selected housekeeping genes of 50 Thai Xoo strains, (A) Phylogenetic tree of *GyrB* gene, (B) Phylogenetic tree of *DnaK* gene

Table 2 List of twelve SNP primers from housekeeping genes for SNP-Xoo MassARRAY based primer development

SNP name	Gene name	SNP position	SNP (reference/alternate)	Amplicon size (bp)	Remark
03_DnaK_161	<i>DnaK</i>	161	G/A	130	Separate members from Chiang Rai and infected IRBB5 (<i>xa5</i>) except 2 isolates (60XOCRCSL5-2, 59XOCRMS1-9)
18_gluS_659	<i>gluS</i>	659	A/G	92	Separate members from Sukhothai (SK2-3F, SK2-3M, SK2-3R)
12_glyA_1020	<i>glyA</i>	1020	G/A	114	Separate members from Buriram (3XOBR2-2, 3XOBR5-1, XOBR2-2)
01_GyrB_1602	<i>GyrB</i>	1602	G/C	109	Separate members from Roi Et (2XORE1-14, XORE1-1)
01_GyrB_1962	<i>GyrB</i>	1962	C/A	133	Separate members from Sukhothai (SK2-3F, SK2-3M, SK2-3R)
15_leuA_120	<i>leuA</i>	120	C/T	115	Separate members from Chiang Rai and Sukhothai, infected IRBB5 (<i>xa5</i>) except 2 isolates (60XOCRCSL5-2, 59XOCRMS1-9)
14_pyk_511	<i>pyk</i>	511	G/A	130	Separate members from Chiang Rai and infected IRBB5 (<i>xa5</i>) except 2 isolates (60XOCRCSL5-2, 59XOCRMS1-9)
14_pyk_718	<i>pyk</i>	718	C/A	105	Separate members from Roi Et (2XORE1-14, XORE1-1)
17_pyrH_144	<i>pyrH</i>	144	A/G	93	Separate members from Nakhon Si Thammarat (XONS2-1, XONS3-2)
07_RecA_153	<i>RecA</i>	153	G/C	98	Separate members from Chiang Rai and infected IRBB5 (<i>xa5</i>) except 2 isolates (60XOCRCSL5-2, 59XOCRMS1-9)
09_rpoB_3593	<i>rpoB</i>	3593	G/C	100	Separate members from Buriram (XOBR2-2, 3XOBR2-2)
10_tpiA_337	<i>tpiA</i>	337	T/C	140	Separate members from Nakhon Si Thammarat (XONS2-1, XONS3-2)

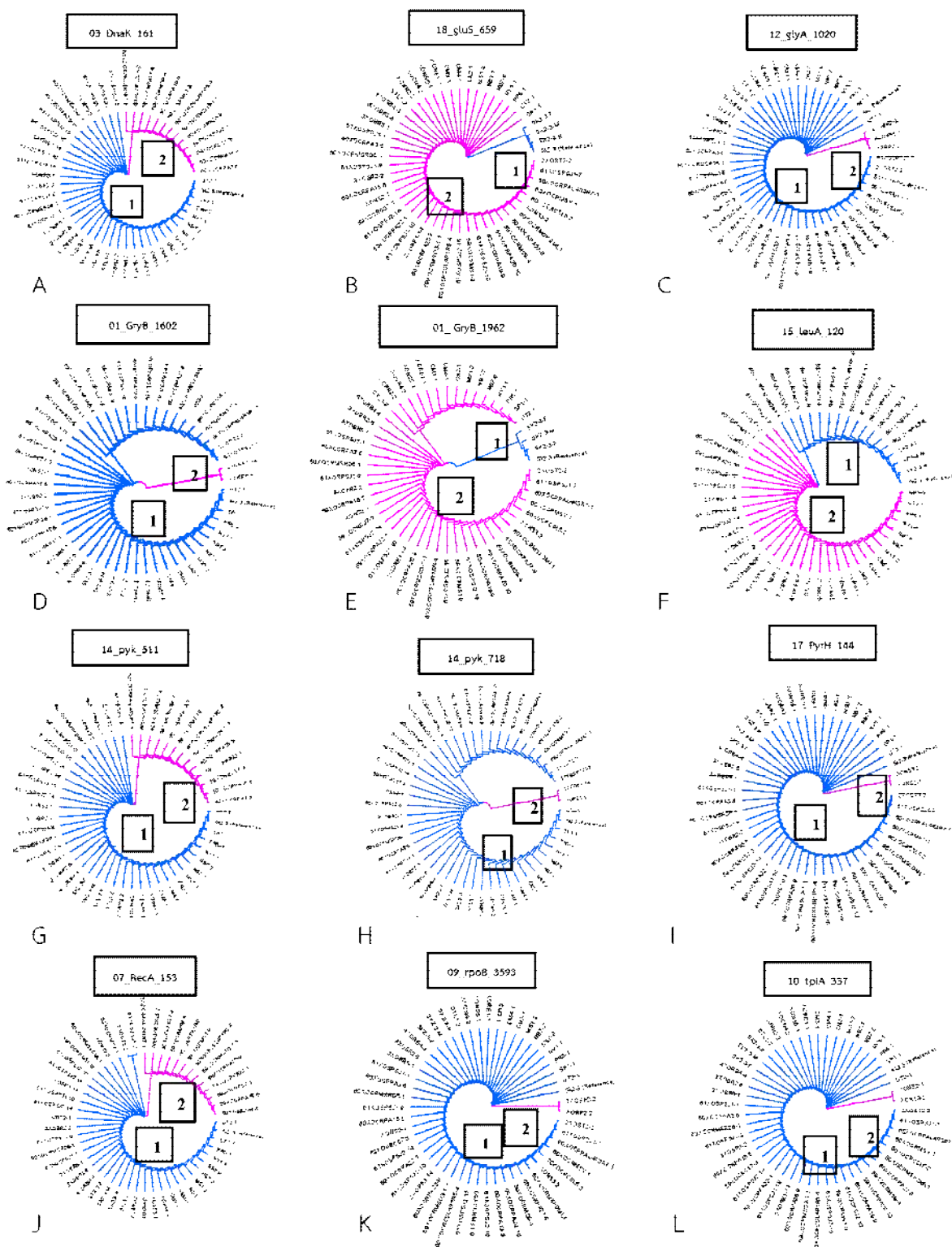


Figure 3 Phylogenetic tree clustering based on nucleic acid sequence of individual SNP position of 12 selected housekeeping genes of 50 Thai Xoo strain, (A) *DnaK* at position 161, (B) *gluS* at position 659, (C) *glyA* at position 1020, (D) *GryB* at position 1602, (E) *GryB* at position 1962, (F) *leuA* at position 120, (G) *pyk* at position 511, (H) *pyk* at position 718, (I) *PyrH* at position 144, (J) *RecA* at position 153, (K) *rpoB* at position 3593, (L) *tpiA* at position 337

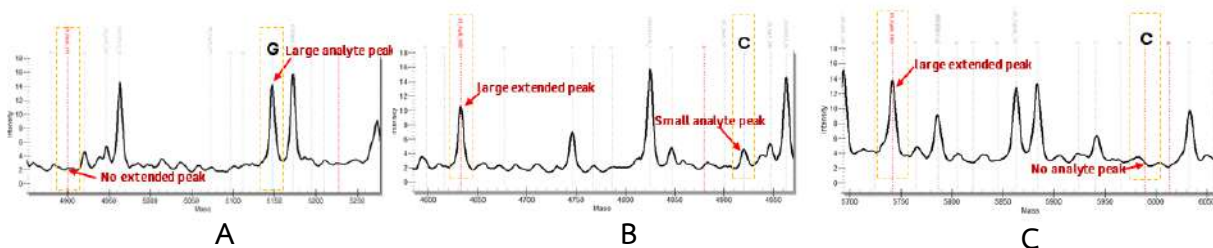


Figure 4 Types of the difference peak intensities base call of SNP primers in the MassARRAY assay, (A) Correct base call primer, (B) Miscalls primer, (C) No-call primer

เชื้อส่วนใหญ่ทำลายข้าวที่มียืนต้นทาน *xa5* และกลุ่มที่เชื้อส่วนใหญ่ไม่ทำลายข้าวที่มียืนต้นทาน *xa5* แต่เครื่องหมายโมเลกุลเหล่านี้ไม่มีความสัมพันธ์กับสายพันธุ์ของเชื้อที่เข้าทำลายในแปลง ปีที่สำรวจ หรือชนิดของ race สอดคล้องกับการทำ phylogenetic clustering ของตำแหน่งของข้อมูลที่ได้จาก Illumina sequence platform (Table 3) และการแบ่งกลุ่มโดยใช้ SNP จำนวน 21,181 ตำแหน่ง ด้วยวิธี neighbor joining และ PCA (อิติมา และคณะ, 2565) อย่างไรก็ตามมีความแตกต่างกับรายงานของ Aung (2017) ที่ออกแบบเครื่องหมายโมเลกุล SNP จากตัวแทนเชื้อในกลุ่ม race และ lineage ต่าง ๆ กัน เพื่อใช้ติดตามกลุ่มประชากรเชื้อ Xoo ในฟิลิปปินส์ พบชุดไพรเมอร์ที่ออกแบบมีความจำเพาะต่อ 3 lineage หลัก ได้แก่ PX-A PX-B PX-C และ 4 กลุ่มย่อยของ PX-A และ PX-B ของประชากรเชื้อ Xoo ที่พบในฟิลิปปินส์ และสามารถนำมาใช้ตรวจสอบโคโลนีและสารแขวนลอย (bacterial oozing out) จากตัวอย่างใบที่เป็นโรคได้ ซึ่งในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล Xoo-SNPs MassARRAY based ในขั้นตอนต่อไป อาจนำวิธีการใช้สารแขวนลอยจากใบที่เป็นโรคขอบใบแห้งมาทดสอบ เพื่อลดขั้นตอนการแยกและเลี้ยงเชื้อให้บริสุทธิ์ก่อนการสกัดดีเอ็นเอ

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ Xoo-SNPs MassARRAY based สำหรับใช้ตรวจ

ติดตามประชากรเชื้อ Xoo หรือ clone ของสายพันธุ์เชื้อที่ระบาดในแต่ละพื้นที่ในคราวเดียวกัน อย่างแม่นยำเทียบเคียงได้กับผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพื่อหาตำแหน่ง SNP และการวิเคราะห์ SNP ด้วยเทคนิค PCR อย่างไรก็ตาม การใช้เครื่องหมายโมเลกุล SNP ที่ออกแบบจาก housekeeping genes นี้ อาจพบข้อจำกัดในการตรวจติดตามประชากรเชื้อ Xoo ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงและมีการกลายพันธุ์จำนวนมาก ทำให้ต้องใช้จำนวนเครื่องหมายโมเลกุล SNP หลายตำแหน่งเพื่อให้ครอบคลุมประชากรเชื้อ Xoo ทั้งหมด

สรุปผลการทดลอง

การคัดเลือกตำแหน่ง SNP 12 ตำแหน่ง จาก 10 housekeeping genes ได้แก่ *DnaK* *gluS* *glyA* *GyrB* *leuA* *pyk* *pyrH* *RecA* *rpoB* และ *tpiA* เพื่อใช้ในการติดตามประชากรเชื้อ Xoo สาเหตุของโรคขอบใบแห้ง ด้วยเทคนิค MassARRAY พบเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 9 ตำแหน่ง (75%) ที่สามารถอ่านน้ำหนักโมเลกุลของเบสได้ถูกต้อง เกิด analyte peak ขนาดใหญ่และไม่เกิด extend peak โดยเทคนิค MassARRAY สามารถวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักโมเลกุลของเบสของเชื้อ Xoo ได้จำนวนมากและพร้อมกันในคราวเดียว ใช้ระยะเวลาสั้น สามารถทราบผลได้ภายใน 2 วัน

โดยไม่นับรวมขั้นตอนการเตรียมดีเอ็นเอของเชื้อ อีกทั้งยังสามารถตรวจสอบได้มากถึง 45 ตัวอย่าง/วัน เครื่องหมายโมเลกุล Xoo-SNP MassARRAY based จำนวน 9 ตำแหน่ง ที่ออกแบบจาก housekeeping genes จำนวน 8 ยีน ได้แก่ *DnaK* *gluS* *leuA* *pyk* *pyrH* *RecA* *rpoB* และ *tpiA* สามารถตรวจประชากรเชื้อ Xoo จำนวน 50 สายพันธุ์ซึ่งเป็นตัวแทนของ 33 races ที่ระบาดในประเทศไทย โดยพบว่า ตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถระบุความสัมพันธ์จำเพาะกับแหล่งที่มาของเชื้อจาก

จ. นครศรีธรรมราช บุรีรัมย์ ร้อยเอ็ด สุโขทัย และ เชียงราย และตรวจแยกกลุ่มเชื้อ Xoo ที่ทำลายหรือไม่ทำลายข้าวที่มียืนต้นทาน *xa5* ใดๆก็ตาม เครื่องหมายโมเลกุล SNP ที่ออกแบบจากกลุ่มยีน housekeeping genes ไม่ได้มีความสัมพันธ์กับชนิดของ race หรือลักษณะความรุนแรงของโรค ดังนั้นการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SNP ที่จำเพาะต่อ race จะสามารถปรับปรุงวิธีการนี้ให้เป็นประโยชน์สำหรับการตรวจติดตามประชากรของเชื้อ Xoo และการป้องกันโรคได้

Table 3 Summary results of twelve SNP markers for genotyping 50 Thai Xoo strains based on MassARRAY technology

SNP primer name	Gene	SNP (ref/alt)	Genomic DNA of 50 strains			Potential of SNP primer	Remark
			Reference allele frequency ^A	Alternate allele frequency	Miss call frequency		
03_DnaK_161	<i>DnaK</i>	G/A	G 100% (37/37)	A 100% (13/13)	-	/ ^B	Separate members from Chiang Rai and infected IRBB5 (<i>xa5</i>) except 2 isolates (60XOCRCSL5-2, 59XOCRMS1-9)
18_gluS_659	<i>gluS</i>	A/G	A 100% (47/47)	G 100% (3/3)	-	/	Separate members from Sukhothai (SK2-3F, SK2-3M, SK2-3R)
12_glyA_1020	<i>glyA</i>	G/A	G 98% (47/46)	A 0% (3/0)	8% (4)	- ^C	Separate members from Buriram (3XOBR2-2, 3XOBR5-1, XOBR2-2)
01_GyrB_1602	<i>GyrB</i>	G/C	G 58% (48/28)	C 50% (2/1)	42% (21)	-	Separate members from Roi Et (2XORE1-14, XORE1-1)
01_GyrB_1962	<i>GyrB</i>	C/A	C 0% (3/0)	A 94 % (47/44)	12% (6)	-	Separate members from Sukhothai (SK2-3F, SK2-3M, SK2-3R)
15_leuA_120	<i>leuA</i>	C/T	C 100% (16/16)	T 100% (34/34)	-	/	Separate members from Chiang Rai and Sukhothai, infected IRBB5 (<i>xa5</i>) except 2 isolates (60XOCRCSL5-2, 59XOCRMS1-9)
14_pyk_511	<i>pyk</i>	G/A	G 100% (37/37)	A 100% (13/13)	-	/	Separate members from Chiang Rai and infected IRBB5 (<i>xa5</i>) except 2 isolates (60XOCRCSL5-2, 59XOCRMS1-9)
14_pyk_718	<i>pyk</i>	C/A	C 100% (48/48)	A 100% (2/2)	-	/	Separate members from Roi Et (2XORE1-14, XORE1-1)
17_pyrH_144	<i>pyrH</i>	A/G	A 100% (48/48)	G 100% (2/2)	-	/	Separate members from Nakhon Si Thammarat (XONS2-1, XONS3-2)
07_RecA_153	<i>RecA</i>	G/C	G 100% (37/37)	C 100% (13/13)	-	/	Separate members from Chiang Rai and infected IRBB5 (<i>xa5</i>) except 2 isolates (60XOCRCSL5-2, 59XOCRMS1-9)
09_rpoB_3593	<i>rpoB</i>	C/T	C 100% (48/48)	T 100% (2/2)	-	/	Separate members from Buriram (XOBR2-2, 3XOBR2-2)
10_tpiA_337	<i>tpiA</i>	T/C	T 100% (48/48)	C 100% (2/2)	-	/	Separate members from Nakhon Si Thammarat (XONS2-1, XONS3-2)

A: The number of isolates in which a given SNP allele was identified

B: SNP markers can detect Xoo strains and show specific results according to the primer design

C: SNP markers show miscall and no-call results and cannot detect Xoo strains in some positions

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการ Real Time Deployment of Pathogen Resistance Genes in Rice (รหัสโครงการ P-16-50284) โครงการระบบแนะนำพันธุ์ข้าวที่เหมาะสม สำหรับการปลูกในแต่ละพื้นที่และฤดูกาล (รหัส โครงการ P-18-51456)

โดยสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ในการสนับสนุนการใช้งานเครื่อง MassARRAY และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จารุวิ อันเขตตา อธิรุทธ ตูจินดา คณินนิตย เจริญวรารการ และสุจินต์ ภัทรภูวดล. 2564. การกระจายตัวของสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในภาคกลางของประเทศไทย. วารสารแก่นเกษตร. 50(1): 204-215.
- อติมา จินตกานนท์ จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์ ภัสสร วรณพินิจ ภูมิพัฒน์ ทองอยู่ และสุจินต์ ภัทรภูวดล. 2565. ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมและโครงสร้างประชากรของเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวในประเทศไทย. วารสารวิชาการเกษตร. 40(1): 45-58.
- ปริศนา วงศ์ล้อม จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์ สุจินต์ ภัทรภูวดล และวิชัย โสสิตรัตน. 2558ก. การประเมินความหลากหลายในการก่อโรคของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 46(2): 165-175.
- ปริศนา วงศ์ล้อม จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์ สุจินต์ ภัทรภูวดล และวิชัย โสสิตรัตน. 2558ข. การศึกษาเปรียบเทียบความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในประเทศไทยด้วยเทคนิค AFLP, rep-PCR และ RFLP-Tal. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 46(3): 273-286.
- ไพเราะ ขวัญงาม มัชฌิมา สังข์วรรณะ นุจรินทร์ จังชันธ จุฑาเทพ วัชรไชยคุปต์ และสุจินต์ ภัทรภูวดล. 2562. การสำรวจโรคและการศึกษาการกระจายตัวของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในจังหวัดเชียงรายในปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2561. น. 136. ใน: การประชุมวิชาการอรัญญาพิช ครั้งที่ 14. 12-14 พฤศจิกายน 2562. โรงแรมดุสิตธานี หัวหิน อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี.
- สุธิดา เรืองบุญ พยอม โคเบลลี และธีรดา หวังสมบุญดี. 2553. การใช้ยีน *avr* เพื่อจัดกลุ่ม *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* แบคทีเรียก่อโรคขอบใบแห้งในข้าว. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย. 2(พิเศษ): 221-232.
- แสงชัย ศรีประโคน. 2552. การจำแนกและจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) และการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานในข้าวพื้นเมืองพันธุ์เขียงรุ่ง (*Oryza sativa* L.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. 127 หน้า.
- Aung, E.E. 2017. Development of SNP Markers and Genome-Wide Association Mapping of Virulence Factors of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Ph.D. Thesis, University of the Philippines Los Baños.
- Carpenter, S.C., P. Mishra, C. Ghoshal, P.K. Dash, L. Wang, S. Midha, G.S. Laha, J.S. Lore, W. Kositratana, N.K. Singh, K. Singh, P.B. Patil, R. Oliva, S. Patarapuwadol, A.J. Bogdanove and R. Rai. 2020. An *xa5* resistance gene-breaking Indian strain of the rice bacterial blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is nearly identical to a Thai strain. *Frontiers in Microbiology*. 11: 1-8.
- Gabriel, S., L. Ziaugra and D. Tabbaa. 2009. SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX Platform. *Current Protocols in Human Genetics*. 60(1): 2.12.1 - 2.12.18.
- Hajri, A., C. Brin, S. Zhao, P. David, J.X. Feng, R. Koebnik, B. Szurek, V. Verdier, T. Boureau and S. Poussier. 2012. Multilocus sequence analysis and type III effector repertoire mining provide new insights into the evolutionary history and virulence of *Xanthomonas oryzae*. *Molecular Plant Pathology*. 13(3): 288-302.
- Jung, H.Y., K.J. Lee, K.H. Kim, J.H. Hyung, M.R. Han, H.K. Kim, L.W. Kang, Y.J. Ahn and Y.S. Heo. 2010. Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of DNA gyrase *GyrB* subunit from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*. 66(1): 48-50.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz and K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 35(6): 1547-1549.
- Lee, B.M., Y.J. Park, D.S. Park, H.W. Kang, J.G. Kim, E.S. Song, I.C. Park, U.H. Yoon, J.H. Hahn, B.S. Koo, G.B. Lee, H. Kim, H.S. Park, K.O. Yoon, J.H.

- Kim, C.H. Jung, N.H. Koh, J.S. Seo and S.J. Go. 2005. The genome sequence of *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzae* KACC10331, the bacterial blight pathogen of rice. *Nucleic Acids Research*. 33(2): 577-586.
- Maiden, M.C., J.A. Bygraves, E. Feil, G. Morelli, J.E. Russell, R. Urwin, Q. Zhang, J. Zhou, K. Zurth, D.A. Caugant, I.M. Feavers, M. Achtman and B.G. Spratt. 1998. Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 95(6): 3140-3145.
- Marcelletti, S., P. Ferrante and M. Scortchini. 2010. Multilocus sequence typing reveals relevant genetic variation and different evolutionary dynamics among strains of *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. *Diversity*. 2(11): 1205-1222.
- Nyasinga, J., C. Kyany'a, R. Okoth, V. Oundo, D. Matano, S. Wacira, W. Sang, S. Musembi and L. Musila. 2019. A Six-member SNP assay on the iPLEX MassARRAY platform provides a rapid and affordable alternative for typing major African *Staphylococcus aureus* types. *Access Microbiology*. 1(3): e000018.
- Patiya, P. 2020. MassARRAY Technology. Available at: <https://www.scispec.co.th/learning/index.php/blog/genomics/patiya>. Accessed: November 22, 2023.
- Rabibhadana, S., S. Chamnongpol, J.E. Trempey, N.P. Ambulos Jr. and S. Mongkolsuk. 1993. Isolation and expression in *Escherichia coli* of a *Xanthomonas oryzae* RecA-like Gene. *Gene*. 132(1): 113-118.
- Sakthivel, K., A. Kumar, R.K. Gautam, K. Manigundan, G.S. Laha, R. Velazhahan, R. Singh and I.S. Yadav. 2021. Intra-regional diversity of rice bacterial blight pathogen, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, in the Andaman Islands, India: Revelation by pathotyping and multilocus sequence typing. *Journal of Applied Microbiology*. 130(4): 1259-1272.
- Salzberg, S.L., D.D. Sommer, M.C. Schatz, A.M. Phillippy, P.D. Rabinowicz, S. Tsuge, A. Furutani, H. Ochiai, A.L. Delcher, D. Kelley, R. Madupu, D. Puiu, D. Radune, M. Shumway, C. Trapnell, G. Aparna, G. Jha, A. Pandey, P.B. Patil, H. Ishihara, D.F. Meyer, B. Szurek, V. Verdier, R. Koebnik, J.M. Maxwell, R.P. Ryan, H. Hirata, S. Tsuyumu, S. Won Lee, P.C. Ronald, R.V. Sonti, M.A. Van Sluys, J. E. Leach, F.F. White and A.J. Bogdanove. 2008. Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99 A. *BMC Genomics*. 9(1): 1-16.
- Schneider, S., D. Roessli and L. Excoffier. 2000. Arlequin: A software for population genetics data analysis, version 2.000. Genetics and biometry laboratory, department of anthropology, University of Geneva, Switzerland. 1: 1-111.
- Sukchawalit, R. and S. Mongkolsuk. 2001. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* *recA* is transcribed and regulated from multiple promoters. *FEMS Microbiology Letters*. 197(1): 35-40.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei and S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28(10): 2731-2739.
- Xu, Z.Z., G.C. Wu, B. Wang, B.D. Guo, C. Sheng, Y.Y. Zhao, B. Tang, Y.C. Zhao and F.Q. Liu. 2023. Sigma factor 70 *RpoD* contributes to virulence by regulating cell motility, oxidative stress tolerance, and manipulating the expression of *hrpG* and *hrpX* in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Journal of Integrative Agriculture*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2023.10.017>.

คุณลักษณะสีและกลิ่นของทุเรียนพื้นบ้านจังหวัดสงขลา
Colour and Odour Characteristics of Local Durian Varieties
in Songkhla Province

รุสนี กุลวิจิตร^{1/} พจนาถ พัทบุรี^{1/} พิสมัย ปิ่นศรีทอง^{1/} ทรงสุดา พรหมทอง^{1/}
วชิราภรณ์ ปิสิตร^{1/} ศักดิ์ชัยบดี ปิ่นศรีทอง^{1/*}
Roosanee Kulvijitra^{1/} Pojchanad Pathaburee^{1/} Pisamai Pinsrithong^{1/} Songsuda Promthong^{1/}
Wachiraporn Pisitaro^{1/} Sakchaibordee Pinsrithong^{1/*}

Received 9 Nov. 2023/Revised 28 May 2024/Accepted 17 Jun. 2024

ABSTRACT

The information on colour and odour characteristic of local durian varieties in Thailand are limited. The objective of this research is to investigate the physical and chemical characteristics of 7 local durian varieties from Songkhla province, namely Supnasaen, Phikunklin, Aileuang, Lepyiao, Muktaam, Nomsao, and Nomsod. The study utilized scientific instruments to collect data that could serve as a basis for promoting and selecting durian varieties in the future. The flesh of all seven varieties was analyzed for color using a colorimeter, elemental composition using a CHNS/O analyzer and volatile organic compounds (VOCs) using headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) followed by GC-MS analysis. Yellow index values were found to effectively and rapidly indicate the initial differences between each durian variety. In terms of elemental composition, the highest carbon and hydrogen content were found in Supnasan (44.42 ± 0.20 and $7.04 \pm 0.04\%$, respectively), the highest nitrogen and sulfur content in Nomsao (1.49 ± 0.02 and $0.11 \pm 0.01\%$, respectively), and the highest oxygen content in Aileuang ($48.12 \pm 0.22\%$). The results of the odour analysis revealed a total of 52-74 volatile organic compounds (VOCs) which categorized into 18 functional groups. Specific compounds were unique to certain varieties such as; Aldehyde was found only in the Aileuang variety, Azine was found only in the Muktaam variety, Diene was found in the Supnasaen and Lepyiao varieties, Ether was found in the Nomsao and Nomsod varieties, Oxazole was found in the Muktaam and Nomsao varieties. Thiazole was found in the Aileuang and Lepyiao varieties, Pyrazine was found, but volatile sulfur was not found in the Phikunklin variety, Carboxylic acid was not found in

^{1/} สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

^{1/} Office of Scientific Instrument and Testing, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus, Songkhla 90110, Thailand.

* Corresponding author: sakchaibordee.s@psu.ac.th

the Lepyiao variety and Terpene was not found in both the Supnasaen and Nomsao varieties. Esters and sulfides were the main functional groups providing odour across all varieties, but in varying quantities. Results of this research demonstrated methods of physical and chemical analyses that can be used to promote the cultivation of durian varieties with colour and odour profiles preferred by consumers.

Keywords: odour; local durian; Songkhla; chemical compositions; gas chromatography-mass spectrometry

บทคัดย่อ

ข้อมูลด้านสีและกลิ่นของทุเรียนพื้นบ้านในประเทศไทยมีค่อนข้างน้อย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีของกลุ่มทุเรียนพื้นบ้านของจังหวัดสงขลา 7 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สุปนาแสน พิกุลกลิ่น ไอ้เหลื่อง เล็บเหยี่ยว มุกตาอำ นมสาว และนมสด ด้วยเครื่องมือวิทยาศาสตร์ เพื่อเก็บเป็นฐานข้อมูลในการส่งเสริมและคัดเลือกพันธุ์ในอนาคต โดยนำเนื้อทุเรียนพื้นบ้านทั้ง 7 พันธุ์มาตรวจวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี ตรวจองค์ประกอบธาตุอินทรีย์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ CHNS/O และตรวจชนิดสารอินทรีย์ให้กลิ่นโดยการสกัดด้วยเทคนิค HS-SPME แล้วตรวจวัดด้วยเครื่อง GC-MS ผลการตรวจวิเคราะห์ พบว่า ค่าดัชนีความเหลืองสามารถบอกความแตกต่างของทุเรียนแต่ละพันธุ์ในเบื้องต้นได้ดีและรวดเร็ว ปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักของธาตุ พบว่า พันธุ์สุปนาแสนมีธาตุคาร์บอนและไฮโดรเจน

สูงสุด 44.42 ± 0.20 และ $7.04 \pm 0.04\%$ ตามลำดับ พันธุ์นมสาวมีปริมาณไนโตรเจน และซัลเฟอร์สูงสุด 1.49 ± 0.02 และ $0.11 \pm 0.01\%$ ตามลำดับ พันธุ์ไอ้เหลื่องมีปริมาณออกซิเจนสูงสุด $48.12 \pm 0.22\%$ ส่วนชนิดสารอินทรีย์ระเหยง่ายซึ่งแสดงลักษณะกลิ่น พบว่า มีความแตกต่างกันตามพันธุ์ทุเรียนระหว่าง 52-74 ชนิด จำแนกได้ 18 หมู่ฟังก์ชัน โดยสารอินทรีย์ระเหยง่ายบางหมู่ฟังก์ชันจำเพาะกับทุเรียนบางพันธุ์เท่านั้น ได้แก่ แอลดีไฮด์พบเฉพาะพันธุ์ไอ้เหลื่อง แอซีนพบเฉพาะพันธุ์มุกตาอำ ไดอินพบในพันธุ์สุปนาแสน และพันธุ์เล็บเหยี่ยว อีเทอร์พบในพันธุ์นมสาว และพันธุ์นมสด ออกซาโซลพบในพันธุ์มุกตาอำ และพันธุ์นมสาว ไทอะโซลพบในพันธุ์ไอ้เหลื่อง และพันธุ์เล็บเหยี่ยว พบไพราซีนแต่ไม่พบกำมะถันในพันธุ์พิกุลกลิ่น กรดคาร์บอกซิลิกไม่พบในพันธุ์เล็บเหยี่ยว และเทอร์ปีนไม่พบในพันธุ์สุปนาแสน และพันธุ์นมสาว โดยเอสเทอร์และซัลไฟด์เป็นหมู่ฟังก์ชันหลักที่ให้กลิ่นในทุเรียนทุกพันธุ์แต่มีปริมาณแตกต่างกัน ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในส่งเสริมและคัดเลือกพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านที่มีสีและกลิ่นเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภคต่อไป

คำสำคัญ: กลิ่น; ทุเรียนพื้นบ้าน; สงขลา; องค์ประกอบเคมี; แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์

บทนำ

ทุเรียนเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยม และถือเป็นราชาแห่งผลไม้ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากเป็นผลไม้ที่ขึ้นชื่อในเรื่องรสชาติและกลิ่นอันเป็นเอกลักษณ์ ผลสุกมีเนื้อสีเหลืองนวล มีรสหวานมัน และมีกลิ่นหอมแรง เป็นที่ชื่นชอบของกลุ่มผู้บริโภค (Chairat et al., 2022) ไทยเป็นประเทศ

ผู้ส่งออกทุเรียนรายใหญ่ของโลก โดยมีมูลค่าการส่งออกในปี พ.ศ. 2562 มากกว่า 51,000 ล้านบาท ทุเรียนในประเทศไทยมีมากกว่า 200 สายพันธุ์ (Wisuwat et al., 2019) พันธุ์ที่มีการปลูกในเชิงพาณิชย์ ได้แก่ พันธุ์หมอนทอง ชะนี และก้านยาว เป็นต้น (Ascharyaphotha et al., 2021) ส่วนทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านนิยมปลูกกันมากในพื้นที่ภาคใต้ โดยปลูกร่วมกับผลไม้หรือพืชชนิดอื่น หรือปลูกร่วมกับยางพารา นิยมปลูกกันมาเป็นระยะเวลานาน (Radchanui and Keawvongsri, 2017) ในพื้นที่ จ.สงขลา มีการปลูกทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านหลากหลายพันธุ์ แต่ละพันธุ์มีความเฉพาะทางกายภาพ ทางเคมีของสีและกลิ่น (จรัสศรี และคณะ, 2560) โดยสีของเนื้อทุเรียนที่ต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของกลุ่มสารอินทรีย์สำคัญในการสร้างเม็ดสี (Wisutiamonkul et al., 2017) ส่วนกลิ่นมาจากความแตกต่างของกลุ่มสารอินทรีย์ระเหยง่าย (Chin et al., 2007) ซึ่งถือเป็นองค์ประกอบพื้นฐานของผลไม้และมีผลต่อความนิยมของผู้บริโภค (Sujang et al., 2023) สีและกลิ่นที่เกิดขึ้นของทุเรียนเกิดจากองค์ประกอบหลักของธาตุอินทรีย์ในเนื้อทุเรียน (Khaksar et al., 2024)

การวิเคราะห์สีของเนื้อทุเรียนสามารถจำแนกอย่างรวดเร็วได้ด้วยสายตามนุษย์ (จรัสศรี และคณะ, 2560) แต่มีข้อด้อยคือไม่สามารถจำแนกสีเนื้อทุเรียนที่มีสีใกล้เคียงกันได้ ที่นิยมคือการวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Tifani et al., 2018) เนื่องจากให้ผลที่สอดคล้องกับการมองเห็นของมนุษย์ และสามารถบอกความแตกต่างของสีเนื้อทุเรียนเมื่อเปรียบเทียบกับสีมาตรฐาน (Martin, 2015) สำหรับการวิเคราะห์ลักษณะของกลิ่นศึกษาจากสารอินทรีย์ระเหยง่าย ใช้เทคนิคการบอกลักษณะกลิ่นโดยการดมด้วยจมูกมนุษย์ (จรัสศรี และคณะ, 2560)

แต่มีข้อด้อยคือบอกได้เพียงลักษณะกลิ่นในภาพรวมไม่สามารถแยกชนิดสารอินทรีย์ให้กลิ่นได้ เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-โอแฟกโทรมetri (GC-O) ที่สามารถแยกชนิดสารอินทรีย์และระบุลักษณะกลิ่นของสารอินทรีย์ที่ตรวจพบด้วยจมูกผู้ประเมิน (Li et al., 2012) แต่หากกลิ่นสารอินทรีย์มีปริมาณน้อยเกินไป หรือระยะการแยกของสารอินทรีย์ที่ออกจากคอลัมน์แตกต่างกันน้อยเกินไปผู้ประเมินจะระบุกลิ่นได้ยาก (De-la-fuente-blanco and Ferreira, 2020) ทั้งยังไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้ หากลักษณะกลิ่นที่ตรวจพบในตัวอย่างต่าง ๆ เหมือนกัน และมีปริมาณกลิ่นนั้นมากเกินไป (Cullere et al., 2004) การสกัดด้วยเฮดสเปซร่วมกับตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (HS-SPME) ตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) นิยมใช้ในการศึกษากลิ่นจากสารอินทรีย์ระเหยง่าย (Chairat et al., 2022; Osman et al., 2022) สามารถแยกและวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยง่ายทั้งหมดที่ออกจากคอลัมน์ ทั้งชนิดเพื่อระบุลักษณะกลิ่นและปริมาณความเข้มข้น (Ascharyaphotha et al., 2021) ของสารอินทรีย์ที่ตรวจพบในแต่ละตัวอย่างได้

อย่างไรก็ตาม ข้อมูลคุณลักษณะสีและกลิ่นของทุเรียนพื้นบ้านที่ปลูกทางภาคใต้ของประเทศไทยมีค่อนข้างจำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณลักษณะสีและกลิ่นของทุเรียน จากลักษณะสีและปริมาณสารอินทรีย์ระเหยง่ายของทุเรียน ศึกษาหาปริมาณธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ ที่เกี่ยวข้องกับสีและกลิ่นที่เกิดขึ้นของทุเรียนพื้นบ้าน จ. สงขลา โดยจำแนกสีด้วยเครื่องวัดสี และวัดกลิ่นด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-MS และวิเคราะห์ปริมาณธาตุที่เป็นองค์ประกอบเพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ของกลุ่มทุเรียนพื้นบ้าน จ. สงขลา

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ใช้ตัวอย่างทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านที่เป็นที่รู้จักในท้องถิ่นและได้รับรางวัลจากเวทีประกวดทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านของ จ. สงขลา จำนวน 7 พันธุ์ ได้แก่ 1) พันธุ์พิกุลกลีน (Phikunklin) จาก ต. เขาพระ อ. รัตภูมิ จ. สงขลา 2) พันธุ์เล็บเหยี่ยว (Lepyiao) จาก ต. เขามีเกียรติ อ. สะเตา จ. สงขลา 3) พันธุ์สุปนาแสน (Supnasaen) จาก ต. หุ้งดำเสา อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 4) พันธุ์ไ้อ์เหลือง (Aileuang) จาก ต. เขาพระ อ. รัตภูมิ จ. สงขลา 5) พันธุ์มุกตาอำ (Muktaam) 6) พันธุ์นมสาว (Nomsao) และ 7) พันธุ์นมสด (Nomsod) โดยพันธุ์ที่ 5-7 จาก ต. เขามีเกียรติ อ. สะเตา จ. สงขลา ตัวอย่างทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์จากเครือข่ายเกษตรกรรมทางเลือกและสหภาพเกษตรกรพันธุ์กรรมพื้นบ้านภาคใต้ โดยเก็บตัวอย่างผลทุเรียนสุกร่วงจากต้นของแต่ละพันธุ์ คัดเลือกผลที่สมบูรณ์ในระยะการสุกที่เหมาะสมของแต่ละพันธุ์ หลังได้รับตัวอย่างทำการแยกเนื้อทุเรียนออกจากผล แล้วเก็บในถุงพลาสติกซิปล็อคปิดสนิทที่อุณหภูมิ -20 °ซ. สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบกลืนและลักษณะของสีของตัวอย่างใช้เนื้อทุเรียนตามสภาพได้รับ ส่วนการวิเคราะห์ธาตุ CHNS/O ซึ่งเป็นองค์ประกอบของสารประกอบอินทรีย์เป็นองค์ประกอบของสารประกอบอินทรีย์ จะใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแล้ว การวิเคราะห์ใช้เนื้อทุเรียนที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ทำการทดลองทุกรายการ จำนวน 3 ซ้ำ

2. การจำแนกสีเนื้อทุเรียน

ทำการศึกษาจากถ่ายภาพ 3 มิติ ของตัวอย่างเนื้อทุเรียนด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (stereo microscope) รุ่น Leica M205 ยี่ห้อ Leica

โดยนำชิ้นตัวอย่างเนื้อทุเรียนสดแช่แข็ง เคลือบบนแผ่นสไลด์ให้ผิวหน้าเรียบ แล้วถ่ายภาพด้วยกำลังขยาย 20 เท่า แสดงสีจริงเสมือนที่ตามองเห็นของตัวอย่างแต่ละพันธุ์ จากนั้นวัดค่าสีของบริเวณผิวเนื้อทุเรียนด้วยเครื่องวัดสี ระบบ International Commission on Illumination (CIE) ใช้โหมดวัดการสะท้อนแสง (reflectance mode) แสดงผลค่าดัชนีความเหลืองเป็นค่าสีขาว-สีเหลือง (YI) ค่าความสว่างที่แสดงความเป็นดำ-สีขาว (L^*) ค่าความเป็นสีเขียว-แดง (a^*) และค่าความเป็นสีน้ำเงิน-เหลือง (b^*) ผลค่าสีที่วัดได้นำไปคำนวณหาค่าความต่างของค่าสี (difference) โดยการเรียงลำดับค่าสีของทุตัวอย่างที่ดัชนีสีเดียวกันจากมากไปน้อย จากนั้นนำค่าสีของตัวอย่างไปลบค่าสีที่สูงกว่าของตัวอย่างก่อนหน้า ผลลัพธ์ที่ได้คือค่าความต่างของค่าสีในแต่ละตัวอย่าง จากนั้นคำนวณผลรวมความต่างด้วยวิธีการบวกค่าความต่างของค่าสีของทุตัวอย่างที่ดัชนีสีวัดเดียวกัน

3. การวิเคราะห์ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารประกอบอินทรีย์

ศึกษาองค์ประกอบของสารประกอบอินทรีย์ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของสีและกลืนด้วยเครื่อง CHNS/O analyzer ยี่ห้อ Thermo รุ่น Flash 2000 ตามมาตรฐาน ASTM D5373-21 (ASTM, 2021) เตรียมตัวอย่างเนื้อทุเรียนโดยทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (FTS system, DuraDry, USA) (Firdaus et al., 2018; Toledo, 2023) บดเป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดภายใต้ไนโตรเจนเหลว (6875 Freezer/mill, SPEX, USA) และเก็บไว้ในเครื่องดูดความชื้น วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของธาตุคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ไนโตรเจน (N) ซัลเฟอร์ (S) และออกซิเจน (O) โดยคำนวณผลรวมความต่างวิธีการเดียวกับค่าสี

4. การวิเคราะห์ห้องประกอบกลิ่น

4.1 การเตรียมเครื่องวิเคราะห์

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกลิ่นของทุเรียนแต่ละพันธุ์ ใช้เครื่อง GC-MS ยี่ห้อ Agilent แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) รุ่น 7890B และแมสสเปกโตรมิเตอร์ (MS) รุ่น 7000D เชื่อมต่อกับระบบการฉีดสารแบบ HS-SPME แบบแขนกลอัตโนมัติของ PAL RTC 120 การแยกสารของเครื่อง GC จะใช้คอลัมน์ชนิด HP5-ms 30 ม. x 0.25 มม. i.d. x 0.25 ไมโครเมตร (Agilent technologies) แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพาอัตราไหล 1.0 มล./นาที อุณหภูมิห้องแบบโปรแกรม เริ่มต้น 35 °ซ. คงที่ 3 นาที จากนั้นเพิ่มขึ้น 3 °ซ./นาที จนได้ 70 °ซ. คงที่ 10 นาที เพิ่มขึ้น 8 °ซ./นาที จนได้ 200 °ซ. คงที่ 5 นาที และเพิ่มขึ้น 20 °ซ./นาที จนได้ 240 °ซ. สุดท้ายคงที่ 2 นาที หัวฉีดสารแบ่งทิ้งสัดส่วน 1:10 ตั้งอุณหภูมิหัวฉีดสารและส่วนเชื่อมต่อเข้าสู่ MS (transfer line) 230 °ซ. และ 250 °ซ. ตามลำดับ ส่วนของ MS เก็บข้อมูลแมสสเปกตรัมที่ได้ตั้งแต่เวลาที่ 0 ช่วงมวลสแกนเริ่มต้นจาก 30 ถึง 500 มวลต่อประจุ ผลข้อมูลแมสสเปกตรัมแต่ละพีค (peak) นำไปเทียบกับฐานข้อมูล Wiley10 และ NIST14 เพื่อระบุชนิดสารประกอบที่ระดับความเหมือนมากกว่า 70% (Stein, 2014)

4.2 การเตรียมสารละลายอ้างอิง และตัวอย่างเนื้อทุเรียน

การเตรียมสารละลายอ้างอิง (IS) คำนวณความเข้มข้น ดัดแปลงวิธีการจาก Ascharyaphotha et al. (2021) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดวาเลอริก (valeric acid) CAS#: 109-52-4 (Alfa aesar,

Massachusetts, USA) ความเข้มข้น 100 มก./ล. ปริมาตร 2 มล. ในตัวทำละลายน้ำปราศจากไอออน (DI) ในขวดเฮดสเปซขนาด 20 มล. เตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ โดยชั่งเนื้อทุเรียนสดแช่แข็งแต่ละตัวอย่างปริมาณ 2.0 ก. ใส่ในขวดเฮดสเปซฝาปิดสนิทขนาด 20 มล. วางไว้ในอุณหภูมิห้องทำการวิเคราะห์แยกกับสารละลายอ้างอิง (IS) ใช้ไฟเบอร์สำหรับดูดซับสารชนิด 50/30 ไมโครเมตร DVB/CAR/PDMS (p/n: SU57298U, Agilent technologies) ซึ่งให้ความไวการวิเคราะห์สารให้กลิ่นที่มวลโมเลกุลไม่สูงมากได้ดี และสามารถดูดซับได้ทั้งสารมีและไม่มีขี้ (Chin et al., 2007)

4.3 การสกัดสารให้กลิ่น

สกัดสารให้กลิ่น โดยนำตัวอย่างเนื้อทุเรียนสดแช่แข็ง (จากข้อ 4.2) มาทำให้อุณหภูมิสมดุลที่ 35 °ซ. กับตัวอย่างในขวดเฮดสเปซขนาด 30 นาที ใช้ไฟเบอร์แท่งทะเลชุบเพื่อดูดซับสารให้กลิ่นในขวดเฮดสเปซ นาน 30 นาที แล้วนำไฟเบอร์ที่ดูดซับสารไปคายการดูดซับที่หัวฉีดสารของเครื่อง GC-MS ที่อุณหภูมิ 230 °ซ. เป็นเวลา 2 นาที ทำการแยกองค์ประกอบด้วยเครื่อง GC และระบุชนิดด้วยแมสสเปกตรัมเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานอ้างอิง โดยทุกครั้งที่สกัดสารจะทำความสะอาดไฟเบอร์ด้วยความร้อนที่หัวทำความสะอาด (conditioning port) 15 นาที ทั้งก่อนและหลังการใช้งาน สำหรับการคำนวณความเข้มข้นของสารอินทรีย์ให้กลิ่นเพื่อการเปรียบเทียบกลิ่นที่ได้แต่ละสายพันธุ์ดัดแปลงจากวิธีของ Ascharyaphotha et al. (2021) แสดงดังสมการ

$$C_T = \frac{A_T \times V_{IS} \times C_{IS}}{A_{IS} \times W_s}$$

C_T	คือ ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่สนใจ หน่วย มก./กก.
A_T	คือ พื้นที่ใต้กราฟของสารที่ตรวจพบ (peak area)
V_{IS}	คือ ปริมาตรสารละลายอ้างอิงในขวดเฮตสเปซ หน่วย ล.
C_{IS}	คือ ความเข้มข้นสารละลายอ้างอิงในขวดเฮตสเปซ หน่วย มก./ล.
A_{IS}	คือ พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายอ้างอิง (peak area)
W_s	คือ น้ำหนักเนื้อทุเรียนที่ใช้ หน่วย กก.

สารอินทรีย์ที่ตรวจพบเทียบกับฐานข้อมูลของ Wiley และ NIST สามารถระบุชื่อสารประกอบอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้ตามเกณฑ์ความเหมือนมากกว่า 70% ซึ่งเป็นเกณฑ์ความเหมือนที่เหมาะสมตามสถาบันมาตรฐานและเทคโนโลยีแห่งชาติ ของสหรัฐอเมริกา (Stein, 2014) และนำพื้นที่ใต้กราฟของสารที่ตรวจพบคำนวณเป็นปริมาณความเข้มข้นเพื่อการเปรียบเทียบกับผลการของ Ascharyaphotha et al. (2021) แต่ละชนิดซึ่งเป็นการหาเชิงปริมาณด้วยการเทียบกับสารมาตรฐานอ้างอิง

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาตัวอย่างทุเรียนพันธุ์พื้นบ้าน 7 พันธุ์ มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเนื้อพร้อมบริโภค ดังนี้

1. สีของเนื้อทุเรียน

ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอของเนื้อทุเรียน พบว่า ทุเรียนพันธุ์สุปนาแสน พิกุลกลิ่น ไอ้เหลียงและเล็บเหยี่ยว มีเนื้อสีเหลืองเด่นชัดมากกว่าพันธุ์มุกตาอำ นมสาว และนมสด (Figure 1) ซึ่งสีเหลืองในเนื้อทุเรียนแสดงถึงปริมาณแคโรทีนอยด์ (Wisutiamonkul et al., 2017) และบ่งบอกลักษณะ

กายภาพที่ดีของทุเรียน (Charoensumran et al., 2021) จากภาพแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ เหลืองเข้มของพันธุ์สุปนาแสน พิกุลกลิ่น และไอ้เหลียง เหลืองของพันธุ์เล็บเหยี่ยว และเหลืองอ่อนของพันธุ์มุกตาอำ นมสาว และนมสด

จากการวิเคราะห์ค่าดัชนีความเหลืองเป็นค่าสีขาว-สีเหลือง (YI) ของทุเรียนพื้นบ้านทั้ง 7 พันธุ์ พบว่า มีความต่างของค่าสีอยู่ในช่วง 4.6–14.2 ผลรวมความต่าง 61.8 (Table 1) ค่า L^* มีความต่างในช่วง 0.02–5.8 โดยผลรวมความต่าง 10.8 ส่วนค่า a^* มีความต่างในช่วง 0.1–4.3 ผลรวมความต่าง 12.2 และค่า b^* ค่าความต่างอยู่ในช่วง 2.6–7.8 ผลรวมความต่าง 30.5 จากค่าความต่างของค่าสีที่วัดได้ และผลรวมความต่างที่ได้ในแต่ละค่าสี แสดงให้เห็นว่า ควรเลือกใช้ค่าสีแบบ YI ในการจำแนกทุเรียนพื้นบ้าน เนื่องจากให้ข้อมูลความแตกต่างที่ชัดเจน และสูงกว่าค่าสีแบบ b^* a^* และ L^* ตามลำดับ

จากค่าความต่างของค่าสีที่วัดได้ และผลรวมความต่างที่ได้ในแต่ละค่าสี แสดงให้เห็นว่า ควรเลือกใช้ค่าสีแบบ YI ในการจำแนกทุเรียนพื้นบ้าน เนื่องจาก ให้ข้อมูลความแตกต่างที่ชัดเจน และสูงกว่าค่าสีแบบ b^* a^* และ L^* ตามลำดับ

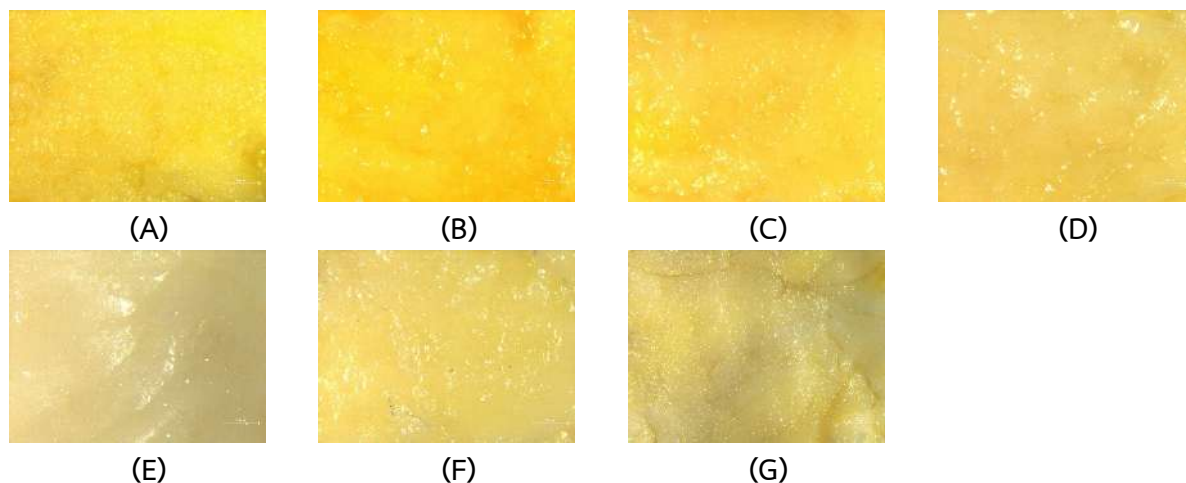


Figure 1 Color of ripe durian flesh of 7 local durian varieties from Songkhla province when observed under stereo microscope (Leica M20) 20X; (A) Supnasaen, (B) Phikunklin, (C) Aileuang, (D) Lepyiao, (E) Muktaam, (F) Nomsao, (G) Nomsod

Table 1 Mean $\pm$ SD (difference) of YI, L*, a* and b* color values obtained from local durians pulp of 7 varieties

Color	Local durian varieties						
value	Phikunklin	Supnasaen	Aileuang	Lepyiao	Nomsao	Nomsod	Muktaam
YI	93.7 $\pm$ 3.2 ¹	79.5 $\pm$ 3.4 ²	72.8 $\pm$ 2.7 ³	62.3 $\pm$ 1.8 ⁴	49.2 $\pm$ 3.7 ⁵	36.5 $\pm$ 1.0 ⁶	31.9 $\pm$ 1.0 ⁷
	(-)	(14.2)	(6.7)	(10.5)	(13.1)	(12.7)	(4.6)
L*	72.1 $\pm$ 0.9 ⁷	79.73 $\pm$ 0.9 ⁵	78.0 $\pm$ 1.8 ⁶	79.75 $\pm$ 5.1 ⁴	82.9 $\pm$ 0.7 ¹	80.0 $\pm$ 3.2 ²	79.8 $\pm$ 1.1 ³
	(5.8)	(0.02)	(1.8)	(0.04)	(-)	(2.9)	(0.2)
a*	11.8 $\pm$ 0.8 ¹	7.5 $\pm$ 0.6 ²	5.5 $\pm$ 0.6 ³	1.4 $\pm$ 0.1 ⁵	1.7 $\pm$ 0.4 ⁴	-0.27 $\pm$ 0.06 ⁶	-0.32 $\pm$ 0.06 ⁷
	(-)	(4.3)	(2.0)	(0.3)	(3.8)	(1.7)	(0.05)
b*	46.3 $\pm$ 2.1 ¹	42.3 $\pm$ 1.9 ²	37.8 $\pm$ 1.1 ³	33.6 $\pm$ 1.0 ⁴	25.8 $\pm$ 2.1 ⁵	18.4 $\pm$ 0.2 ⁶	15.8 $\pm$ 0.4 ⁷
	(-)	(4.0)	(4.5)	(4.2)	(7.8)	(7.4)	(2.6)

YI= yellow index, L*= lightness, a*=red-green intensity, b*= blue-yellow intensity

¹⁻⁷ Different superscript number indicate ranking order of decrease value within the same row

ค่าสี YI L* a* และ b* เป็นระบบวัดสีที่มีความสัมพันธ์กับการมองเห็นของมนุษย์ (Martin, 2015) การวัดค่าสีของทุเรียนพันธุ์ทั้ง 7 พันธุ์พบว่า ลักษณะเฉพาะของสีเนื้อทุเรียนมีความแตกต่างกันไปตามแต่ละพันธุ์ ทุเรียนพันธุ์พิกุลกลั่น มีค่า YI L* a* และ b* สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับอีก 6 พันธุ์ เมื่อเทียบกับรายงานของ Tifani et al.

(2018) ทุเรียนพันธุ์เพื่อการค้า ได้แก่ พันธุ์หมอนทอง และชะนี L* มีค่า 71.09 และ 72.98 a* มีค่า -3.40 และ 2.11 และ b* มีค่า 15.88 และ 26.72 ตามลำดับ L* ซึ่งใกล้เคียงกับทุเรียนพันธุ์พิกุลกลั่น ในขณะที่ยังอีก 6 พันธุ์มีค่า L* สูงกว่า พันธุ์พิกุลกลั่น สุปนาแสน ไอ้เหลื่อง มีค่า a* สูงกว่า ในขณะที่อีก 4 พันธุ์ มีค่า a* ใกล้เคียงทุเรียนพันธุ์

เพื่อการคำนวณค่า b^* ของพันธุ์พิกุลกลิน สุปนาแสน ไร้เปลือก เล็บเหยี่ยว มีค่าสูงกว่า ในขณะที่อีก 3 พันธุ์ มีค่าใกล้เคียงทุเรียนพันธุ์หมอนทอง และ ชะนี แสดงให้เห็นว่า กลุ่มพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้าน จ. สงขลาที่ศึกษาส่วนใหญ่มีความสว่างขาว (L^*) และความเหลือง (b^*) มากกว่าทุเรียนพันธุ์เพื่อการค้า

2. ปริมาณธาตุที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อทุเรียน

ทุเรียนพันธุ์สุปนาแสน มีปริมาณธาตุคาร์บอน และไฮโดรเจนสูงสุด 44.42 และ 7.04% ตามลำดับ (Table 2) พันธุ์นมสาวมีปริมาณไนโตรเจน

(1.49%) และซัลเฟอร์ (0.11%) สูงสุด ในขณะที่ ไร้เปลือกมีปริมาณออกซิเจนสูงสุด (48.12%) โดยน้ำหนัก ธาตุคาร์บอนมีปริมาณค่าที่สูงและแสดงค่าผลรวมความต่างมากกว่าไนโตรเจนและซัลเฟอร์ โดยมีผลรวมความต่าง 2.90 0.68 และ 0.078 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากปริมาณธาตุหากนำข้อมูลที่ได้อามาจำแนกทุเรียน ธาตุคาร์บอนเหมาะสมในการจำแนกทุเรียน ในขณะที่ไฮโดรเจนและออกซิเจนอาจมีผลรบกวนจากความชื้นในระหว่างการวิเคราะห์ (Oyinloye and Yoon, 2020) จึงไม่เหมาะในการนำมาจำแนกพันธุ์ทุเรียน

Table 2 Typical data on ultimate analysis of the components in local durian pulp

Durian varieties	Percent by dry weight, mean $\pm$ SD (difference)					
	Carbon	Hydrogen	Nitrogen	Sulfur	Oxygen	CHNS/O
Supnasaen	44.42 $\pm$ 0.20 ¹ (-)	7.04 $\pm$ 0.04 ¹ (-)	0.87 $\pm$ 0.01 ⁶ (0.07)	0.034 $\pm$ 0.002 ⁷ (0.013)	45.02 $\pm$ 0.06 ⁵ (0.21)	97.38
Lepyiao	43.54 $\pm$ 0.21 ² (0.88)	6.66 $\pm$ 0.03 ⁶ (0.03)	0.94 $\pm$ 0.01 ⁵ (0.04)	0.047 $\pm$ 0.002 ⁶ (0.003)	44.35 $\pm$ 0.04 ⁶ (0.67)	95.54
Phikunklin	43.44 $\pm$ 0.08 ³ (0.10)	6.99 $\pm$ 0.02 ² (0.05)	1.21 $\pm$ 0.01 ² (0.28)	0.050 $\pm$ 0.002 ⁵ (0.002)	45.27 $\pm$ 0.29 ³ (1.81)	96.96
Muktaam	42.85 $\pm$ 0.03 ⁴ (0.59)	6.89 $\pm$ 0.08 ³ (0.10)	0.98 $\pm$ 0.03 ⁴ (0.02)	0.089 $\pm$ 0.003 ² (0.023)	45.23 $\pm$ 0.22 ⁴ (0.04)	96.04
Nomsao	42.76 $\pm$ 0.05 ⁵ (0.09)	6.69 $\pm$ 0.02 ⁵ (0.02)	1.49 $\pm$ 0.02 ¹ (-)	0.11 $\pm$ 0.01 ¹ (-)	43.60 $\pm$ 0.12 ⁷ (0.75)	94.65
Nomsod	42.19 $\pm$ 0.08 ⁶ (0.57)	6.71 $\pm$ 0.01 ⁴ (0.18)	1.00 $\pm$ 0.02 ³ (0.21)	0.052 $\pm$ 0.004 ⁴ (0.004)	47.08 $\pm$ 0.10 ² (1.04)	97.03
Aileuang	41.52 $\pm$ 0.06 ⁷ (0.67)	6.57 $\pm$ 0.01 ⁷ (0.09)	0.81 $\pm$ 0.02 ⁷ (0.06)	0.056 $\pm$ 0.002 ³ (0.033)	48.12 $\pm$ 0.22 ¹ (-)	97.08

¹⁻⁷ Different superscript number indicate ranking order of decrease value within the same column

เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Zhou et al. (2021) ที่รายงานว่า พันธุ์ชะนี กระดุมทอง และ พวงมณี ที่จำหน่ายเชิงพาณิชย์ของประเทศไทย มีปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ ช่วง 42.07–44.15 0.66–3.38 และ 0.04–0.22% ตามลำดับ ผลการศึกษานี้ พบว่า เฉพาะพันธุ์

ไร้เปลือก มีปริมาณคาร์บอนต่ำกว่า คือ 41.52% และ สุปนาแสนปริมาณคาร์บอนสูงกว่า คือ 44.42% และปริมาณซัลเฟอร์ต่ำกว่า คือ 0.034% ในขณะที่ อีก 5 พันธุ์ %โดยน้ำหนักของธาตุอยู่ในช่วงเดียวกับสายพันธุ์เพื่อการค้า โดยข้อมูลองค์ประกอบสารอินทรีย์ที่ได้จากการศึกษาใกล้เคียงกับทุเรียน

พันธุ์เพื่อการค้าของประเทศไทย ซึ่งนอกจากจะเป็นประโยชน์ในการเป็นฐานข้อมูลของกลุ่มทุเรียนพื้นบ้านของ จ. สงขลา ข้อมูลองค์ประกอบสารอินทรีย์ยังเป็นประโยชน์ในการจำแนกทุเรียนจากแหล่งกำเนิด (Zhou et al., 2021) ของประเทศไทยได้ในเบื้องต้น

3. องค์ประกอบกลิ่น

3.1 ชนิดสารประกอบอินทรีย์ที่ตรวจพบ

องค์ประกอบของกลิ่นทุเรียนพื้นบ้านทั้ง 7 พันธุ์ ตามพีคแมสสเปกตรัมทั้งหมดที่ตรวจพบเทียบกับฐานข้อมูลของ Wiley และ NIST สามารถระบุชื่อสารประกอบอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มีชนิดสารอินทรีย์ระเหยง่ายซึ่งแสดงลักษณะของกลิ่นแตกต่างกันตามพันธุ์ทุเรียนระหว่าง 52-74 ชนิด โดยพันธุ์สุปนาแสน พิกุลกลิ่น ไอ้เหลื่อง เล็บเหยี่ยว มุกตาอำ นมสาว และนมสด พบชนิดสารอินทรีย์ระเหยง่ายจำนวน 74 65 60 72 53 52 และ 72 ชนิด ตามลำดับ ซึ่งจำแนกตามหมู่ฟังก์ชันได้ 11 11 13 12 13 12 และ 12 หมู่ฟังก์ชัน ตามลำดับ (Table 3)

3.2 ปริมาณสารอินทรีย์ตามชนิดหมู่ฟังก์ชัน

ลักษณะของกลิ่นที่แสดงออกมาของทุเรียนเป็นผลจากชนิดและความเข้มข้นสาร (Li et al., 2017) เมื่อนำความเข้มข้นของสารอินทรีย์แต่ละชนิดที่มีหมู่ฟังก์ชันเหมือนกันมาบวกกันจะได้ความเข้มข้นรวม (Table 3) แสดงจำนวนรวมของสารอินทรีย์มีหมู่ฟังก์ชันเหมือนกัน (number of compounds) ในแต่ละหมู่ฟังก์ชันของตัวอย่าง

โครงสร้างของสารอินทรีย์ที่มีหมู่ฟังก์ชันเดียวกัน จะแสดงลักษณะของกลิ่นที่คล้าย ๆ กัน และแสดงกลิ่นที่ต่างกันเมื่อมีหมู่ฟังก์ชันต่างกัน (Genva et al., 2019) เมื่อพิจารณาหมู่ฟังก์ชันที่พบเฉพาะในทุเรียนพื้นบ้านทั้ง 7 พันธุ์ พบว่า หมู่ฟังก์ชันแอลดีไฮด์ (aldehyde) กลิ่นหอมส้ม

(Genva et al., 2019) พบเฉพาะพันธุ์ไอ้เหลื่อง แอซีน (azine) ให้กลิ่นคาวเล็กน้อย (Sujang et al., 2023) พบเฉพาะพันธุ์มุกตาอำ ไดอีน (diene) กลิ่นหอมคล้ายข้าวโพด (Lu et al., 2023) พบในพันธุ์สุปนาแสน และเล็บเหยี่ยว อีเทอร์ (ether) ให้กลิ่นหอมและฉุนเล็กน้อยพบในพันธุ์นมสาว และนมสด ออกซาโซล (oxazole) ให้กลิ่นไหม้ (Sujang et al., 2023) พบในพันธุ์มุกตาอำ และนมสาว ไทอะโซล (thiazole) กลิ่นคล้ายเนื้อมีอย่าง (Tao et al., 2014) พบในพันธุ์ไอ้เหลื่อง และเล็บเหยี่ยว ไพราซีน (pyrazine) กลิ่นคล้ายพริกหยวก (Li et al., 2012) พบเฉพาะพันธุ์พิกุลกลิ่น แต่ไม่พบกำมะถัน (sulfur) ที่มีกลิ่นฉุนในพิกุลกลิ่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ที่เป็นกลิ่นคล้ายชีส (Li et al., 2012) ไม่พบในพันธุ์เล็บเหยี่ยว เทอร์ปีน (terpene) ที่เป็นกลิ่นหอมโรมา (Sommer et al., 2022) ไม่พบในพันธุ์สุปนาแสน และนมสาว

เห็นได้ว่าทุเรียนทั้ง 7 พันธุ์ มีชนิดของหมู่ฟังก์ชัน และปริมาณแตกต่างกัน ส่งผลให้มีกลิ่นที่เป็นลักษณะเฉพาะ (Figure 2) พบว่า พันธุ์สุปนาแสน พิกุลกลิ่น ไอ้เหลื่อง เล็บเหยี่ยว มุกตาอำ นมสาว และนมสด พบหมู่ฟังก์ชันของเอสเทอร์ ปริมาณ 710.1 623.8 336.6 182.9 116.7 94.4 52.8 มก./กก. ตามลำดับ และพบอัลไฟด์ปริมาณ 94.4 120.6 214.9 195.3 109.6 178.6 271.8 มก./กก. ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Soo (2019) และ Osman et al. (2022) รายงานว่า หมู่ฟังก์ชันที่ตรวจพบมากที่สุดสองอันดับแรกคือ เอสเทอร์สารกลุ่มให้กลิ่นหอมผลไม้ และอัลไฟด์สารกลุ่มให้กลิ่นฉุนคล้ายหัวหอม เมื่อพิจารณาสัดส่วนของหมู่ฟังก์ชันหลักทั้งสองซึ่งส่งผลต่อกลิ่นหลัก พันธุ์สุปนาแสน พิกุลกลิ่น ไอ้เหลื่อง สัดส่วนของหมู่

ฟังก์ชันเอสเทอร์มากกว่าหมู่ฟังก์ชันซัลไฟด์ พันธะ
 เล็บเหยี่ยว มุกตาอำ สัดส่วนเอสเทอร์และซัลไฟด์
 ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ พันธะนมสาว และนมสด
 สัดส่วนเอสเทอร์น้อยกว่าซัลไฟด์ และเมื่อพิจารณา
 ค่าสัดส่วนเอสเทอร์ต่อซัลไฟด์ของกลุ่มพันธุ์ทุเรียน
 พันธุ์บ้านของ จ. สงขลา ที่ศึกษาอยู่ในช่วง 5:1 ถึง
 1:5 (เอสเทอร์:ซัลไฟด์) ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับทุเรียน

พันธุ์เพื่อการค้า ได้แก่ พันธุ์ชะนี พันธุ์หมอนทอง
 และพันธุ์ก้านยาว มีสัดส่วนเอสเทอร์ต่อซัลไฟด์
 ที่แตกต่างกันที่สูงกว่ามาก คือ สัดส่วน 99:1
 (Ascharyaphotha et al., 2021) แสดงให้เห็นถึง
 ลักษณะกลิ่นเฉพาะตามหมู่ฟังก์ชันของกลุ่มทุเรียน
 พันธุ์บ้านของ จ. สงขลา

Table 3 The total concentrations (mg/kg) of organic group found in 7 local durians varieties

Organic group	Relative concentration group, mg/kg fresh weight (number of compounds)						
	Supnasaen	Phikunklin	Aileuang	Lepyiao	Muktaam	Nomsao	Nomsod
Alcohol	11.4 (7)	7.8 (7)	17.3 (8)	29.0 (11)	26.4 (6)	21.4 (8)	50.1 (10)
Aldehyde	nf	nf	2.1 (2)	nf	nf	nf	nf
Arene	0.6 (1)	0.4 (1)	1.7 (1)	3.4 (3)	3.1 (2)	2.9 (1)	0.7 (1)
Azine	nf	nf	nf	nf	0.3 (2)	nf	nf
Carboxylic.	18.2 (5)	1.0 (1)	3.2 (2)	nf	2.2 (3)	16.4 (1)	13.1 (5)
Diene	0.1 (1)	nf	nf	0.1 (1)	nf	nf	nf
Ester	710.1 (43)	623.8 (35)	336.6 (26)	182.9 (34)	116.7 (20)	94.4 (23)	52.8 (26)
Ether	nf	nf	nf	nf	nf	0.3 (1)	0.4 (1)
Ketone	12.6 (2)	5.0 (2)	27.1 (2)	40.8 (2)	10.7 (1)	50.9 (2)	27.5 (4)
Oxazole	nf	nf	nf	nf	0.3 (1)	1.8 (1)	nf
Pyrazine	nf	0.3 (2)	nf	nf	nf	nf	nf
Sulfide	94.4 (8)	120.6 (10)	214.9 (8)	195.3 (6)	109.6 (7)	178.6 (6)	271.8 (14)
Sulfur	0.3 (1)	nf	0.2 (1)	1.0 (1)	0.5 (1)	0.7 (1)	0.3 (1)
Terpene	nf	0.1 (1)	0.1 (1)	0.8 (2)	0.5 (3)	nf	0.1 (2)
Thiazole	nf	nf	0.3 (1)	0.7 (2)	nf	nf	nf
Thioate	0.1 (1)	0.1 (1)	0.6 (2)	0.8 (2)	6.2 (3)	10.4 (2)	1.1 (1)
Thiol	14.0 (3)	7.6 (2)	32.8 (4)	40.1 (5)	6.7 (2)	23.5 (4)	19.0 (4)
Trithiolane	4.1 (2)	7.1 (3)	7.2 (2)	16.0 (3)	1.7 (2)	0.6 (2)	7.6 (3)
All	865.9 (74)	773.8 (65)	643.9 (60)	510.8 (72)	284.8 (53)	401.7 (52)	444.3 (72)

Note: nf = Not found, Carboxylic. = Carboxylic acid, (X) = (number of compounds found in each organic group)

โครมาโทแกรมแสดงปริมาณ butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester ของทุเรียนพันธุ์ไอ้เหลื่อง ที่มีปริมาณมากกว่าพันธุ์เล็บเหยี่ยว (Figure 3) อย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสอดคล้องกับผลการประกวดทุเรียน ที่พิจารณาด้วยมนุษย์ ที่พันธุ์ไอ้เหลื่องสามารถชนะพันธุ์เล็บเหยี่ยวได้ (นิรนาม, 2566) หากเทียบกับทุเรียนพันธุ์ชะนี หมอนทอง และก้านยาวจากการศึกษาของ Ascharyaphotha et al.

(2021) ที่พบกลิ่นหลักของทุเรียนทั้งสามพันธุ์เป็นกลุ่มเอสเทอร์เกือบทั้งหมด แตกต่างกับพันธุ์ทุเรียนพันธุ์บ้าน จ. สงขลา ที่มีกลิ่นสารซัลไฟด์อยู่ลำดับต้น ๆ แต่ถ้าเปรียบเทียบเฉพาะเอสเทอร์พันธุ์สุปนาแสน พิกุลกลิ่น และไอ้เหลื่อง มีกลิ่นหอมเอสเทอร์จาก butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester และ butanoic acid, 2-methyl-, propyl ester อยู่ในปริมาณสูงเช่นเดียวกับทุเรียนพันธุ์ชะนี

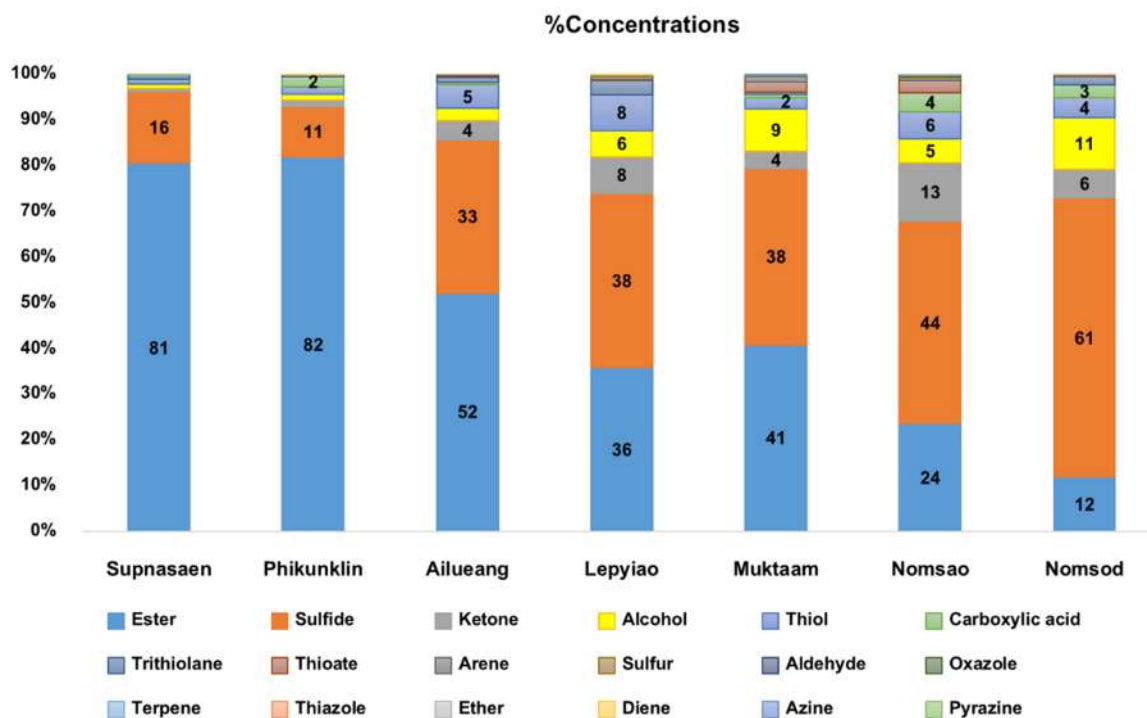


Figure 2 The percentage of odor compounds in each local durian variety

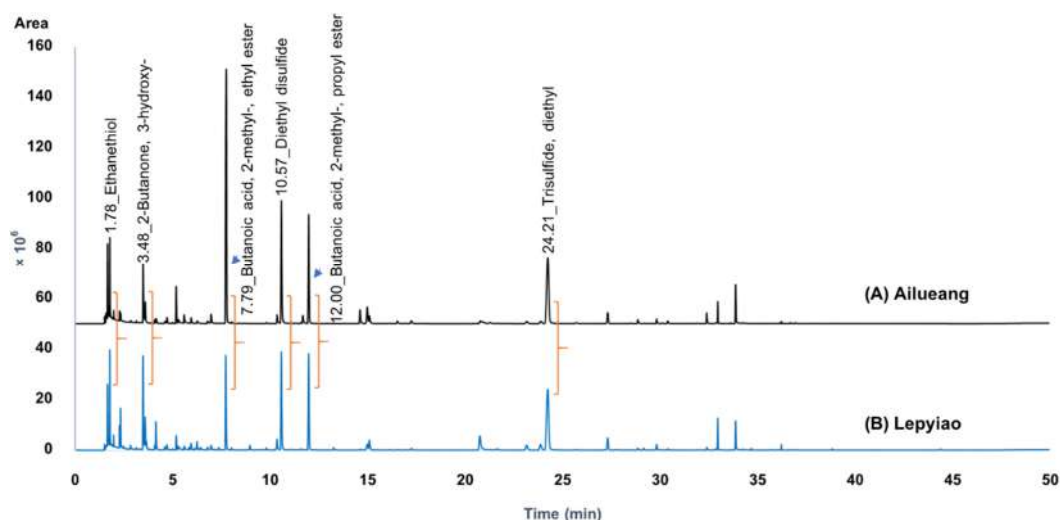


Figure 3 Concentration of volatile compound of (A) Ailueang and (B) Lepyiao durian samples analyzed by GC-MS chromatogram

3.3 ชนิดและสัดส่วนหลักของกลิ่นทุเรียน

เมื่อวิเคราะห์ตามชนิดและจัดเรียงตามปริมาณมากไปน้อย และเลือกแสดงชนิดเฉพาะที่มีปริมาณมากเป็นกลิ่นหลัก แต่ละพันธุ์มีกลิ่นที่เป็นลักษณะเฉพาะของหมู่ฟังก์ชัน ชนิดของสารหลัก และปริมาณสัดส่วนที่พบ แตกต่างกัน (Table 4) ดังนี้

ทุเรียนพันธุ์สุปนาแสน พบกลิ่นหลัก 2 หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ เอสเตอร์กลิ่นหอมผลไม้พบ 4 ชนิด สัดส่วนรวม 71.9% และซัลไฟด์กลิ่นฉุนคล้ายหัวหอม พบ 2 ชนิด สัดส่วนรวม 9.2% พันธุ์พิทุกลิ่น พบกลิ่นหลัก 2 หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ เอสเตอร์พบ 3 ชนิด สัดส่วนรวม 72.9% และซัลไฟด์พบ 1 ชนิด

สัดส่วน 7.2% ขณะที่พันธุ์ไอ้เหื่องพบกลิ่นหลัก 4 หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ เอสเตอร์พบ 2 ชนิด สัดส่วนรวม 42.5% พบอัลไพล์ 2 ชนิด สัดส่วนรวม 29.8% คีโตน กลิ่นคล้ายโยเกิร์ต (Chairat et al., 2022) พบ 1 ชนิด สัดส่วน 4.2% และไทออลที่มีกลิ่นฉุนแรง (Sujang et al., 2023) พบ 1 ชนิด สัดส่วน 4.1%

ทุเรียนพันธุ์เล็บเหยี่ยวพบกลิ่นหลัก 5 หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ อัลไพล์พบ 4 ชนิด สัดส่วนรวม 37.4% เอสเตอร์พบ 4 ชนิด สัดส่วนรวม 27.9% คีโตนพบ 1 ชนิด สัดส่วน 7.8% ไทออลพบ 1 ชนิด สัดส่วน 5.9% และแอลกอฮอล์กลิ่นคล้ายซ็อกโกแลต (Chairat et al., 2022) พบ 1 ชนิด สัดส่วน 2.5% ขณะที่ทุเรียนพันธุ์มุกตาอำพบกลิ่นหลัก 4 หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ อัลไพล์พบ 2 ชนิด สัดส่วนรวม 35.9% เอสเตอร์

พบ 4 ชนิด สัดส่วนรวม 35.0% แอลกอฮอล์พบ 2 ชนิด สัดส่วนรวม 6.4% และคีโตนพบ 1 ชนิด สัดส่วน 3.8%

ทุเรียนพันธุ์นมสาวพบกลิ่นหลัก 5 หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ อัลไพล์พบ 2 ชนิด สัดส่วนรวม 41.1% เอสเตอร์พบ 3 ชนิด สัดส่วนรวม 17.0% คีโตนพบ 1 ชนิด สัดส่วน 12.7% ไทออลพบ 1 ชนิด สัดส่วน 5.1% และกรดคาร์บอกซิลิก 1 ชนิด สัดส่วน 4.1% ขณะที่พันธุ์นมสดพบกลิ่นหลัก 6 หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ อัลไพล์พบ 3 ชนิด สัดส่วนรวม 56.2% แอลกอฮอล์พบ 2 ชนิด สัดส่วนรวม 7.9% เอสเตอร์พบ 2 ชนิด สัดส่วนรวม 7.5% คีโตนพบ 1 ชนิด สัดส่วน 4.5% ไทออลพบ 1 ชนิด สัดส่วน 3.1% และกรดคาร์บอกซิลิกพบ 1 ชนิด สัดส่วน 2.1%

Table 4 The main percentage concentrations of volatile organic compounds found in each local durian variety

Organic group	Compounds	Concentrations (%)						
		SS	PK	AL	LY	MA	NS	ND
Alcohol	1-Butanol, 2-methyl-							2.5
	1-Butanol, 3-methyl-				2.5			5.4
	2,3-Butanediol					3.5		
	1,3-Butanediol					2.9		
Carboxylic.	Butanoic acid, 2-ethyl-						4.1	
	Butanoic acid, 2-methyl-							2.1
Ester	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	38.0	46.7	31.2	10.5	16.3	5.3	2.4
	Butanoic acid, 2-methyl-, propyl ester	25.0	18.4	11.3	12.3	4.4		5.1
	Butanoic acid, 2-methyl-, methyl ester	5.3	7.8					
	Propanoic acid, ethyl ester	3.6			2.8	5.5	6.6	
	Acetic acid, ethyl ester				2.3	8.8	5.1	
Ketone	2-Butanone, 3-hydroxy-			4.2	7.8	3.8	12.7	4.5
Sulfide	Diethyl trisulfide	6.3		16.4	19.0		15.0	20.4
	Diethyl disulfide	2.9	7.2	13.4	13.0	33.3	26.1	25.6
	Methyl ethyl disulfide					2.6		
	Disulfide, ethyl 1-methylethyl				1.7			10.2
	2-Hydroxyethyl butyl sulfide				3.7			
Thiol	Ethanethiol			4.1	5.9		5.1	3.1
Sum		81.1	80.1	80.6	81.5	81.1	80.0	81.3

Note: Supnasaen (SS), Phikunklin (PK), Aileuang (AL), Lepyiao (LY), Muktaam (MA), Nomsao (NS), Nomsod (ND)

ผลจากการวัดปริมาณของสารอินทรีย์ให้กลิ่นที่แสดงด้วยการเปรียบเทียบความเข้มข้นกับสารละลายอ้างอิงตามสมการคำนวณที่สร้างขึ้นแสดงความเข้มข้นตามโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันที่มีอิทธิพลของกลิ่นกลุ่มทุเรียนพื้นบ้าน จ. สงขลา ที่พบ diethyl disulfide ปริมาณมากอยู่ในสัดส่วนกลิ่นหลัก (2.9–33.3%) และ พบ diethyl trisulfide ทุกสายพันธุ์ โดยพบในสัดส่วนกลิ่นหลัก 5 สายพันธุ์ (6.3–20.4%) และสัดส่วนกลิ่นรองในพันธุ์มุกตาอำ และพิกุลกลิ่น (1.0 และ 5.9% ตามลำดับ) แตกต่างจากงานวิจัยของ Ascharyaphotha et al. (2021) และ Chairat et al. (2022) ที่ศึกษาสารอินทรีย์ให้กลิ่นทุเรียนพันธุ์การค้า ได้แก่ พันธุ์ชะนี พันธุ์หมอนทอง และพันธุ์ก้านยาว ด้วยเทคนิค HS-SPME ตรวจวัดด้วยเครื่อง GC-MS ตรวจพบว่า diethyl disulfide มีปริมาณน้อย (<0.5%) และไม่พบ diethyl trisulfide ซึ่งปริมาณสารอินทรีย์หมู่ซัลไฟด์ที่พบของทั้งสองสารประกอบเป็นกลิ่นเฉพาะที่เด่นชัดของกลุ่มทุเรียนพันธุ์พื้นบ้าน จ. สงขลา

ในอนาคตควรมีการศึกษาลักษณะกลิ่นของทุเรียนพื้นบ้านเพิ่มเติมทั้งใน จ. สงขลา หรือจังหวัดอื่น ๆ ของประเทศไทย ด้วยวิธีการเดียวกันก็จะสามารถเปรียบเทียบผลวิเคราะห์กันได้ง่าย แม้วิธีการต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการระบุชนิดและโครงสร้างทางเคมีพร้อมการคำนวณความเข้มข้นสารอินทรีย์ เพื่อทำให้ผลผลิตทุเรียนพื้นบ้านมีคุณภาพสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้สามารถใช้คัดเลือกสายพันธุ์ทุเรียนที่ให้ปริมาณสารอินทรีย์ให้กลิ่นสูงจากเอสเตอร์ ซึ่งจะ เป็นประโยชน์ในการคัดเลือกและส่งเสริมการเพาะปลูกทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านที่มีสีและกลิ่นเป็นที่ต้องการของตลาด

สรุปผลการทดลอง

การศึกษากลุ่มทุเรียนพื้นบ้านจาก จ. สงขลา 7 พันธุ์ ด้วยเครื่องมือวิทยาศาสตร์ พบว่า วิธีการตรวจทางกายภาพโดยใช้ค่าดัชนีความเหลืองซึ่งเป็นสีแสดงความสุกน่ารับประทานของทุเรียน สามารถให้ข้อมูลความแตกต่างของพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านได้ชัดเจนดีที่สุด เหมาะสมในการจำแนกพันธุ์ทุเรียนในเบื้องต้นอย่างรวดเร็ว กว่าวิธีการตรวจหาปริมาณธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ และผลการตรวจแสดงให้เห็นว่า แม้กลุ่มทุเรียนพันธุ์พื้นบ้าน จ. สงขลาจะมีกลิ่นจากชนิดหมู่ฟังก์ชันและปริมาณสารอินทรีย์ที่แตกต่างกัน แต่องค์ประกอบกลิ่นหลักสองอันดับแรก คือ เอสเตอร์ และซัลไฟด์ แตกต่างกับสายพันธุ์เพื่อการค้าที่มีองค์ประกอบหลักเป็นเอสเตอร์เพียงอย่างเดียว ผลการศึกษานี้ทำให้สามารถจำแนกทุเรียนพื้นบ้านได้ในเชิงลึก สามารถบอกความต่างของหมู่ฟังก์ชัน ชนิดของสารหลัก และปริมาณสัดส่วนร้อยละที่พบ เป็นประโยชน์ในการเข้าใจและเปรียบเทียบกลิ่นของทุเรียนพื้นบ้านสายพันธุ์ต่าง ๆ และเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกทุเรียนพื้นบ้านเพื่อการแข่งขันหรือส่งเสริมการปลูกพันธุ์ที่มีสี และกลิ่นเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณกำราบ พานทอง เครือข่ายเกษตรกรรมทางเลือก และสหภาพการพันธุ์กรรมพื้นบ้านภาคใต้ คุณกิตติศักดิ์ ชูมาลี คณะแพทยศาสตร์ ผู้ตรวจสอบข้อมูล และคุณพรพจน์ หนูทอง ผู้ประสานงาน และรองศาสตราจารย์ อาชีชัน แกสमान ผู้อำนวยการสำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ

เอกสารอ้างอิง

- จรัสศรี นวลศรี กรกช นาคคนอง อมรรัตน์ จันทนอรพินท์
รวิรัชต์ รักขันธุ์ และสุภาณี ชนะวีรวรรณ. 2560.
การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและ
คัดเลือกพันธุ์ทุเรียนพื้นบ้านในเขตภาคใต้ของ
ประเทศไทย. หน้า 1-146. ใน: รายงานโครงการวิจัย
ฉบับสมบูรณ์ 2560. คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
นิรนาม. 2566. "ไอ้เหลือ" แชมป์เวที 5 ประกวด "เรียน
บ้าน" สงขลา. สงขลาโฟกัส. แหล่งข้อมูล: [https://
สงขลาโฟกัส.com/news/6425/กองฯเกษตรรอบจ-
สงขลารุก/](https://สงขลาโฟกัส.com/news/6425/กองฯเกษตรรอบจ-สงขลารุก/). สืบค้น: 10 ตุลาคม 2566.
- Ascharyaphotha, W., C. Wongs-Aree, K. Bodhipadma
and S. Noichinda. 2021. Fruit volatile fingerprints
characterized among four commercial cultivars
of Thai durian (*Durio zibethinus*). Journal of
Food Quality. 2021(1): 1-12.
- ASTM. 2021. Standard test methods for
determination of carbon, hydrogen and nitrogen
in analysis samples of coal and carbon in
analysis samples of coal and coke. American
Society for Testing and Materials. 1-11.
- Chairat, R., S. Lertsiri and K. Tananu Wong. 2022.
Volatile compound production and quality
characteristics of durian fruit cv. monthong as
affected by 1-methylcyclopropene and
modified atmosphere storage. International
Journal of Fruit Science. 22(1): 481-494.
- Charoensumran, P., K. Pratumyot, T. Vilaivan and
T. Praneenarat. 2021. Investigation of key
chemical species from durian peduncles and
their correlations with durian maturity.
Scientific Reports. 11(1): 1-9.
- Chin, S.T., N. Hamid, S.Y. Quek, Y.B. Man, R.A.
Rahman and D. Hashim. 2007. Analysis of
volatile compounds from Malaysian durians
(*Durio zibethinus*) using headspace SPME
coupled to fast GC-MS. Journal of Food
Composition and Analysis. 20: 31-44.
- Cullere, L., A. Escudero, J. Cacho and V. Ferreira.
2004. Gas chromatography-olfactometry and
chemical quantitative study of the aroma of
six premium quality spanish aged red wines.
Journal of Agricultural and Food Chemistry.
52: 1653-1660.
- De-la-fuente-blanco, A. and V. Ferreira. 2020. Gas
chromatography olfactometry (GC-O) for the
(Semi) quantitative screening of wine aroma.
Foods. 9(12): 1-20.
- Firdaus, A., M.A. Samah and K.B. Hamid. 2018.
CHNS analysis towards food waste in
composting. Journal CleanWAS. 2(1): 6-10.
- Genva, M., T.K. Kemene, M. Deleu, L. Lins and
M.L. Fauconnier. 2019. Is it possible to
predict the odor of a molecule on the basis
of its structure?. International Journal of
Molecular Sciences. 20(12): 1-16.
- Khaksar, G., S. Kasemcholathan and S. Sirikantaramas.
2024. Durian (*Durio zibethinus* L.): Nutritional
composition, pharmacological implications,
value-added products, and omics-based
investigations. Horticulturae. 10(4): 1-23.
- Li, J.X., P. Schieberle and M. Steinhaus. 2012.
Characterization of the major odor-active
compounds in Thai durian (*Durio zibethinus* L.
'Monthong') by aroma extract dilution analysis
and headspace gas chromatography-
olfactometry. Journal of Agricultural and
Food Chemistry. 60(45): 11253-11262.
- Li, J.-X., P. Schieberle and M. Steinhaus. 2017.
Insights into the key compounds of durian
(*Durio zibethinus* L. 'Monthong') pulp odor
by odorant quantitation and aroma simulation
experiments. Journal of Agricultural and Food
Chemistry. 65(3): 639-647.

- Lu, L., Z. Hu, C. Fang and X. Hu. 2023. Characteristic flavor compounds and functional components of fragrant rice with different flavor types. *Foods*. 12(11): 2185 - 2195.
- Martin, A. 2015. 4.4 Lab colour space and delta E measurements. Available at: <https://opentextbc.ca/graphicdesign/chapter/4-4-lab-colour-space-and-delta-e-measurements>. Accessed: February 18, 2024.
- Osman, C.P., N. Kasim, N.S. Salim and N. Aziz. 2022. Discrimination of 11 Malaysian durian cultivars based on sulfur-containing volatiles and esters using multivariate data analysis. *Natural Product Communications*. 17(1): 1-8.
- Oyinloye, T.M. and W.B. Yoon. 2020. Effect of freeze-drying on quality and grinding process of food produce: A review. *Processes*. 8(3): 1-23.
- Radchanui, C. and P. Keawwongsri. 2017. Pattern and production of durian in Saikhao community, Kokpho district, Pattani province. *International Journal of Agricultural Technology*. 16(6): 791-812.
- Sommer, S., L.M. Lang, L. Drummond, M. Buchhaupt, M.A. Fraatz and H. Zorn. 2022. Odor characteristics of novel non-canonical terpenes. *Molecules*. 27(12): 1-15.
- Soo, J. 2019. Volatile esters and sulfur compounds in durians and a suggested approach to enhancing economic value of durians. *Malaysian Journal of Sustainable Agriculture*. 3: 5-15.
- Stein, S.E. 2014. NIST Standard Reference Database 1A. The NIST mass spectrometry data center. 76 p.
- Sujang, G.B., S.D. Ramaiya, N. Saupi and S.Y. Lee. 2023. Profiling of volatile organic compounds (VOCs) of wild edible durians from Sarawak, Borneo associated with its aroma properties. *Horticulturae*. 9(2): 1-17.
- Tao, N.-P., R. Wu, P.-G. Zhou, S.-Q. Gu and W. Wu. 2014. Characterization of odor-active compounds in cooked meat of farmed obscure puffer (*Takifugu obscurus*) using gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(4): 431-438.
- Tifani, K.T., L.P.E. Nugroho and N. Purwanti. 2018. Physicochemical and sensorial properties of durian jam prepared from fresh and frozen pulp of various durian cultivars. *International Food Research Journal*. 25: 826-834.
- Toledo, M. 2023. CHNSO elemental analysis – sample preparation. Available at: https://www.mt.com/in/en/home/applications/Laboratory_weighing/chnso_elemental_analysis.html#overviewaf. Accessed: October 10, 2023.
- Wisutiamonkul, A., C. Ampomah-Dwamena, A.C. Allan and S. Ketsa. 2017. Carotenoid accumulation and gene expression during durian (*Durio zibethinus*) fruit growth and ripening. *Scientia Horticulturae*. 220: 233-242.
- Wisuwat, S., A. Pichakum, P. Traiperm, E. Rungjangsuwan, U. Siri Wattanakul, N. Leeratsuwan, P. P. Chareonsap, K. Kulpradit, S. Somsri and S.C. Swangpol. 2019. Diversity of durian (*Durio zibethinus* L.) from Nonthaburi, Thailand based on morpho-palatability characteristics and simple sequence repeat markers. *Agriculture and Natural Resources*. 53(3): 218-227.
- Zhou, X., H. Wu, J. Pan, H. Chen, B. Jin, Z. Yan, L. Xie and K. Rogers. 2021. Geographical traceability of south-east Asian durian: A chemometric study using stable isotopes and elemental compositions. *Journal of Food Composition and Analysis*. 101: 1-8.

ผลของวัสดุห่อผลต่อผลผลิตและคุณภาพอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮี
Effects of Fruit Bagging Materials on Yield and Fruit Quality of
‘Barhee’ Date Palm

สุมิตร วิลัยพร^{1/*} ศิริกานต์ ศรีธัญรัตน์^{2/} ศิริลักษณ์ อินทวงค์^{1/}
Sumit Wilaiporn^{1/*} Siragan Srithanrat^{2/} Siriluck Inthawong^{1/}

Received 28 Mar. 2024/Revised 15 Aug. 2024/Accepted 21 Aug. 2024

ABSTRACT

Fruit bagging is an important factor for increasing the quality of date palm yield. This experiment was conducted to investigate the effects of fruit bagging materials on yield and fruit quality of date palm variety “Barhee” at farmer's orchard in Fang district, Chiang Mai province in 2023. The experiment used randomized complete block design with five replications. Four treatments were investigated: 1) non- bagging, 2) transparent plastic bag, 3) blue plastic bag and 4) brown paper bag. Date palm fruits were thinned and covered with three different bags at the age of 2 months after pollination. The fruit samples were investigated for physical and quality changes. We found that using blue plastic bag or brown paper bag or transparent plastic bag resulted in larger fruit size, weighing 14.03-15.49 g, seed length 22.04-22.19 mm, seed weight 1.30-1.35 g, bunch weight 7.45-8.72 kg, number of fruits per bunch 561.5-676.5 and pulp weight 12.70-14.14 g which were significantly higher than non-bagging treatment with fruit weight 11.97 g, seed length 20.45 mm, seed weight 1.21 g, bunch weight 1.1 kg, number of fruits per bunch 74.33 and pulp weight 10.76 g. Bagging with blue plastic bag or brown paper bag or transparent plastic bag could similarly decrease damages caused by disease, insects, fruit cracking and birds better than non-bagging. Moreover, blue plastic bag and brown paper bag also improved peel color to dark yellow throughout bunch and extended harvesting period which were better than transparent plastic bag and non-bagging. There were no differences in TSS and brown seed coloration between bagging or non-bagging. Overall, blue plastic bag was recommended for Barhee

^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ 270 หมู่ 6 ต.โป่งน้ำร้อน อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ 50110

^{1/} Chiang Mai Agricultural Research and Development Center, 270 Moo 6, Pong Nam Ron, Fang, Chiang Mai 50110, Thailand

^{2/} กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร 50 ถ.พหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

^{2/} Postharvest and Processing Research and Development Division, 50 Phahonyothin Rd., Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author: sumit_200@hotmail.com

date palm fruit bagging because this treatment could improve fruit quality, reduce fruit damage, extend harvesting period and be economical than other bagging treatments.

Keywords: date palm; Barhee; bagging; quality; yield

บทคัดย่อ

การห่อหุ้มผลไม้เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มคุณภาพผลผลิตอินทผลัม จึงทำการทดลองศึกษาวัสดุห่อหุ้มต่อผลผลิตและคุณภาพอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮี ซึ่งเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย ดำเนินการในแปลงเกษตรกรที่ อ. ฝาง จ. เชียงใหม่ ปี พ.ศ. 2566 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ได้แก่ 1) ไม่ห่อหุ้ม 2) ถุงพลาสติกใส 3) ถุงพลาสติกสีฟ้า และ 4) ถุงกระดาษสีน้ำตาล โดยห่อหุ้มผลไม้หลังจากแต่งห่อหุ้มเมื่ออายุ 2 เดือนหลังผสมเกสร บันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและคุณภาพผล พบว่า การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้า ถุงกระดาษสีน้ำตาล และถุงพลาสติกใสห่อหุ้มผลไม้ อินทผลัม ทำให้มีขนาดของผลใหญ่ขึ้น โดยมีน้ำหนักผล 14.03-15.49 ก. ความยาวเมล็ด 22.04-22.19 มม. น้ำหนักเมล็ด 1.30-1.35 ก. น้ำหนักห่อหุ้ม 7.45-8.72 กก. จำนวนผล 561.5-676.5 ผล/ห่อ และน้ำหนักเนื้อผล 12.70-14.14 ก. ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ห่อหุ้มที่มีน้ำหนักผลเพียง 11.97 ก. ความยาวเมล็ด 20.45 มม. น้ำหนักเมล็ด 1.21 ก. น้ำหนักห่อหุ้ม 1.10 กก. จำนวนผล 74.33 ผล/ห่อ และน้ำหนักเนื้อผล 10.76 ก. และลดความเสียหายจากโรคแมลงผลแตก และนกได้ใกล้เคียงกัน แต่ดีกว่าการไม่

ห่อหุ้ม นอกจากนี้ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลสามารถพัฒนาสีผิวผลเป็นสีเหลืองเข้มสม่ำเสมอทั่วทั้งห่อหุ้ม และยืดอายุเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ดีกว่าการห่อหุ้มผลไม้ด้วยถุงพลาสติกใส และการไม่ห่อหุ้ม การห่อหุ้มผลไม้และไม้ห่อหุ้มทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ และสีเมล็ดเป็นสีน้ำตาลไม่แตกต่างกัน ผลการทดลองในภาพรวมแสดงให้เห็นว่า ถุงพลาสติกสีฟ้ามีความเหมาะสมในการห่อหุ้มอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮีมากที่สุด เนื่องจากสามารถเพิ่มคุณภาพผล ลดความเสียหายของผลผลิต ยืดอายุการเก็บเกี่ยว และมีต้นทุนต่ำกว่าถุงชนิดอื่น

คำสำคัญ: อินทผลัม; บาร์ฮี; ห่อหุ้ม; คุณภาพ; ผลผลิต

บทนำ

อินทผลัม (date palm) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phoenix dactylifera* L. เป็นไม้ผลชนิดใหม่ของไทยที่กำลังได้รับความนิยมและมีความต้องการของตลาดเพิ่มขึ้น เนื่องจากผลมีรสชาติหวานอร่อยและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ จึงน่าจะเป็นพืชที่สามารถพัฒนาเป็นพืชเศรษฐกิจใหม่อีกชนิดหนึ่งในอนาคตได้ ทำให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูกอินทผลัมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในปี พ.ศ. 2566 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอินทผลัม 10,489 ไร่ จากเกษตรกรผู้ปลูก 2,044 ครัวเรือน ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้ 6,277 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 1,675 กก./ไร่ และราคาขายเฉลี่ย 227 บาท/กก. คิดเป็นมูลค่า 1,425 ล้านบาท โดยมีแหล่งปลูกสำคัญ ได้แก่ จ. กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ขอนแก่น และเพชรบูรณ์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566) เกษตรกรนิยมปลูกอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮี (Barhee) คิดเป็น 95% เนื่องจากเป็นกลุ่มพันธุ์

รับประทานผลสดที่เหมาะสมสำหรับปลูกในประเทศ

คุณภาพผลผลิตอินทผลัมที่ดีมาจากปัจจัยพื้นฐานสำคัญ คือ การดูแลและรักษาดันให้สมบูรณ์แข็งแรง การห่อหุ้มผล (bunch) ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญเนื่องจากการห่อหุ้มผลช่วยพัฒนาขนาดผล น้ำหนักผล ความหวาน สีผิวผลให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค และลดความเสียหายของผลผลิต (Karim, 2005) การห่อหุ้มอินทผลัมทำได้โดยการใช้วัสดุหลายชนิด เช่น กระดาษ ผ้า ตาข่าย พลาสติก ซึ่งมักปฏิบัติร่วมกับการตัดก้านห่อหุ้ม (stalk) ตั้งแต่ระยะผลอ่อนเพื่อความสะดวกในการห่อหุ้มผล หรือห่อหุ้มดอกทันทีหลังผสมเกสรด้วยถุงขนาดเล็กเพื่อเพิ่มการติดผล ป้องกันฝน และแมลง หรือเมื่อผลอายุ 2 เดือนหลังผสมเกสร การห่อหุ้มผลด้วยถุงหลังจากแต่งห่อหุ้มช่วยให้การเจริญเติบโต การติดผลดีขึ้น ผลสุกสม่ำเสมอ ลดการร่วงของผล สีผิวผลสวยงามและสม่ำเสมอ ลดรอยแตกของผล อาการถูกแดดเผา นอกจากนี้ยังช่วยลดความชื้น การเปียกฝน ลดการทำลายของโรคและแมลง

มีรายงานผลการศึกษาวัดห่อหุ้มอินทผลัมพันธุ์ต่าง ๆ เช่น การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้าห่อหุ้มอินทผลัมพันธุ์ซุคคารี และคาลาส สามารถเพิ่มปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids) และเพิ่มปริมาณน้ำตาลในผล (Al-Obeed and Harhash, 2010) การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้าห่อหุ้มอินทผลัมพันธุ์ฮาลาลีไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดผล น้ำหนักผล และคุณภาพ แต่ทำให้ผลสุกเร็วขึ้น (Mohamed, 2007) และ การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้าห่อหุ้มอินทผลัมพันธุ์เชวีมีน้ำหนักห่อหุ้ม น้ำหนักผล น้ำหนักเนื้อผลเพิ่มขึ้น และผลสุกเร็วขึ้น (Mostafa et al., 2014) รวมถึง

การใช้ถุงกระดาษสีน้ำตาลห่อหุ้มอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮีมีน้ำหนักผล ขนาดผล และน้ำหนักเนื้อผลเพิ่มขึ้น (Karim, 2005; Mohamed and Al-Qurashi, 2012) และ การใช้ถุงกระดาษสีน้ำตาลห่อหุ้มอินทผลัมพันธุ์ฮาลาลี สามารถเพิ่มน้ำหนักผลแห้ง น้ำตาล และผลสุกเร็วขึ้น (Hussein, 2010) นอกจากนี้ การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงพลาสติกใสห่อหุ้มอินทผลัมพันธุ์ชุกกลูสามารถช่วยเพิ่มน้ำหนักผล ขนาดผล น้ำหนักห่อหุ้ม น้ำหนักผลผลิต ลดรอยแตกที่ผิว และเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เร็วขึ้น (Kassem et al., 2010; Kassem et al., 2011) เนื่องจากวิธีการห่อหุ้มอินทผลัมของเกษตรกรในประเทศไทยส่วนมากยังไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร และการไม่ห่อหุ้มอินทผลัมทำให้ผลผลิตเสียหายและมีคุณภาพต่ำ ดังนั้น จึงทำการศึกษานี้ของวัสดุห่อหุ้มต่อปริมาณและคุณภาพของอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮี ซึ่งเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ ได้มาตรฐานสินค้าเกษตร และเป็นคำแนะนำการปลูกอินทผลัมที่เหมาะสมในประเทศไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมพืชทดสอบ

ดำเนินการทดลองที่แปลงอินทผลัมของเกษตรกร อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ในปี พ.ศ. 2566 โดยทดสอบกับต้นอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮีอายุ 5 ปี ปลูกในดินร่วนปนทราย จำนวน 40 ต้น ที่มีความสม่ำเสมอ มีโรคและแมลงเข้าทำลายเพียงเล็กน้อย เมื่อดอกบานในช่วงเดือน ก.พ. - ม.ค. จึงทำการผสมเกสรด้วยมือ การปฏิบัติด้านเขตกรรม ทุกต้นปฏิบัติตามวิธีการของเกษตรกรทุกขั้นตอน เมื่อผลมีอายุ 2 เดือนหลังผสมเกสรทำการตัดห่อหุ้มทุกต้นให้เหลือเพียง 6 ห่อหุ้ม/ต้น ในการตัดห่อหุ้มทั้งพิจารณาตัด

ช่อดอกแรก หรือช่อที่ออกดอกหลังสุด ช่อเล็กที่สุด หรือช่อไม่สมบูรณ์ จากนั้นจึงแต่งช่อผลด้วยการ ปลิดผลด้วยมือออกประมาณ 50% แล้วพ่นสาร อะซอกซีสโตรบิน (azoxystrobin) อัตรา 5 มล./น้ำ 20 ล. ผสมไทอะมีโทกแซม (thiamethoxam) อัตรา 2.5 ก./น้ำ 20 ล. เพื่อป้องกันกำจัดโรคและ แมลงก่อนการห่อช่อผล

2. การเปรียบเทียบวัสดุห่อผลต่อผลผลิตและ คุณภาพของอินทผลัม

2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อก สมบูรณ์ 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ หน่วยทดลองละ 2 ต้น ประกอบด้วย 1) ไม่ห่อช่อผลเป็นชุดควบคุม 2) ห่อ ช่อผลด้วยถุงพลาสติกใส ชนิดพอลิเอทิลีน (PE) หนา 0.15 มม. 3) ห่อช่อผลด้วยถุงพลาสติกสีฟ้า (HDPE) หนา 0.05 มม. และ 4) ห่อช่อผลด้วยถุง กระดาษสีน้ำตาล (เคลือบแว็กซ์กันน้ำยี่ห้อซุนฟง

หนา 0.08 มม.) ใช้ถุงห่อช่อผลขนาด 80x90 ซม. และห่อช่อผลด้วยวัสดุเพียง 1 กรรมวิธีใน 1 ต้น (Figure 1) เก็บเกี่ยวอินทผลัมในระยะผลสด (khalal stage) ซึ่งมีลักษณะดังนี้ ผลอินทผลัมมีสี เหลืองเข้ม เนื้อกรอบ มีรสหวานมาก และรสฝาด น้อย บันทึกข้อมูลวันที่ผสมเกสร และวันเก็บเกี่ยว สำหรับการคำนวณอายุเก็บเกี่ยวผลผลิต เก็บเกี่ยว เมื่อผลอินทผลัมมีสีเหลืองเข้มสม่ำเสมอทั่วทั้งช่อผล ผลสดเริ่มร่วง และอายุผลประมาณ 170 วันหลัง ผสมเกสร การเข้าทำลายของโรค แมลง สัตว์ รอย แตก และรอยขีดข่วน จากการสุ่มตัวอย่าง 5 ซ้ำ (ต้น) ซ้ำละ 5 ช่อผล ช่อผลละ 20 ผลต่อช่อผล ต้นทุนวัสดุห่อผล

บันทึกข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้นแสง และความชื้นสัมพัทธ์ ภายในถุงห่อและภายนอกถุงห่อ พร้อมกันด้วยเทอร์โมมิเตอร์และไฮโกรมิเตอร์แบบ ดิจิทัล ลักซ์มิเตอร์ยี่ห้อ UNI-T UT383 ในฤดูร้อน ฤดูฝนช่วงเวลา 13.00 น. และมีแสงแดด



Figure 1 ‘Barhee’ date palm bunch at 90 days after pollination covered with 3 fruit bagging materials; (a) transparent plastic bag, (b) blue plastic bag, (c) brown paper bag and (d) non bagging

2.2 การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ

วัดขนาดผล ขนาดเมล็ด ชั่งน้ำหนักผล น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักเนื้อผล นับจำนวนผลต่อช่อผล น้ำหนักช่อผล วัดสีผิวด้วยเครื่องวัดสียี่ห้อ Linshang รุ่น LS171

2.3 การเปรียบเทียบคุณภาพของผลผลิต

หาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS) ด้วยเครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์ยี่ห้อ ATAGO รุ่น PAL-1 จากการสุ่มตัวอย่าง 5 ซ้ำ (ต้น) ซ้ำละ 5 ช่อผล ช่อผลละ 20 ผลต่อช่อผล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วย SPSS 26

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะทางกายภาพ

1.1 ขนาดและน้ำหนักผล ขนาดและน้ำหนักเมล็ด

การห่อหุ้มผลอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮีด้วยวัสดุชนิดต่าง ๆ พบว่า การห่อด้วยถุงพลาสติกใส ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาล ทำให้ความกว้าง ความยาว และน้ำหนักผลมีค่ามากกว่า และแตกต่างทางสถิติกับการไม่ห่อหุ้มผล (Table 1) ถุงพลาสติกใส ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาล ทำให้ผลอินทผลัมมีความกว้างผลไม่แตกต่างกันทางสถิติมีค่า 28.48 27.14 และ 27.07 มม. ตามลำดับ แต่กว้างกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับการไม่ห่อหุ้มผลที่มีค่า 24.21 มม. ถุงพลาสติกสีฟ้า ถุงพลาสติกใส และถุงกระดาษสีน้ำตาลส่งผลให้ความยาวผลอินทผลัมใกล้เคียงกันมีค่า 35.30 35.19 และ 34.12 มม. ตามลำดับ และการไม่ห่อ

ห่อหุ้มผลมีค่าน้อยที่สุด 32.03 มม. เช่นเดียวกับ น้ำหนักผลที่เพิ่มขึ้นในผลที่ห่อด้วยถุงพลาสติกใส ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลมีค่า 15.49 14.43 และ 14.03 ก. ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างวัสดุห่อหุ้ม ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Awad and Al-Qurashi (2012) และ Karim (2005) ที่รายงานว่า การใช้ถุงกระดาษสีน้ำตาลห่อหุ้มผลอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮี ให้ความยาวผล น้ำหนักผล และ น้ำหนักเนื้อผลสูงขึ้น ขณะที่ Harhash and Al-Obeed (2010) พบว่า การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้า ห่อหุ้มผลอินทผลัมพันธุ์ซูการ์ และคาลาส สามารถเพิ่มขนาดผล น้ำหนักผล และน้ำหนักเนื้อผลได้ ขณะที่ถุงพลาสติกใสทำให้อินทผลัมพันธุ์ชุกกูมีขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตเพิ่มขึ้นเช่นกัน (Kassem et al., 2010) ทั้งนี้ อาจมีสาเหตุมาจากการใช้วัสดุทั้ง 3 ชนิด ห่อหุ้มผลอินทผลัม ช่วยปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของผลอินทผลัมมากขึ้น

การใช้ถุงพลาสติกใส ถุงกระดาษสีน้ำตาล และถุงพลาสติกสีฟ้าห่อหุ้มผล ให้ความกว้างเมล็ดมีค่า 10.71 10.10 และ 9.95 มม. ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเมล็ดที่ไม่มีการห่อหุ้มผลซึ่งมีความกว้างน้อยที่สุด 8.65 มม. เช่นเดียวกับความยาวเมล็ด การไม่ห่อหุ้มผลมีความยาวเมล็ดน้อยที่สุด 20.45 มม. ขณะที่การห่อหุ้มผลด้วยถุงพลาสติกสีฟ้า ถุงกระดาษสีน้ำตาล และถุงพลาสติกใสความยาวเมล็ดเพิ่มขึ้นมีค่า 22.65 22.19 และ 22.04 มม. ตามลำดับ การห่อหุ้มผลด้วยถุงพลาสติกใส ถุงกระดาษสีน้ำตาล และถุงพลาสติกสีฟ้าน้ำหนักเมล็ดมีค่า 1.35 1.32 และ 1.30 ก. ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ห่อหุ้มผล (Table 1)

1.2 น้ำหนักช่อผล จำนวนผล น้ำหนักเนื้อผล

วัสดุห่อผลทั้ง 3 ชนิด ทำให้ออกผลมีน้ำหนักช่อผลเพิ่มขึ้นมีค่า 8.72 8.70 และ 7.45 กก. ตามลำดับ มากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ห่อช่อผลซึ่งมีค่า 1.1 กก. (Table 2) เช่นเดียวกับจำนวนผลต่อช่อผลที่ห่อด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล ถุงพลาสติกใส และถุงพลาสติกสีฟ้าซึ่งมีค่า 676.5 617.0 และ 561.5 ผล/ช่อผลตามลำดับ ขณะที่การไม่ห่อช่อผลมีจำนวนผลน้อยที่สุด 74.33 ผล/ช่อผล นอกจากนี้ วัสดุห่อผลทั้ง 3 ชนิด ทำให้น้ำหนักเนื้อผล และเปอร์เซ็นต์เนื้อผลต่อผลเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ การไม่ห่อช่อผล โดยถุงพลาสติกใส ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลทำให้น้ำหนักเนื้อผลมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ห่อช่อผลมีค่า 14.14 13.13 12.70 และ 10.76 ก. ตามลำดับ ผลอินทผลัมที่ห่อด้วยถุงพลาสติกใสมีสัดส่วนเนื้อผลสูงสุด 91.26% รองลงมา ได้แก่ ผลที่ห่อด้วยถุงพลาสติกสีฟ้า ถุงกระดาษสีน้ำตาล และการไม่ห่อมีค่า 90.92 90.53 และ 89.78% ตามลำดับ วัสดุห่อผลช่วยลดความเสียหายจากฝน ศัตรูพืช โดยเฉพาะความชื้นจากน้ำฝนเป็นสาเหตุหลักของผลแตก ผลเน่าและผลร่วงในที่สุด ส่งผลต่อน้ำหนักช่อผล และจำนวนผลต่อช่อผล สอดคล้องกับ Dawoud and El-Rauof (2022) ที่รายงานว่า ถุงกระดาษสีน้ำตาลทำให้อินทผลัมพันธุ์บาร์ฮี และเมตจูลมีจำนวนผลต่อช่อผล และผลผลิตสูงกว่าการไม่ห่อผล และการใช้ถุงพลาสติกสีฟ้าทำให้น้ำหนักช่อผลเพิ่มขึ้นในอินทผลัมพันธุ์ซุคารี คาลาส (Harhash and Al-Obeed, 2010) และเชวี (Mostafa et al., 2014)

1.3 สีผิวผล และสีเมล็ด

สีผิวผลพัฒนาเป็นสีเหลืองเข้มสม่ำเสมอทั้งภายในและภายนอกช่อผล เมื่อห่อด้วยถุงพลาสติกสี

ฟ้าและถุงกระดาษสีน้ำตาล ขณะที่การใช้ถุงพลาสติกใส และการไม่ห่อช่อผล ทำให้ผลอินทผลัมได้รับแสงแดดเต็มที่จึงส่งผลต่อการพัฒนาสีผิวเป็นสีเหลืองส้ม และไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งช่อผล (Figure 2) โดยถุงกระดาษสีน้ำตาล และถุงพลาสติกสีฟ้ามีค่าความสว่างสูง L^* มีค่า 68.98 และ 67.77 ตามลำดับ ถุงพลาสติกใส และการไม่ห่อผลมีค่า 63.68 และ 62.96 ตามลำดับ ถุงพลาสติกใสทำให้ค่าสีแดงเพิ่มขึ้น a^* มีค่า 8.97 รองลงมาได้แก่ การไม่ห่อผล การห่อด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาล และถุงพลาสติกสีฟ้าซึ่งมีค่า a^* 8.39 6.92 และ 5.91 ตามลำดับ (Table 3) การห่อด้วยถุงพลาสติกใสมีผลต่อค่าสีเหลืองเข้มขึ้น b^* มีค่า 47.7 รองลงมาคือ การไม่ห่อผล การห่อด้วยถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลมีค่า b^* 46.42 43.45 และ 41.99 ตามลำดับ การห่อถุงพลาสติกใส และการไม่ห่อผลทำให้ chroma สูงใกล้เคียงกันมีค่า 48.71 และ 47.7 ตามลำดับ สูงกว่าการห่อด้วยถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลที่มีค่า 43.46 และ 42.71 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลทำให้ hue angle สูงมีค่า 82.31 และ 81.62 ตามลำดับ มีค่ามากกว่าการห่อด้วยถุงพลาสติกใส และการไม่ห่อช่อผลที่มีค่า 78.97 และ 78.62 ตามลำดับ (Table 3) ซึ่ง Konicaminolta (2024) อธิบายว่า ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลจะช่วยลดความเข้มของแสงแดด และอุณหภูมิให้แก่ผลอินทผลัมภายในถุงช่วงสีผิวพัฒนาเป็นสีเหลือง การเพิ่มขึ้นของค่า L^* แสดงถึงสีผิวมีความสว่างมากขึ้น การเพิ่มขึ้นของค่า a^* b^* และ chroma ที่มีสีแดงเหลือง และความเข้มสีเพิ่มขึ้น การลดลงของค่า hue angle แสดงถึงเฉดสีเหลืองอมส้มมากขึ้น

Table 1 Mean values of ‘Barhee’ date palm fruit and seed dimensions after covered with different bags material compared to non-bagging at 170 days after pollination

Bagging material	Fruit width (mm)	Fruit length (mm)	Fruit weight (g)	Seed width (mm)	Seed length (mm)	Seed weight (g)
Non bagging	24.21 b	32.03 b	11.97 b	8.65 b	20.45 b	1.21 b
Transparent plastic bag	28.48 a	35.19 a	15.49 a	10.71 a	22.04 a	1.35 a
Blue plastic bag	27.14 a	35.30 a	14.43 a	9.95 a	22.65 a	1.30 a
Brown paper bag	27.07 a	34.12 a	14.03 a	10.10 a	22.19 a	1.32 a
CV (%)	6.69	4.31	10.43	10.67	5.82	4.88

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 2 Mean values of bunch weight, fruit number, pulp weight, pulp percentage of ‘Barhee’ date palm after covered with different bags compared to non-bagging at 170 days after pollination

Bagging material	Bunch weight (kg)	Fruit number (fruit/bunch)	Pulp weight (g)	% Pulp in a fruit ^{1/}
Non bagging	1.10 b	74.3 b	10.76 b	89.78 b
Transparent plastic bag	8.72 a	617.0 a	14.14 a	91.26 a
Blue plastic bag	7.45 a	561.5 a	13.13 a	90.92 a
Brown paper bag	8.70 a	676.5 a	12.70 a	90.53 ab
CV (%)	17.34	21.42	11.18	0.90

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

^{1/} % Pulp in a fruit = (pulp weight of a date palm fruit / fruit weight) x 100

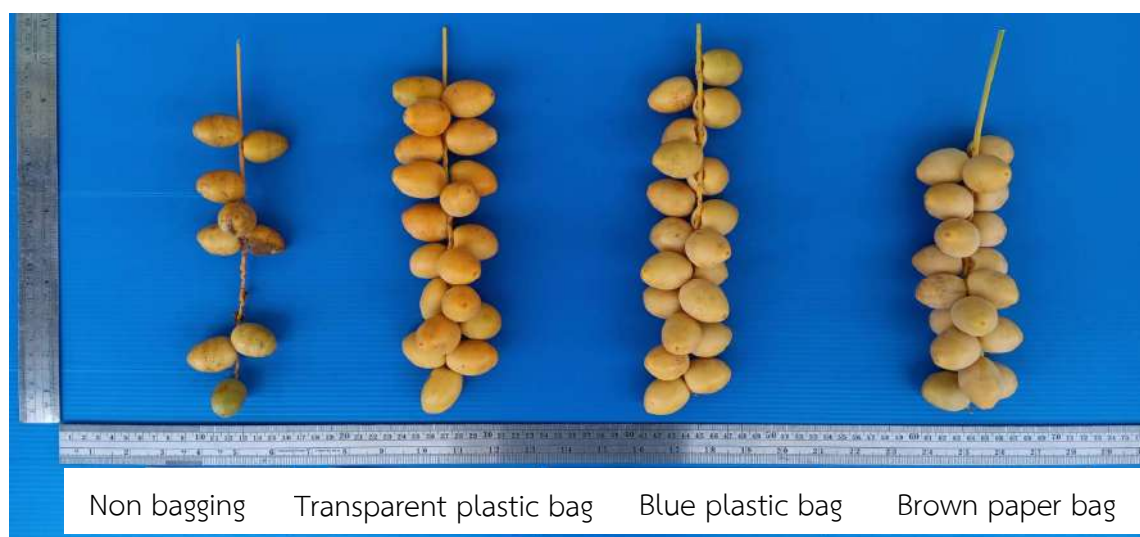


Figure 2 Characteristic of ‘Barhee’ date palm stalk and fruits at harvesting date (Khalal stage) after covered with different bag materials compared to non bagging

สีเมล็ดอินทผลัมในระยะผลสุกแก่เป็นสีน้ำตาลทั้งเมล็ด และการวัดค่าสีเมล็ดพบว่า การไม่ห่อหุ้มผล และการห่อหุ้มผลด้วยวัสดุห่อผล 3 ชนิด ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี L^* a^* b^* chroma และ hue angle ของสีผิวเมล็ดอินทผลัม (Table 4) โดยค่า L^* มีค่าอยู่ในช่วง 53.15-64.39 a^* มีค่าอยู่ระหว่าง 5.28-8.66 b^* มีค่าอยู่ระหว่าง 19.58-23.01 chroma มีค่าอยู่ระหว่าง 20.36-24.71 และ hue angle มีค่าอยู่ระหว่าง 70.32-74.92 ซึ่งวัสดุห่อหุ้มผลทั้ง 3 ชนิด ยังคงทำให้สีเมล็ดอินทผลัมเป็นสีน้ำตาลเช่นเดียวกับการไม่ห่อหุ้มผล ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

สีผิวผลอินทผลัมมีการพัฒนาเป็นสีเหลืองเข้มทั้งภายในและภายนอกห่อหุ้มผลเมื่อห่อด้วยถุงพลาสติกสีฟ้าและถุงกระดาษสีน้ำตาล และถุงกระดาษสีน้ำตาลไม่พบอาการแตกผา ถึงแม้ภายในถุงมีอุณหภูมิสูงแต่มีความชื้นแสงน้อยกว่าจึงไม่เกิดอาการดังกล่าว ทั้งนี้มีรายงานว่าอุณหภูมิหรือความชื้นแสงสูงส่งผลต่อความผิดปกติทางสรีระของผลอินทผลัมจนเกิดอาการแตกผา จากการยุบหรือตายของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงสีของรงควัตถุร่วมด้วย (Kumar and Kumar, 2007) การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลห่อหุ้มอินทผลัมจึง ส่งเสริมการพัฒนาสีผิวอินทผลัมได้ดีกว่าถุงพลาสติกใส ซึ่งเป็นสีผิวที่ดึงดูดผู้บริโภค

Table 3 ‘Barhee’ date palm fruit color after covered with different bags compared to non bagging at 170 days after pollination

Bagging material	L^*	a^*	b^*	Chroma	Hue angle
Non bagging	62.96 b	8.39 b	46.42 bc	47.20 ab	78.62 b
Transparent plastic bag	63.68 b	8.97 b	47.70 c	48.71 b	78.97 b
Blue plastic bag	67.77 a	5.91 a	43.45 ab	43.46 a	82.31 a
Brown paper bag	68.98 a	6.92 ab	41.99 a	42.71 a	81.62 a
CV (%)	2.52	25.41	7.38	7.95	2.54

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 4 Seed ‘Barhee’ date palm color measured from four bagging treatments at harvesting date

Bagging material	L^*	a^*	b^*	Chroma	Hue angle
Non bagging	64.39	5.55	20.32	21.10	74.92
Transparent plastic bag	55.47	8.66	23.01	24.71	70.32
Blue plastic bag	53.15	6.64	21.23	22.20	73.29
Brown paper bag	60.24	5.28	19.58	20.36	74.75
CV (%)	16.59	33.22	20.34	21.21	4.45

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

2. คุณภาพของผล

วัสดุห่อหุ้มผลทั้ง 3 ชนิด ไม่ส่งผลต่อ TSS ของผลอินทผลัม โดยถุงพลาสติกใส ถุงกระดาษสี

น้ำตาล และถุงพลาสติกสีฟ้ามีค่า 24.03 23.68 และ 23.31% ตามลำดับ และการไม่ห่อหุ้มผลมีค่า 23.80% (Table 5) ทั้งนี้ในช่วงการเก็บเกี่ยว

ผลผลิตมีฝนตกอย่างต่อเนื่อง และความเข้มแสงน้อยจึงส่งผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง การสร้างน้ำตาล (दनय, 2563) และเคลื่อนย้ายมาสะสมที่ผลอินทผลัมได้ไม่เต็มที่ ต่ำกว่ารายงานของต่างประเทศที่มีค่า TSS 30% ขึ้นไป Awad and Al-Qurashi (2012) รายงานว่า การห่อหุ้มผลอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮีด้วยถุงกระดาษสีน้ำตาลทำให้ TSS สูงถึง 34.8% เช่นเดียวกับการห่อด้วยถุงพลาสติกสีฟ้ากับอินทผลัมพันธุ์ซุคารีและคาลาสทำให้ TSS และน้ำตาลเพิ่มขึ้นมากกว่าการไม่ห่อผลถุงพลาสติกสีดำ ถุงพลาสติกสีขาว และถุงพลาสติกสีเหลือง (Harhash and Al-Obeed, 2010) รวมถึงการใช้ถุงพลาสติกใส และถุงพลาสติกสีฟ้าห่อหุ้มผลอินทผลัมพันธุ์ซุกกุกทำให้ TSS เพิ่มขึ้นเช่นกัน (Kassem et al., 2010)

3. อายุเก็บเกี่ยว

ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลสามารถยืดอายุเก็บเกี่ยวผลอินทผลัมได้ ทำให้อายุการเก็บเกี่ยวยาวนานขึ้นประมาณ 10 วัน คือมีอายุเก็บเกี่ยว 170 และ 172 วันหลังผสมเกสร ตามลำดับ (Table 5) มากกว่าและแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบการไม่ห่อหุ้มผล และการห่อหุ้มผลด้วยถุงพลาสติกใส เนื่องจากการห่อหุ้มผลสามารถลดอุณหภูมิ และแสงแดดก่อนระยะผลสุกแก่ (Khalal stage) ทำให้กระบวนการสุกแก่ของผลยืดออกไป การเก็บเกี่ยวผลผลิตที่ล่าช้าจึงส่งผลดีในด้านการกระจายผลผลิตในตลาดค้าอินทผลัม ไม่ให้มีปริมาณผลผลิตล้นตลาดในช่วงที่เก็บเกี่ยวพร้อมกันทั่วประเทศ และอาจจะส่งผลต่อรายได้ที่เพิ่มขึ้นด้วย ส่วนการไม่ห่อหุ้มผลและถุงพลาสติกใสทำให้ผลอินทผลัมได้รับอุณหภูมิและความเข้มแสงมาก จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตและสุกแก่เร็วขึ้น แตกต่าง

จากการศึกษาของ Mostafa et al. (2014) ที่พบว่า การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้าห่อหุ้มผลทำให้ผลสุกเร็วขึ้นในอินทผลัมพันธุ์เซวี เช่นเดียวกับ Kassem et al. (2010) ที่รายงานว่า การใช้ถุงพลาสติกใส และถุงพลาสติกสีฟ้าทำให้อินทผลัมพันธุ์ซุกกุกสุกเร็วขึ้น และถุงกระดาษสีน้ำตาลทำให้อินทผลัมพันธุ์ฮิลลาวิสุกเร็วขึ้น เช่นกัน (Hussein, 2010) เนื่องจากสภาพอากาศในพื้นที่ประเทศเขตร้อนมีอุณหภูมิสูงและยาวนานในช่วงการเจริญเติบโตและการสุกแก่ของผล จึงทำให้เก็บเกี่ยวอินทผลัมได้เร็วกว่าการไม่ห่อหุ้มผล ซึ่งแตกต่างจากสภาพภูมิอากาศในประเทศไทยที่เป็นแบบร้อนชื้น มีอุณหภูมิไม่สูงส่งผลให้อินทผลัมมีอายุการเก็บเกี่ยวนานขึ้น การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจึงมีผลต่อการเติบโต การพัฒนา และคุณภาพผลหลังการเก็บเกี่ยว (Asrey and Barman, 2020)

4. ลักษณะผลในระยะเก็บเกี่ยว และต้นทุน

ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลทำให้สีผิวผลอินทผลัมมีความสม่ำเสมอทั่วห่อผลทั้งภายในและภายนอกห่อผล (Table 6) สีผิวมีลักษณะเป็นสีเหลืองเข้ม ปราศจากโรค แมลงและสัตว์เข้าทำลาย การใช้ถุงพลาสติกใสทำให้สีผิวไม่สม่ำเสมอ ผิวเป็นสีเหลืองส้มคล้ายอาการแดดเผา (sunburn) และการไม่ห่อหุ้มผลทำให้ผลมีรอยขีดข่วน ผลร่วงหล่นก่อนถึงอายุเก็บเกี่ยวจากอาการผลแตก ผลเน่า แมลงวันทอง และการทำลายของนกในช่วงผิวเป็นสีเหลืองทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหายมากจนไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตจำหน่ายได้ ในส่วนของต้นทุน พบว่า การไม่ห่อหุ้มผลมีต้นทุน 0 บาท รองลงมา คือ ถุงพลาสติกใสมีต้นทุนถุงละ 7 บาท และถุงพลาสติกสีฟ้ามีต้นทุนถุงละ 8 บาท ส่วนถุงกระดาษสีน้ำตาลมีต้นทุนสูงที่สุดถุงละ 34 บาท

Table 5 Mean values of total soluble solids (TSS) and harvesting period of ‘Barhee’ date palm after covered with 3 bagging materials compared to non bagging

Bagging material	TSS (%)	Harvesting period (Days after pollination)
Non bagging	23.80	161 b
Transparent plastic bag	24.03	161 b
Blue plastic bag	23.31	170 a
Brown paper bag	23.68	172 a
CV (%)	12.26	3.96

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 6 ‘Barhee’ date palm fruits characteristics at harvesting period after covering with 3 types of bagging materials and non bagging including bag price comparison

Bagging material	Fruit characteristic	Price per bag (Baht)
Non bagging	Scratch, fruit drop, crack, rot, bird damage, fruit fly	0
Transparent plastic bag	Uneven color, dark yellow, Yellow-orange, sunburn	7
Blue plastic bag	Even color, dark yellow	8
Brown paper bag	Even color, dark yellow	34

5. อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และแสงแดด

การห่อผลอินทผลัมด้วยวัสดุทุกชนิดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และแสงแดดภายในถุงห่ออินทผลัม (Table 7) ช่วงฤดูร้อนในวันที่ 23 เมษายน 2566 พบว่า อุณหภูมิภายในถุงมีค่าอยู่ระหว่าง 43.5-48.0 °ซ. ขณะที่อุณหภูมิภายนอกถุงมีค่า 40.4-40.7 °ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ภายในและภายนอกถุงมีค่าใกล้เคียงกันคือ 16.0-25.0 และ 20.0-25.0% และความเข้มของแสงแดดในถุงพลาสติกใส ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลมีค่า 70,660 7,693 และ 2,932 ลักซ์ ตามลำดับ และความเข้มแสงแดดภายนอกถุงมีค่า 70,970-75,290 ลักซ์

ช่วงฤดูฝนในวันที่ 14 สิงหาคม 2566 พบว่า อุณหภูมิภายในถุงทั้ง 3 ชนิด มีค่าอยู่ระหว่าง 31.4-35.5 °ซ. และอุณหภูมิภายนอกถุงมีค่าอยู่ระหว่าง 32.5-33.9 °ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ภายในและภายนอกถุงมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ที่ 62.0-79.0 และ 60.0-65.0% และความเข้มของแสงแดดในถุงพลาสติกใส ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลมีค่า 20,850 2,080 และ 2,380 ลักซ์ มีตามลำดับ ซึ่งถุงพลาสติกใสจะที่มีความเข้มแสงแดดภายในถุงใกล้เคียงกับภายนอกถุงที่มีค่า 19,350-22,810 ลักซ์ เห็นได้ว่าวัสดุห่อผลทั้ง 3 ชนิด ทำให้อุณหภูมิภายในถุงเพิ่มขึ้นในฤดูร้อน เป็นการส่งเสริมการพัฒนาผลในช่วงการเพิ่มขนาดผล

และน้ำหนักผล และทำให้เร่งกระบวนการเมแทบอลิซึม ในการสะสมน้ำตาลในผลได้มากขึ้น แต่ผลของการทดลองนี้ พบว่า การใช้ถุงพลาสติกใสในงานวิจัย ทำให้อุณหภูมิภายในสูงกว่าวัสดุชนิดอื่นแต่ก็ไม่สามารถทำให้ TSS เพิ่มขึ้น เนื่องจากความเข้มแสงภายนอกมีค่าน้อยและใกล้เคียงกันในฤดูฝนทำให้

ประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างน้ำตาลมาสะสมที่ผลไม่แตกต่างกัน การใช้ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลช่วยลดความเข้มของแสงแดดในฤดูร้อน และฤดูฝน ทำให้สีผิวผลเป็นเหลืองเข้มสม่ำเสมอทั่วข้อผล

Table 7 Temperature, relative humidity (RH) and light intensity which observed from 4 bagging treatments in summer and rainy season

Bagging material	Inside bag			Outside bag		
	Temperature (°C)	RH (%)	Light intensity (lux)	Temperature (°C)	RH (%)	Light intensity (lux)
April 23, 2023 (Summer)						
Non bagging				40.7	20.0	72,030
Transparent plastic bag	47.0	25.0	70,660	40.6	23.0	75,290
Blue plastic bag	48.0	16.0	7,693	40.4	25.0	73,730
Brown paper bag	43.5	19.0	2,932	40.7	20.0	70,970
August 14, 2023 (Rainy season)						
Non bagging				33.0	65.0	21,990
Transparent plastic bag	35.5	62.0	20,850	33.9	60.0	22,160
Blue plastic bag	31.6	70.0	2,080	32.5	64.0	19,350
Brown paper bag	31.4	79.0	2,380	33.2	62.0	22,810

วัสดุห่อข้อผลอินทผลัมสามารถป้องกันความเสียหายจากการเข้าทำลายของนก แมลงวันทอง และอาการแดดเผาในฤดูร้อน ความชื้นของฝนในระยะผลกำลังเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทำให้ผลแตก ผลเน่า และเกิดการระบาดของโรคภายในข้อผลทำให้ผลร่วง ปริมาณผลผลิตลดลงและไม่มีคุณภาพในการบริโภคทำให้ไม่สามารถจำหน่ายผลผลิตได้ สอดคล้องกับรายงานของ Kassem et al. (2010) ที่พบว่า การห่อข้อผลอินทผลัมพันธุ์ชุกกล้วยด้วยถุงพลาสติกใส และถุงพลาสติกสีฟ้าลดการอาการผลแตก และมีปริมาณผลผลิตสูงกว่าการไม่ห่อผล เช่นเดียวกับ Dawoud and El-Rauof (2022) ที่รายงานว่า ถุงกระดาษสีน้ำตาลทำให้อินทผลัมพันธุ์บาร์ฮีและเมดจูมีผลผลิตต่อต้นสูง และวัสดุห่อข้อผลอินทผลัมช่วยลดความเสียหายจากความชื้น ฝน

โรค แมลง นก อาการผลแตกและแดดเผา (Kumar et al., 2021) ดังนั้น การใช้วัสดุห่อข้อผลอินทผลัมจึงเป็นส่วนสำคัญในการเพิ่มคุณภาพและลดความเสียหายของผลผลิต

เมื่อพิจารณาต้นทุนการผลิตจากงานวิจัยนี้พบว่า การไม่ห่อผลมีต้นทุนต่ำที่สุด แต่ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตเพื่อจำหน่ายได้ เนื่องจากผลผลิตมีปริมาณน้อยและมีคุณภาพต่ำ ส่วนถุงพลาสติกใสมีต้นทุนต่ำรองลงมา แต่ถุงพลาสติกใสมีข้อบกพร่องเนื่องจาก ทำให้สีผิวไม่สม่ำเสมอ ไม่เป็นที่ดึงดูดความสนใจของผู้บริโภคอาจทำให้ราคาจำหน่ายผลผลิตลดลง ถึงแม้การห่อด้วยถุงพลาสติกใสจะมีน้ำหนักข้อผลสูงกว่าวิธีการอื่นก็ตาม ถุงพลาสติกสีฟ้า และถุงกระดาษสีน้ำตาลมีต้นทุนถุงละ 8 และ 34 บาท ตามลำดับ สามารถเพิ่มคุณภาพผลผลิต

ภายนอกและภายในข้อผลสูงเช่นเดียวกัน แต่ต้นทุน
อุปกรณ์สายน้ำตาลสูงกว่าถุงพลาสติกสีฟ้าถึง
4 เท่า ดังนั้น การเลือกใช้ถุงพลาสติกสีฟ้าจึง
เหมาะสมสำหรับการห่อข้อผลอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮี
เนื่องจากเพิ่มคุณภาพผลผลิต ลดความเสียหาย
ยืดอายุการเก็บเกี่ยว และมีต้นทุนวัสดุห่อข้อผลต่ำ

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาวัดห่อข้อผลต่อผลผลิตและ
คุณภาพอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮี พบว่า ถุงพลาสติกสีฟ้า
และอุปกรณ์สายน้ำตาลสามารถเพิ่มคุณภาพ
ผลอินทผลัมพันธุ์บาร์ฮีได้มากกว่าการห่อข้อผลด้วย
ถุงพลาสติกใส และการไม่ห่อข้อผลอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ทั้งในด้านขนาดผล น้ำหนักผล ขนาดเมล็ด
น้ำหนักเมล็ด สีผิวผล น้ำหนักข้อผล จำนวนผลต่อ
ข้อผล และน้ำหนักเนื้อผล นอกจากนี้ ถุงพลาสติก
สีฟ้า และอุปกรณ์สายน้ำตาลสามารถยืดอายุการ
เก็บเกี่ยวและลดความเสียหายของผลผลิตอินทผลัม
พันธุ์บาร์ฮีได้ด้วย เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพผลผลิต
ทุกด้าน และต้นทุนถุง ถุงพลาสติกสีฟ้ามีความ
เหมาะสมที่สุดในการนำมาใช้ห่อข้อผลอินทผลัม
พันธุ์บาร์ฮี เนื่องจากสามารถเพิ่มคุณภาพผล ยืด
อายุการเก็บเกี่ยว ลดความเสียหายของผลผลิต และ
มีต้นทุนต่ำกว่าถุงชนิดอื่น

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงาน
คณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและ
นวัตกรรม (สทว.) ขอขอบคุณผู้อำนวยการ
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 และ
ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร
เชียงใหม่ที่ให้การปรึกษา รวมถึงข้าราชการ พนักงาน

ราชการ และเกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมที่ให้ความ
ร่วมมือ แลกเปลี่ยนความรู้และประสบการณ์ที่เป็น
ข้อมูลอันเป็นประโยชน์แก่งานวิจัย จนทำให้
งานวิจัยสำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2566. ระบบสารสนเทศการผลิต
ทางการเกษตร. แหล่งข้อมูล:[https://production.
doae.go.th/service/data-state-product/index](https://production.doae.go.th/service/data-state-product/index).
สืบค้น: 12 มิถุนายน 2567.
- ดนัย บุญเกียรติ. 2563. สรีรวิทยาของพืช. คณะ
เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่.
292 หน้า.
- Al-Obeed, R.S. and M.M. Harhash. 2010. Effect of
bunch bagging color on 'Succary' and
'Khalas' date palm cultivars: Fruit chemical
characteristics. Scientia Horticulturae. 882:
1213-1217.
- Asrey, R. and K. Barman. 2020. Postharvest
Horticulture, Principles and Practices. Kalyani
Publishers. 175 p.
- Awad, M.A. and A.D. Al-Qurashi. 2012. Gibberellic
acid spray and bunch bagging increase
bunch weight and improve fruit quality of
'Barhee' date palm cultivar under hot arid
conditions. Scientia Horticulturae. 138: 96-100.
- Dawoud, H.D. and F.A. El-Rauof. 2022. Effect of
different time for spathes bagging on fruit
set, yield and quality of Barhi and Majdool
date palm under Sudan climatic conditions.
Egyptian International Journal of Palms.
2(1): 50-59.
- Harhash, M.M. and R.S. Al-Obeed. 2010. Effect of
bunch bagging color on yield and fruit
quality of date palm. American-Eurasian
Journal of Agricultural and Environmental
Science. 7(3): 312-319.

- Hussein, J.S. 2010. The effect of different bagging treatments in the characteristics of seedless and seeded fruit of date palm *Phoenix dactylifera* L. cv. Hillawi. Basrah Journal for Date Palm Research. 9(1): 1-13.
- Karim, M.F. 2005. Date palm fruit set and quality as influenced by variations in inflorescence bagging material following pollination. Journal Agriculture and Environmental Science. 4(2): 114-128.
- Kassem, H.A., A.K.H. Omar and M.A. Ahmed. 2011. Response of Zaghloul date palm productivity, ripening and quality to different polyethylene bagging treatments. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science. 11(5): 616-621.
- Kassem, H.A., T.M. Ezz and H.A. Marzouk. 2010. Effect of bunch bagging on productivity, ripening speed and postharvest fruit quality of 'Zaghloul' dates. Acta Horticulturae. 882: 1091-1098.
- Konicaminolta. 2024. Identifying Color Differences Using L^* a^* b^* or L^* C^* H^* Coordinates. Available at: <https://sensing.konicaminolta.us/us/blog/identifying-color-differences-using-l-a-b-or-l-c-h-coordinates/> Accessed: June 11, 2024.
- Kumar, M., V.P. Singh, R. Jat, S. Ahamad and V. Kumar. 2021. Pre-harvest fruit bagging for quality improvement in fruit crops: A review. The Pharma Innovation Journal. 10(7): 530-541.
- Kumar, R. and K.K. Kumar. 2007. Managing physiological disorders in litchi. Indian Horticulture. 52(1): 22-24.
- Mohamed, A.A. 2007. Increasing the rate of ripening of date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Helali by preharvest and postharvest treatments. Postharvest Biology and Technology. 43: 121-127.
- Mohamed, A.A. and A.D. Al-Qurashi. 2012. Gibberellic acid spray and bunch bagging increase bunch weight and improve fruit quality of 'Barhee' date palm cultivar under hot arid conditions. Scientia Horticulturae. 138: 96-100.
- Mostafa, R.A.A., A.M. El-Salhy, A.A. El-Banna and Y.M. Diab. 2014. Effect of bunch bagging on yield and fruit quality of Seewy date palm under New Valley conditions (Egypt). Middle East Journal of Agriculture Research. 3(3): 517-521.

การเปรียบเทียบผลผลิตกล้วยไข่สายพันธุ์กลายจากการฉายรังสีแกมมา

Yield Trial of Pisang Mas Banana Mutant Clones Derived from Gamma Irradiation

ปิยะนุช มุสิกพงศ์^{1/*} ชญานุช ตริพันธ์^{1/} สุมาลี ศรีแก้ว^{1/} ศุภลักษณ์ อริยภูษย์^{1/} อรรถพล รุกขพันธ์^{1/}
Piyanut Musigapong^{1/*} Chayanuch Tripan^{1/} Sumalee Srikaew^{1/}
Suppaluck Ariyaphuchai^{1/} Auttapon Rukkaphan^{1/}

Received 5 Jul. 2024/Revised 9 Sep. 2024/Accepted 10 Sep. 2024

ABSTRACT

Growing pisang mas banana varieties that are suitable for each area is one of the methods to increase yield and quality. The objectives of this experiment were to compare and select pisang mas banana mutant clones derived from Gamma irradiation for high yield and quality suitable for commercial production in southern Thailand. The experiment was conducted at Trang Horticultural Research Center in Trang province from October 2018 to September 2020. A completely randomized design of six treatments with three replicates comprised 5 pisang mas banana mutant clones, KM8-22, KM9-20, KM22-5, KM22-27, KM30-11 and Kamphaeng Phet (commercial variety) was used. Results showed that KM22-27, KM30-11 and Kamphaeng Phet gave closely and consistently higher yield than the others in two consecutive harvesting seasons. The yield range in the first, second year and average of two years were between 3,909-4,180, 3,989-4,248 and 3,980-4,149 kg/rai, respectively. For quality, KM22-27 and KM30-11 had statistically significant less sour taste than that of Kamphaeng Phet. In addition, the yield components of KM22-27 and KM30-11, i.e., bunch weight, panicle weight, fruit weight and fruit length had no statistical differences compared to those of Kamphaeng Phet. Therefore, KM22-27 and KM30-11 were the two new pisang mas banana clones which had potential for commercial production in Trang province or the southern region of Thailand in the future.

Keywords: pisang mas banana; quality of yield; mutation

^{1/} ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง ต.ไม้ฝาด อ.สิเกา จ.ตรัง 92150

^{1/} Trang Horticultural Research Center, Sikao district, Trang 92150, Thailand

* Corresponding author: piyanut191161@gmail.com

บทคัดย่อ

การปลูกกล้วยไข่พันธุ์ที่เหมาะสมกับแต่ละพื้นที่เป็นวิธีการหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ จึงทำการเปรียบเทียบกล้วยไข่สายพันธุ์กลายจากการฉายรังสีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพให้ผลผลิตสูงและคุณภาพเหมาะสมสำหรับการผลิตเชิงการค้า ดำเนินการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง อ. สีกา จ. ตรัง ระหว่างเดือน ต.ค. 2561 – ก.ย. 2563 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ จำนวน 3 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี คือ กล้วยไข่สายพันธุ์ KM8-22 KM9-20 KM22-5 KM22-27 KM30-11 และ กล้วยไข่พันธุ์กำแพงเพชร (พันธุ์การค้า) พบว่า สายพันธุ์ KM22-27 KM30-11 และพันธุ์กำแพงเพชร ให้ผลผลิตสูงสม่ำเสมอใกล้เคียงกัน โดยให้น้ำหนักผลผลิตในปีแรก ปีที่สอง และเฉลี่ยสองปี ระหว่าง 3,909-4,180 3,989-4,248 และ 3,980-4,149 กก./ไร่ ตามลำดับ ด้านคุณภาพ พบว่า สายพันธุ์ KM22-27 และ KM30-11 มีรสเปรี้ยวน้อยกว่าพันธุ์กำแพงเพชรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ สายพันธุ์ KM22-27 และ KM30-11 มีองค์ประกอบของผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักเครือ น้ำหนักหวี น้ำหนักผล และความยาวของผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับพันธุ์กำแพงเพชร ดังนั้น กล้วยไข่สายพันธุ์ KM22-27 และ KM30-11 จึงเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพสำหรับการผลิตเชิงการค้าในเขต จ.ตรัง และเขตภาคใต้ในอนาคต

คำสำคัญ: กล้วยไข่; คุณภาพของผลผลิต; การกลายพันธุ์

บทนำ

กล้วยไข่ (pisang mas) หรือ *Musa* (AA group) “Kluai Khai” จัดอยู่ในวงศ์ Musaceae สามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย เป็นที่นิยมในการบริโภคสด เนื่องจากมีรสชาติดี มีกลิ่นหอม เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ (อภิชาติ, 2560) ในปี พ.ศ. 2566 มีปริมาณการส่งออก 5,041 ตัน มูลค่า 86.9 ล้านบาท ส่วนใหญ่ส่งออกไปสาธารณรัฐประชาชนจีน ในรูปแบบกล้วยสด (กรมศุลกากร, 2566) สำหรับการผลิตในปี พ.ศ. 2566 มีพื้นที่เก็บเกี่ยวรวมทั้งประเทศ 25,303 ไร่ ให้ผลผลิตรวม 83,753 ตัน ราคาจำหน่ายเฉลี่ย 20.31 บาท/กก. โดยพื้นที่เก็บเกี่ยว 80% อยู่ที่ภาคตะวันตก และภาคตะวันออก จังหวัดที่มีพื้นที่เก็บเกี่ยวมากที่สุดสามลำดับแรกได้แก่ จันทบุรี เพชรบุรี และสมุทรสาคร ส่วนภาคใต้มีการผลิตกล้วยไข่ค่อนข้างน้อย โดยในปี พ.ศ. 2566 มีเนื้อที่เก็บเกี่ยวเพียง 2,395 ไร่ ให้ผลผลิต 3,652 ตัน แหล่งผลิตที่สำคัญคือ ชุมพร พัทลุง ระนอง และตรัง มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 1,225 342 200 และ 199 ไร่ ตามลำดับ และผลผลิต 1,055 445 18 และ 185 ตัน ตามลำดับ ทั้งยังมีผลผลิตต่อพื้นที่ค่อนข้างต่ำเพียง 1,525 กก./ไร่ หรือเพียง 43% ของผลผลิตต่อพื้นที่เฉลี่ยทั้งประเทศ และมีราคาจำหน่าย 15.86 บาท/กก. ต่ำกว่าราคาเฉลี่ยทั้งประเทศซึ่งมีราคา 20.31 บาท (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566) ส่วนหนึ่งเกิดจากการไม่มีพันธุ์กล้วยไข่ที่เหมาะสมในการผลิตเชิงการค้าของภาคใต้

ในปี พ.ศ. 2555-2558 ศูนย์วิจัยพืชสวน สุโขทัย อ. ศรีสัชนาลัย จ. สุโขทัย ได้ทำการปรับปรุง พันธุ์กล้วยไข่ โดยนำกล้วยไข่พันธุ์กำแพงเพชร (พันธุ์การค้า) มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ แล้วชักนำเนื้อเยื่อให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา อัตรา 34 เกรย์ ทำการคัดเลือก ต้นกล้วยไข่ที่ได้จากการฉายรังสีจนได้กล้วยไข่ พันธุ์กลาย จำนวน 9 สายพันธุ์ คือ KM22-5 KM9-20 KM22-27 KM30-11 KM2-20 KM8-22 KM1-11 KM3-6 KM23-2 (เพ็ญจันทร์ และคณะ, 2558) เปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไข่พันธุ์ดังกล่าว ณ ศูนย์วิจัย พืชสวนสุโขทัย เพื่อคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะดีเด่น เบื้องต้นได้ 5 สายพันธุ์ คือ KM8-22 KM9-20 KM22-5 KM22-27 และ KM30-11 (เพ็ญจันทร์ และคณะ, 2561) และนำไปปลูกทดสอบเพื่อคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะดีเด่น คือ ให้ผลผลิตสูง และมีคุณภาพตรงตามความต้องการของผู้บริโภค

เพื่อแก้ปัญหาการขาดพันธุ์กล้วยไข่ที่เหมาะสมในการผลิตเชิงการค้าของภาคใต้ จึงทำการทดลองโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกพันธุ์กล้วยไข่ที่ให้ผลผลิตสูง และมีคุณภาพตรงตามความต้องการของผู้บริโภค โดยนำกล้วยไข่สายพันธุ์กลายดีเด่น 5 สายพันธุ์ คือ KM8-22 KM9-20 KM22-5 KM22-27 และ KM30-11 มาปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์กำแพงเพชร (พันธุ์การค้า) ดำเนินการที่ศูนย์วิจัย พืชสวนตรัง อ. สี่เกา จ. ตรัง เพื่อให้ได้พันธุ์ทางเลือกใหม่ให้เกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไข่เชิงการค้าในเขต จ. ตรัง และเขตภาคใต้ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสายพันธุ์กล้วยไข่

นำกล้วยไข่พันธุ์กลายจากการฉายรังสี จำนวน 5 สายพันธุ์ คือ KM8-22 KM9-20 KM22-5

KM22-27 และ KM30-11 (เพ็ญจันทร์ และคณะ, 2561) จากศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย เพื่อมาปลูกเปรียบเทียบ หลังจากนั้นจึงเตรียมต้นกล้วยไข่พันธุ์กลายเพื่อนำมาใช้ปลูกทดสอบต่อในพื้นที่ ก่อนย้ายมาดูแลต่อที่ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จนพร้อมปลูกลงแปลงทดสอบ

การทดสอบเปรียบเทียบผลผลิตสายพันธุ์กล้วยไข่

การเปรียบเทียบพันธุ์ดำเนินการที่ศูนย์วิจัย พืชสวนตรัง ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีชุดดินกลุ่มที่ 53 มีลักษณะเป็นดินร่วนปนดินเหนียว และมีปริมาณน้ำฝนรวมทั้งปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2556-2565 เฉลี่ย 2,445 มม. วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ สายพันธุ์กล้วยไข่ KM8-22 KM9-20 KM22-5 KM22-27 และ KM30-11 และพันธุ์กำแพงเพชร (พันธุ์การค้า) ระหว่างเดือน ต.ค. 2561 – ก.ย. 2563 ปลูกกล้วยไข่ในพื้นที่แปลงย่อย ขนาด 10x8 ม. จำนวน 20 ต้น โดยแต่ละแปลงย่อย แบ่งเป็น 4 แถว ระยะระหว่างแถว 2 ม. ระยะระหว่างต้น 2 ม. ชุดหลุมขนาด 50x50x50 ซม. ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 2 ม. และระหว่างซ้ำ 2 ม. รองกันหลุมด้วยปุ๋ยคอกอัตรา 5 กก./หลุม ผสมกับดินกันหลุมให้เข้ากัน แล้วทำการปลูกกล้วยไข่แต่ละสายพันธุ์ตามกรรมวิธีที่กำหนด ใส่ปุ๋ยเคมี สูตร 15-15-15 อัตรา 250 ก. /ต้น/ครั้ง หลังปลูก 1 และ 3 เดือน ใส่ห่างรอบโคนต้น 30 ซม. และใส่ปุ๋ยเคมี สูตร 13-13-21 อัตรา 250 ก./ต้น/ครั้ง หลังปลูก 5 และ 7 เดือน ใส่ห่างรอบโคนต้น 60 ซม. ให้น้ำสัปดาห์ละ 2 ครั้ง กำจัดวัชพืชบริเวณโคนต้น และทรงพุ่ม และพูนดินโคนต้นให้มีลักษณะหลังเต่า เพื่อลดการโคนล้มเมื่อลมแรง เมื่อกล้วยไข่ให้ผลผลิตทำการห่อเครือกล้วยด้วยถุงพลาสติก หลังจากตัดปลีเมื่อกล้วยติดหัวสุกท่ายแล้ว ทำการ

เก็บเกี่ยวเมื่อผลแก่จัด ผลมีลักษณะกลม ไม่เป็นเหลี่ยม หรือประมาณ 45 วัน หลังตัดปลี

การบันทึกข้อมูลและวิเคราะห์ผล

บันทึกข้อมูลโดยการสุ่มตัวอย่างจำนวน 6 ตัวอย่าง/ซ้ำ ประกอบด้วย 1) ลักษณะทาง การเกษตร ได้แก่ ความสูงลำต้น ขนาดเส้นรอบวง ลำต้น ขนาดทรงพุ่มของลำต้น และอายุเก็บเกี่ยว หลังจากตัดปลี 2) ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักผลผลิต น้ำหนักเครือ จำนวนหวี น้ำหนักหวี จำนวนผล และน้ำหนักผล และ 3) คุณภาพผลผลิต ได้แก่ ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ หรือ titratable acidity (TA) ซึ่งวัดโดยวิธี AOAC (2000) ขนาดความกว้างผล ความยาวผล ความหนาเปลือก และความหนาเนื้อ นำข้อมูลที่เก็บในแต่ละปีมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบ ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต

น้ำหนักผลผลิตแต่ละปี พบว่า สายพันธุ์/พันธุ์กล้วยให้ผลผลิตแตกต่างกันทางสถิติ โดยในปีแรก (พ.ศ. 2562) ซึ่งเป็นผลผลิตจากรุ่นแม่ (plant crop) พบว่า KM22-27 KM30-11 และ กำแพงเพชร ให้น้ำหนักผลผลิต 4,051 3,909 และ 4,180 กก./ไร่ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสายพันธุ์กล้วยที่เหลื่อให้ผลผลิตระหว่าง 3,388-3,703 กก./ไร่ ส่วนในปีที่สอง (พ.ศ. 2563) ซึ่งเป็นผลผลิตจากรุ่นหน่อ (1st sucker) พบว่า KM22-27 ยังคงให้น้ำหนักผลผลิตสูงที่สุด 4,248

กก./ไร่ แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์/สายพันธุ์อื่น ขณะที่ KM30-11 และกำแพงเพชรให้ผลผลิต 4,051 และ 3,989 กก./ไร่ ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ KM22-27 KM30-11 และกำแพงเพชร ให้ผลผลิตมากกว่าทางสถิติจากสายพันธุ์อื่น ๆ (Table 1)

น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยสองปี พบว่า KM22-27 และ KM30-11 ให้น้ำหนักผลผลิต 4,149 และ 3,980 กก./ไร่ ตามลำดับ ไม่แตกต่างจากพันธุ์ กำแพงเพชรที่ให้ผลผลิต 4,084 กก./ไร่ ส่วนสายพันธุ์ กล้วยที่เหลื่อให้ผลผลิตระหว่าง 3,358-3,691 กก./ไร่ จากผลผลิตทั้งสองปีและผลผลิตเฉลี่ย พบว่า KM22-27 และ KM30-11 ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์ กล้วยอื่น ๆ (Table 1) และเมื่อเปรียบเทียบกับสถิติ ผลผลิตต่อพื้นที่ของกล้วยใน จ. กระบี่ ชุมพร ตรัง นครศรีธรรมราช พัทลุง ยะลา และสตูล ซึ่งอยู่ ระหว่าง 800-1,550 กก./ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566) พบว่า KM22-27 และ KM30-11 ให้ผลผลิตสูง มากกว่า 3-5 เท่า จัดว่ามีลักษณะเด่นด้านผลผลิต และมีศักยภาพที่จะนำไปปลูกเชิงการค้าในเขต จ. ตรัง และเขตภาคใต้ในอนาคต

น้ำหนักของเครือ พบว่า KM22-27 KM30-11 และกำแพงเพชรให้น้ำหนักของเครือใน ปีแรก 10.13 9.77 และ 10.45 กก. ตามลำดับ และ ปีที่สอง 10.62 10.13 และ 9.97 กก. ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติทั้งสองปี ส่วนสายพันธุ์กล้วย ที่เหลื่อให้ผลผลิตในปีแรกและปีที่สองระหว่าง 8.47-9.26 และ 8.32-9.20 กก. ตามลำดับ น้ำหนัก เครือเฉลี่ยทั้งสองปี พบว่า KM22-27 KM30-11 และกำแพงเพชรให้น้ำหนักเครือ 10.38 9.95 และ 10.21 กก. ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ (Table 2 และ Figure 1)

Table 1 Yield of six pisang mas banana clones/variety cultivated at Trang Horticultural Research Center during year 2019-2020

Clones/variety	Yield (kg/rai)		
	2019	2020	Avg.
KM8-22	3,575 c	3,435 d	3,505 bc
KM9-20	3,388 c	3,329 d	3,358 c
KM22-5	3,703 bc	3,680 c	3,691 abc
KM22-27	4,051 a	4,248 a	4,149 a
KM30-11	3,909 ab	4,051 b	3,980 ab
Kamphaeng Phet	4,180 a	3,989 b	4,084 a
CV (%)	4.6	2.2	8.1

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 2 Bunch weight, number of clusters/bunch and cluster weight of six pisang mas banana clones/variety cultivated at Trang Horticultural Research Center during year 2019-2020

Clones/variety	Bunch weight (kg)			Number of clusters/ bunch (clusters)			Cluster weight (kg)		
	2019	2020	Avg.	2019	2020	Avg.	2019	2020	Avg.
KM8-22	8.94 c	8.59 c	8.76 c	6.50	6.45	6.48	1.26	1.24 bc	1.25 ab
KM9-20	8.47 c	8.32 c	8.40 c	6.69	6.66	6.68	1.18	1.16 c	1.17 b
KM22-5	9.26 bc	9.20 bc	9.23 bc	6.85	6.81	6.83	1.27	1.24 bc	1.26 ab
KM22-27	10.13 a	10.62 a	10.38 a	6.93	6.95	6.94	1.26	1.37 a	1.32 a
KM30-11	9.77 ab	10.13 ab	9.95 ab	6.83	6.85	6.84	1.27	1.30 ab	1.29 a
Kamphaeng Phet	10.45 a	9.97 ab	10.21 a	7.22	7.02	7.12	1.35	1.32 ab	1.34 a
CV (%)	4.8	5.8	4.9	4.1	3.3	3.5	4.9	4.4	4.2

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

จำนวนหวี/เครือ พบว่า กล้วยไขที่ปลูกเปรียบเทียบทั้งหมดไม่แตกต่างทางสถิติทั้งในปีแรก ปีที่สอง เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6.50-7.22 6.45-7.02 และ 6.48-7.12 หวี ตามลำดับ น้ำหนักของหวี พบว่า ในปีแรกไม่แตกต่างทางสถิติอยู่ระหว่าง 1.18-1.35 กก. ส่วนในปีที่สอง KM22-27 KM30-11 และกำแพงเพชร มีน้ำหนักของหวีไม่แตกต่างทางสถิติระหว่าง 1.30-1.37 และ 1.29-1.34 กก. ตามลำดับ มากกว่าสายพันธุ์กล้วยที่เหลือ ซึ่งมีน้ำหนักของหวีระหว่าง 1.16-1.24 และ 1.17-1.26 กก. ตามลำดับ (Table 2 และ Figure 2)

จำนวนผล/หวี พบว่า ไม่แตกต่างทางสถิติในปีแรก ปีที่สอง และค่าเฉลี่ยสองปี อยู่ระหว่าง 17.11-18.34 17.46-18.05 และ 17.29-18.06 ผล/หวี ตามลำดับ สำหรับน้ำหนักของผล พบว่า ในปีแรก และค่าเฉลี่ยทั้งสองปี ไม่แตกต่างทางสถิติ ระหว่าง 62.35-75.73 และ 62.06-72.93 ก. ตามลำดับ แต่แตกต่างทางสถิติในปีที่สอง โดย KM22-27 KM30-11 และ KM22-5 มีน้ำหนักของผล 74.29 70.13 และ 67.14 ก. ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับพันธุ์กำแพงเพชร ที่มีน้ำหนักของผล 70.51 ก. ส่วนสายพันธุ์กล้วยที่เหลือมีน้ำหนักของผลระหว่าง 61.77-63.60 ก. (Table 3 และ Figure 2-3)



Figure 1 Cluster of five mutant pisang mas banana clones: (A) KM22-5, (B) KM9-20, (C) KM22-27, (D) KM30-11, (E) KM8-22 and (F) Kamphaeng Phet (commercial variety)

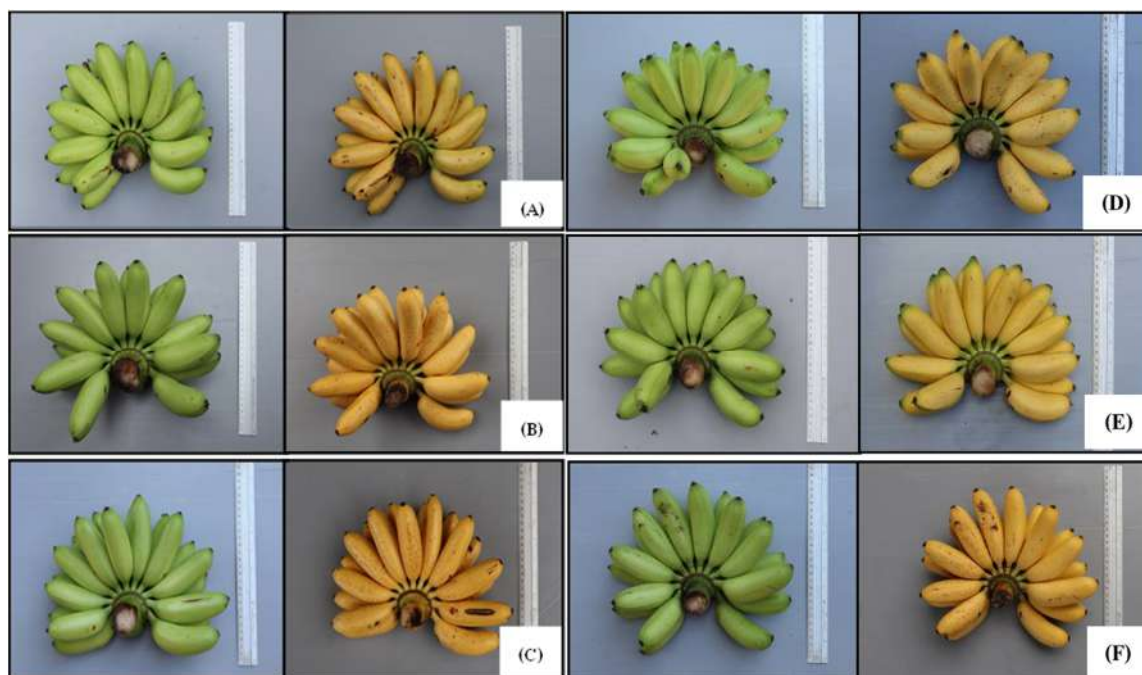


Figure 2 Bunch of five mutant pisang mas banana clones: (A) KM22-5, (B) KM9-20, (C) KM22-27, (D) KM30-11, (E) KM8-22 and (F) Kamphaeng Phet (commercial variety)

Table 3 Number of fruits/cluster and fruit weight of six pisang mas banana clones/variety cultivated at Trang Horticultural Research Center during year 2019-2020

Clones/variety	Number of fruits/cluster (fruits)			Fruit weight (g)		
	2019	2020	Avg.	2019	2020	Avg.
KM8-22	17.64	17.46	17.55	67.68	63.60 cd	65.64
KM9-20	18.08	18.05	18.06	62.35	61.77 d	62.06
KM22-5	18.34	17.68	18.01	66.35	67.14 abc	66.75
KM22-27	17.62	17.62	17.62	70.39	74.29 a	72.34
KM30-11	17.11	17.47	17.29	75.73	70.13 abc	72.93
Kamphaeng Phet	17.92	17.95	17.94	73.20	70.51 ab	71.85
CV (%)	5.50	4.70	4.80	8.70	5.50	5.00

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

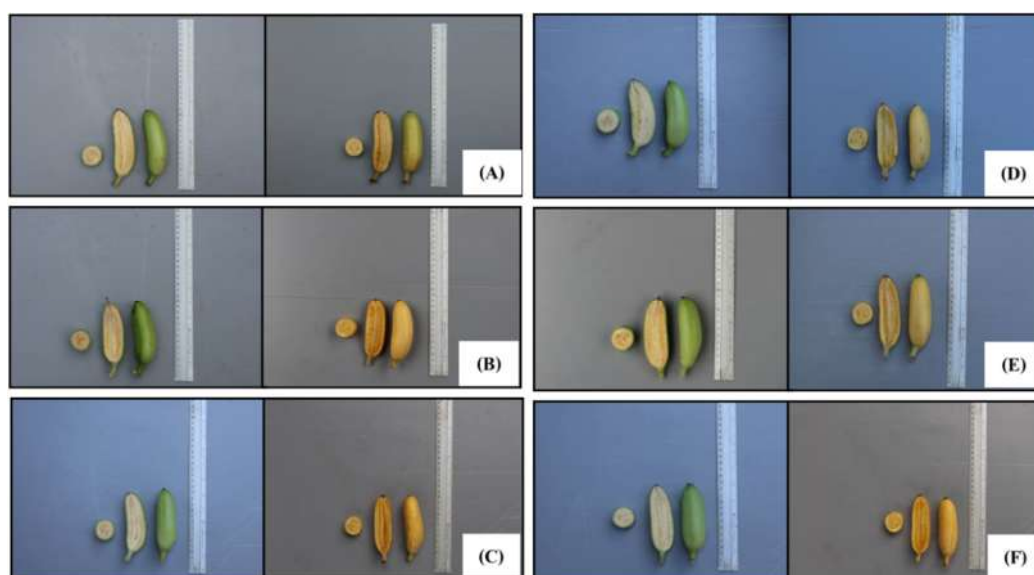


Figure 3 Mature and ripening fruit of five mutant pisang mas banana clones: (A) KM22-5, (B) KM9-20, (C) KM22-27, (D) KM30-11, (E) KM8-22 and (F) Kamphaeng Phet (commercial variety)

คุณภาพผลผลิต

ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) พบว่า KM30-11 มีปริมาณกรดน้อยที่สุดในปีแรก ปีที่สอง และเฉลี่ยทั้งสองปี 0.54 0.55 และ 0.55% ตามลำดับ น้อยกว่าทางสถิติจากพันธุ์/สายพันธุ์ที่เหลือทั้งหมด ส่วนค่าแอมเพอร์มีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มากที่สุด 0.94 0.92 และ 0.93% ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าทางสถิติจากสายพันธุ์ที่เหลือส่วนใหญ่ ขณะที่ KM22-27 ปริมาณกรด 0.60 0.62 และ 0.61% ตามลำดับ (Table 4)

ความกว้างของผล พบว่า ในปีแรกไม่แตกต่างทางสถิติอยู่ระหว่าง 3.42-3.61 ซม. ส่วนในปีที่สอง พบว่า KM30-11 KM22-27 และ KM22-5 มีความกว้างของผล 3.59 3.53 และ 3.50 ซม. ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับค่าแอมเพอร์ที่มีความกว้างของผล 3.53 ซม. ส่วนสายพันธุ์กล้วยที่เหลือมีความกว้างของผลระหว่าง 3.38-3.44 ซม. ความกว้างของผลเฉลี่ยทั้งสองปี พบว่า KM30-11 มีความกว้างของผล 3.60 ซม. ไม่แตกต่างกับค่าแอมเพอร์ที่มีความกว้างของผล 3.54 ซม. ส่วน

สายพันธุ์กล้วยที่เหลือมีความกว้างของผลระหว่าง 3.42-3.50 ซม. และกล้วยไข่ที่ปลูกเปรียบเทียบทั้งหมดมีความยาวของผลไม่แตกต่างทางสถิติในปีแรก ปีที่สอง และค่าเฉลี่ยสองปี อยู่ระหว่าง 9.31-10.38 9.50-10.68 และ 9.45-10.53 ซม. ตามลำดับ (Table 4)

ความหนาของเปลือก พบว่า ในปีแรกพันธุ์กำแพงเพชร KM30-11 และ KM22-27 มีความหนาของเปลือกมากที่สุดและรองลงมาแตกต่างกันทางสถิติ 0.27 0.22 และ 0.19 ซม. ตามลำดับ ส่วนในปีที่สอง KM22-27 KM30-11 และกำแพงเพชร มีความหนาของเปลือกมากที่สุด

และรองลงมาแตกต่างกันทางสถิติ 0.28 0.21 และ 0.16 ซม. ตามลำดับ ขณะที่ค่าเฉลี่ยสองปีมีค่า 0.24 0.22 และ 0.22 ซม. ตามลำดับ ซึ่งดีกว่าสายพันธุ์กล้วยที่เหลือเป็นส่วนใหญ่ (Table 5) กล้วยไข่ที่มีเปลือกหนาช่วยป้องกันไม่ให้ผิวของผลเสียหายหรือมีตำหนิ ระหว่างขั้นตอนการผลิต การเคลื่อนย้าย ผลผลิต ช่วยลดจุดอ่อนของการผลิตกล้วยไข่เพื่อการส่งออก (ทวีศักดิ์, 2565) ส่วนความหนาของเนื้อผลของกล้วยไข่ทั้งหมดในปีแรก ปีที่สอง และค่าเฉลี่ยทั้งสองปีไม่แตกต่างทางสถิติมีค่าระหว่าง 2.68-2.96 2.81-2.92 และ 2.78-2.94 ซม. ตามลำดับ (Table 5)

Table 4 Titratable acidity (TA), width of fruit and length of fruit of six pisang mas banana clones/variety cultivated at Trang Horticultural Research Center during year 2019-2020

Clone/variety	TA (%)			Fruit width (cm)			Fruit length (cm)		
	2019	2020	Avg.	2019	2020	Avg.	2019	2020	Avg.
KM8-22	0.55 b	0.57 c	0.56 b	3.46	3.38 c	3.42 c	9.67	9.50	9.59
KM9-20	0.64 de	0.67 d	0.66 de	3.44	3.44 bc	3.44 c	10.08	10.32	10.20
KM22-5	0.58 c	0.56 b	0.57 c	3.51	3.50 ab	3.50 bc	9.31	9.60	9.45
KM22-27	0.60 cd	0.62 d	0.61 d	3.42	3.53 ab	3.48 bc	10.38	10.68	10.53
KM30-11	0.54 a	0.55 a	0.55 a	3.61	3.59 a	3.60 a	10.17	10.15	10.16
Kamphaeng Phet	0.94 e	0.92 e	0.93 e	3.54	3.53 ab	3.54 ab	9.97	9.87	9.92
CV (%)	2.50	2.40	1.80	2.50	1.90	1.50	6.80	6.50	6.20

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 5 Fruit peel thickness and fruit pulp thickness of six pisang mas banana clones/variety cultivated at Trang Horticultural Research Center during year 2019-2020

Clones/variety	Fruit peel thickness (cm)			Fruit pulp thickness (cm)		
	2019	2020	Avg.	2019	2020	Avg.
KM8-22	0.15 d	0.12 d	0.14 d	2.95	2.86	2.90
KM9-20	0.16 d	0.15 cd	0.16 cd	2.80	2.81	2.80
KM22-5	0.14 d	0.17 c	0.16 c	2.96	2.92	2.94
KM22-27	0.19 c	0.28 a	0.24 a	2.87	2.85	2.86
KM30-11	0.22 b	0.21 b	0.22 b	2.68	2.89	2.78
Kamphaeng Phet	0.27 a	0.16 c	0.22 b	2.68	2.89	2.78
CV (%)	6.50	9.80	6.50	5.40	3.90	3.30

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

ลักษณะทางการเกษตร

ความสูง เส้นรอบวง และขนาดทรงพุ่มของ ลำต้นเทียม อายุเก็บเกี่ยวหลังจากตัดปลีของกล้วย ไข่ทุกสายพันธุ์/พันธุ์ ไม่แตกต่างกันทางสถิติในปี แรก ปีที่สอง และค่าเฉลี่ยทั้งสองปี โดยมีความสูง ของลำต้นเทียม ระหว่าง 211-235 217-238 และ 215-237 ซม. ตามลำดับ เส้นรอบวงของลำต้น เทียมอยู่ระหว่าง 54.13-58.22 54.61-57.98 และ 54.55-58.10 ซม. ตามลำดับ (Table 6) ขนาดทรงพุ่ม

ของลำต้นเทียมอยู่ระหว่าง 324-346 200-226 และ 262-283 ซม. ตามลำดับ และอายุเก็บเกี่ยว หลังจากตัดปลี อยู่ระหว่าง 35.9-40.7 37.7-42.8 และ 36.9-41.3 วัน ตามลำดับ (Table 7) ซึ่งค่อนข้าง สั้นเมื่อเปรียบเทียบกับอายุเก็บเกี่ยวโดยทั่วไป ของกล้วยไข่หลังตัดปลีซึ่งอยู่ระหว่าง 40-45 วัน (จริงแท้, 2541) และอาจแตกต่างตามฤดูกาล (เพ็ญจันทร์ และคณะ, 2558)

Table 6 Psuedostem height and psuedostem girth of six pisang mas banana clones/variety cultivated at Trang Horticulture Research Center during year 2019-2020

Clone/variety	Psuedostem height (cm)			Psuedostem girth (cm)		
	2019	2020	Avg.	2019	2020	Avg.
KM8-22	212.92	216.83	214.88	55.33	56.18	55.76
KM9-20	222.92	224.72	223.82	54.52	54.61	54.57
KM22-5	211.18	218.45	214.82	55.72	55.33	55.53
KM22-27	235.33	238.24	236.79	54.13	54.96	54.55
KM30-11	224.17	233.72	228.94	56.41	56.54	56.48
Kamphaeng Phet	227.58	232.39	229.99	58.22	57.98	58.10
CV (%)	4.0	5.6	4.6	4.0	3.9	3.8

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 7 Growth include canopy width and harvesting period of six pisang mas banana clones/variety cultivated at Trang Horticulture Research Center during year 2019-2020

Clone/variety	Canopy width (cm)			Harvesting period (days)		
	2019	2020	Avg.	2019	2020	Avg.
KM8-22	346	204	275	37.2	37.7	37.5
KM9-20	324	225	275	35.9	37.9	36.9
KM22-5	328	224	276	35.9	39.3	37.6
KM22-27	343	220	282	39.8	42.8	41.3
KM30-11	324	200	262	36.4	38.1	37.3
Kamphaeng Phet	341	226	283	40.7	39.8	40.3
CV (%)	5.9	13.5	6.0	7.6	6.2	5.9

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

สรุปผลการทดลอง

การเปรียบเทียบกล้วยไข่สายพันธุ์กล้วยที่ได้จากการฉายรังสีแกมมา ได้แก่ KM8-22 KM9-20 KM22-5 KM22-27 KM30-11 กับกล้วยไข่พันธุ์กำแพงเพชร ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง พบว่า กล้วยไข่สายพันธุ์ KM22-27 และ KM30-11 ให้ผลผลิตต่อพื้นที่ใกล้เคียงกับพันธุ์กำแพงเพชร โดยสายพันธุ์ KM22-27 ให้ผลผลิตในปีแรก ปีที่สอง และค่าเฉลี่ยทั้งสองปี 4,051 4,248 และ 4,149 กก./ไร่ ตามลำดับ และสายพันธุ์ KM30-11 ให้ผลผลิตในปีแรก ปีที่สอง และค่าเฉลี่ยทั้งสองปี 3,909 4,051 และ 3,980 กก./ไร่ ตามลำดับ ขณะที่พันธุ์กำแพงเพชร ให้ผลผลิตในปีแรก ปีที่สอง และค่าเฉลี่ยทั้งสองปี 4,180 3,989 และ 4,084 กก./ไร่ ตามลำดับ กล้วยไข่สายพันธุ์ KM22-27 และ KM30-11 ยังมีปริมาณกรดทั้งหมดน้อยกว่าพันธุ์กำแพงเพชร และมีองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักเครือ น้ำหนักหวี น้ำหนักผล และความยาวของผล ไม่แตกต่างกับพันธุ์กำแพงเพชร อีกทั้งยังมีความหนาของเปลือกเฉลี่ยสองปีใกล้เคียงกับพันธุ์กำแพงเพชร ดังนั้นกล้วยไข่สายพันธุ์ KM22-27 และ KM30-11 จัดว่ามีลักษณะเด่นด้านผลผลิต และมีศักยภาพที่จะนำไปปลูกเชิงการค้าในเขต จ.ตรัง และเขตภาคใต้ในอนาคต

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) ประจำปี 2561-2563 ขอขอบคุณนักวิชาการและเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยพืชสวน

สุโขทัย ที่จัดเตรียมต้นกล้ากล้วยไข่สำหรับการทดลอง และให้คำปรึกษาจนงานเสร็จสิ้น

เอกสารอ้างอิง

- กรมศุลกากร. 2566. Lady's finger banana. แหล่งข้อมูล: <https://www.customs.go.th>. สืบค้น: 11 มิถุนายน 2567.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2566. รายงานสถานการณ์การปลูกกล้วยไข่ ปี 2566. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร (รต.) ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. แหล่งข้อมูล: <https://production.doae.go.th>. สืบค้น: 27 พฤษภาคม 2567.
- จรัสแท้ ศิริพานิช. 2541. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้ (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 396 หน้า.
- ทวีศักดิ์ แสงอุดม. 2565. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไข่เพื่อการส่งออก. แหล่งข้อมูล: <https://www.doa.go.th/hort/wp.pdf>. สืบค้น: 27 กันยายน 2566.
- เพ็ญจันทร์ สุธานุกุล จิตาภา สุภาพล รักชัย คุรุบรรเจตจิต และสุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ. 2558. คัดเลือกพันธุ์กล้วยไข่ที่กล้วยพันธุ์จากการฉายรังสี. หน้า 1-7. ใน: รายงานผลงานเรื่องเต็ม ปี 2558. ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย กรมวิชาการเกษตร.
- เพ็ญจันทร์ สุธานุกุล สุภาภรณ์ สาชาติ สุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ และรักชัย คุรุบรรเจตจิต. 2561. การเปรียบเทียบพันธุ์กล้วยไข่ที่กล้วยพันธุ์จากการฉายรังสี. หน้า 2-18. ใน: รายงานผลงานเรื่องเต็ม ปี 2561. ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย กรมวิชาการเกษตร.
- อภิชาติ ศรีสอาด. 2560. กล้วยไข่ยุคใหม่ทำเงิน 5 ภาค. บ. นาคา อินเตอร์มีเดีย จำกัด, สมุทรสาคร. 120 หน้า.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed., Maryland. USA.

Comparison of Bunch Yield of Five Hybrids and Two Commercial Tenera Oil Palms in the Young Mature Phase

Suteera Thawornrat^{1/} Puntaree Taeprayoon^{2/} Kittichai Kor-Or^{3/} Somkid Damnoi^{4/}
Surakitti Srikul^{4/} Peerasak Srinives^{5/} Anek Limsrivilai^{6/} Patcharin Tanya^{7/*}

Received 2 Jun. 2024/Revised 4 Aug. 2024/Accepted 5 Aug. 2024

ABSTRACT

The young mature phase is a pivotal period for small oil palm plantations, as bunch harvesting takes about 2-3 years. Our study aimed to evaluate the bunch yields of five hybrids (H1-H5) and two commercial Tenera oil palms during this crucial phase. The assessment, conducted over four consecutive years from 2012 to 2015 at the Hong Sila Agriculture and Industry Company Limited, Krabi, Thailand, revealed some intriguing findings using a randomized complete block design with four replicates spaced 9 meters in a triangular pattern. H3 emerged as the best Tenera, delivering the highest fresh fruit bunch (FFB, 243.90 kg/palm/year) over other hybrids and two commercial varieties. H4 demonstrated the highest bunch number (BNO, 26.04 bunches/palm/year) and the lowest average bunch weight (ABW, 8.17 kg/bunch) in the young mature phase. The H3 and H5 were high FFB over checks varieties followed by year. This information was essential in selecting oil palm parents, which had high potential for crossing to produce new hybrids and recognize to choose for their genetics to improve oil palm variety. These findings highlighted the potential benefits of understanding the impact of genetics on the parents of oil palm to produce Tenera.

Keywords: fresh fruit bunch; bunch number; average bunch weight

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

^{2/} Agricultural and Environmental Utilization Research Unit, Nakhonsawan Campus, Mahidol University, Nakhon Sawan 60130, Thailand

^{3/} Hong Sila Agriculture and Industry Company Limited, Khao Phanom, Krabi 81140, Thailand

^{4/} Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

^{5/} Academy of Science, The Royal Society of Thailand, Dusit, Bangkok 10300, Thailand

^{6/} Goldentenera Company Limited, 12/9 Krabiyai, Muang Krabi, Krabi 81000, Thailand

^{7/} 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

In 2023, the Office of Agricultural Economics reported that the southern region of Thailand had the highest ranked first in terms of oil palm plantation and fresh fruit bunch (FFB) production, with about 0.89 million hectares and 19.22 tons per hectare. The Central, Northeastern, and Northern regions followed, with about 0.09, 0.04 and 0.01 million hectares and FFB about 14.66, 9.46 and 7.89 tons per hectare, respectively (Office of Agricultural Economics, 2024). The production distribution information across regions is crucial for target development strategies for each area, such as high yield, high oil yield, dwarf palm, and resistance to disease. The oil palm industry has the potential for significant development and is well-positioned to meet the growing demand for its products. The expansion of oil palm planting is located in Southeast Asian countries, especially Malaysia, Indonesia, and Thailand (Bessou et al., 2017). Additionally, Lawson et al. (2014) recorded that the growth of the oil palm area has been a factor in deforestation and land use change (LUC), and between 2000 and 2012, 60% of tropical deforestation was due to commercial agriculture. Promoting high FFB production by increasing potential variety to high yield per area will ensure a sustainable supply chain, increase farmers'

income, and reduce forest encroachment. The industry should focus on breeding the best Tenera variety by estimating the potential germplasm and selecting superior parents and progeny for commercial seed production, paving the way for a promising future.

The Thailand government has laid out an action plan for the palm oil and oil palm sector, demonstrating its commitment. It also supports the breeding and registering of oil palm varieties to achieve the plan. The action plan, entitled "Plan to reform the oil palm and palm oil sector (2017-2036)," aims to increase planting area and fresh fruit bunch yield production by a minimum of 10% per annum from 2016 (15 tons per hectare) to 21.88 tons per hectare per year in 2036. This increase corresponds to an increase in the extraction rate of palm oil from 17% to 23%, which was implemented on January 1, 2020, through the utilization of biodiesel B7, B10, and B20 to completely substitute for petroleum diesel (Department of Internal Trade, 2017; Sowcharoensuk, 2020).

The government actively supports the transition from rubber to oil palm plantations, a project led by the Rubber Authority of Thailand (RAOT). The plan is to replant about one hundred thousand rai annually, starting in 2015 (Rubber Authority of Thailand, 2024). This support underscores

the government's commitment to the sector and its smallholders. Nowadays, both the Thai government and private units develop high-quality and high-quantity oil palm varieties to support Thai oil palm plantations without using imported oil palm varieties.

Therefore, this study is a crucial breeding project that will significantly support and drive the palm supply chain of the action plan. It is essential to have oil palm seedlings with high quality and potential for yielding at a young mature phase at 4-7 years after planting in the field or steep ascent yield phase by yield increase; it would give support to the next phase which is the mature phase (7-18 years after plantation) or yield peak. Within the oil palm production cycle, revenue generation for cultivators commences during the immature phase, approximately 2 to 3 years after field planting (Woittiez et al., 2017). Moreover, by selecting different oil palm materials, one can tap into the high potential for bunch yield, thereby boosting income for oil palm smallholders. This result should be considered when planting oil palm seedlings to ensure early high yields in FFB, BNO, or ABW, thereby influencing year-round harvesting.

This study compares the performance of a Tenera oil palm with two commercially

available oil palms regarding their fresh fruit bunch yield potential during the young mature phase. This allows oil palm planters to earn income earlier after waiting until 3 years to start bunch harvesting.

MATERIALS AND METHOD

Tenera oil palm materials

This experiment involved planting five improved Tenera oil palm varieties (H1-H5) and two commercial Tenera (C1-C2) from Univanich Oil Palm Company Limited and the Department of Agriculture, respectively. They were planted in November 2009 at Hong Sila Agriculture and Industry Company Limited in Krabi Province. The H1-H5 were improved Tenera from Goldentenera Company Limited. The experiment followed a randomized complete block design with four replications, each replication had 15 palms spaced at triangular distance of 9×9×9 meters. Oil palm management for fertilizer and weeding control followed the method of Corley and Tinker (2016). The plantation was located at latitude 8°17'41.5"N and longitude 99°05'03.7"E on sandy, loam-textured soil with a pH value of 6.49 and an organic matter content of 1.42%. From 2012 to 2015, the region experienced an average annual rainfall of 2,395.55 mm (Thai Meteorological Department, 2021).

Phenotype recording and data analysis

The data on oil palm yield, which included the fresh fruit bunch produced per palm annually in kilograms, the number of bunches per palm annually, and the average bunch weight (ABW) from January 2012 to December 2015 (4-7 years after planting; YAP was a young mature phase), had been meticulously gathered. Data collection was continued after the young mature phase for 8-12 years. The collection of oil palm bunches for weighing and counting was done every 15 to 20 days, strictly following the standardized guidelines of the National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (2009). The ABW was then computed using the formula of Arolu et al. (2017):

$$ABW = \frac{FFB}{BNO}$$

Where ABW = average bunch weight (kg/bunch), FFB = fresh fruit bunch (kg/palm/year), and BNO = bunch number (bunches/palm/year)

Finally, the data were analysed using Bartlett's test, analysis of variance and the means of each factor were compared using the DMRT method using the R program (R Core Team, 2021). Nevertheless, the year factor was calculated using the Bartlett's test, then to make a mean of each trait when the variance test of each year was not significantly different or the variance was the same. The two-way

analysis was focused on year and oil palm varieties without the interaction of year.

RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of variance (ANOVA) conducted on fresh fruit bunch, bunch number, and average bunch weight is shown in Table 1. It was found that the year, oil palm varieties, and interaction between year and varieties significantly differed in FFB, BNO, and ABW, except for the year and varieties in FFB. The results indicate that the coefficient of variation was relatively low for FFB, BNO, and ABW, suggesting a more precise estimation in these cases. The average of FFB, BNO, and ABW of all varieties was 220.17 kg/palm/year, 23.34 bunches/palm/year, and 10.30 kg/bunch, respectively. The effect of the young mature phase in this experiment was a criterion from Woittiez et al. (2017), who stated that the young mature phase was the year after planting (YAP) in the oil palm field in 4-7 YAP when yield increased. During this period, oil palm smallholders experienced increased yield and income from utilizing the oil palm variety, which demonstrated significant potential and became evident after three years of cultivation. This observation suggests that the data should be substantiated by carefully selecting an appropriate oil palm variety and procuring seedlings for subsequent plantations.

Table 1 Mean squares, mean, and coefficient of variation percentage of fresh fruit bunch yield including fresh fruit bunch, bunch number, and average bunch weight in Tenera oil palm for four years (2017-2020) in Krabi province

Source of variation	Df	Fresh fruit bunch (FFB)		Bunch number (BNO)		Average bunch weight (ABW)	
Year	3	11,229	**	1,024.5	**	430.8	**
Replication/Year	12	2515		9.90		1.10	
Variety	6	3,547	**	102.1	**	33.9	**
Year:Variety	18	629		6.35	*	3.26	**
Pooled error	72	459		3.22		0.28	
CV (%)		9.73		7.68		5.13	
Mean		220.17		23.34		10.30	

Df, degrees of freedom; *, significant for $p < 0.05$; **, significant for $p < 0.01$

The response by year to mean FFB increased each year while the BNO decreased and ABW increased, as shown in the reliable data in Table 2 and Figure 1-3. The best yearly performance on FFB and ABW was observed in Y7, while BNO was in Y4. This result supported the steep ascent fresh fruit bunch yield phase, as mentioned 4-7 YAP, and under favorable conditions, bunch production peaked 6-7 YAP (Ng, 1983; Donough et al., 2009) shown in Table 2. The best oil palm performance in FFB was H3 (243.90 kg/palm/year) and H5 (236.81 kg/palm/year), giving the FFB higher than the two commercial oil palms, C1 (209.31 kg/palm/year) and C2 (216.62 kg/palm/year). Additionally, H3 showed the lowest BNO value of 23.42 bunches/palm/year, while H4 showed the highest BNO at 26.04 bunches/palm/year, contrasting to the lowest FFB of 202.91 kg/palm/year shown in

Figures 1 and 2. In this study, 5 tenera oil palms had higher FFB and BNO than the mean of 34 progenies (24 Deli Dura $\times$ 10 Nigerian Pisifera palms) studied by Arolu et al. (2017) which was FFB 192.93 kg/palm/year and BNO 16.94 bunches/palm/year. The large bunch or high ABW found H2 in 12.68 kg/bunch, which was higher than the average of 9.87 kg/bunch from C1 (10.01 kg/bunch) and C2 (9.73 kg/bunch) displayed in Table 2 and illustrated the ABW of different hybrids (Figure 3).

The FFB of 7 oil palm varieties trialed in this study showed that the average FFB was over the standard of SIRIM from Malaysia, which is 170 kg/palm/year (Department of Standards Malaysia, 2005). The number of fronds, a key factor in oil palm production, is significantly influenced by genetic control. As Fairhurst and Härdter (2003) observed, oil palm age 4-6 YAP

produced approximately 18-24 fronds per year, a difference from the 2-3 YAP with over 40 fronds production. This result, with a BNO 18.18-26.04 bunches/palm/year and an annual average of 7 oil palm varieties found 16.13-30.12 bunches/palm/year, supported the data from Fairhurst and Härdter (2003) who stated that the number of fronds from the immature phase was 40 fronds/palm, with Y4 giving the highest average BNO of 30.12 bunches/palm/year. Some varieties produced over 24 fronds because of a trait controlled by genetics and influenced by the environment's effect on inflorescence by females or males, depending on the previous 2 years' drought or water deficiency conditions. These results supported the preliminary basis for choosing oil palm varieties, in which H3 showed the highest FFB, H4 for BNO, and H2, H3 for ABW, more than commercial varieties in the Krabi area. This information was essential to support the designation of oil palm planters in select parent palms for developing superior new varieties and enhancing breeding programs. The difference in oil palm varieties displayed the response to fresh fruit bunch yield with the potential trend to give the income shown in Figure 4, which showed a trend from 4 to 7 YAP (the result in this study) and continuous from 8 to 12 YAP, which was recorded after this study period.

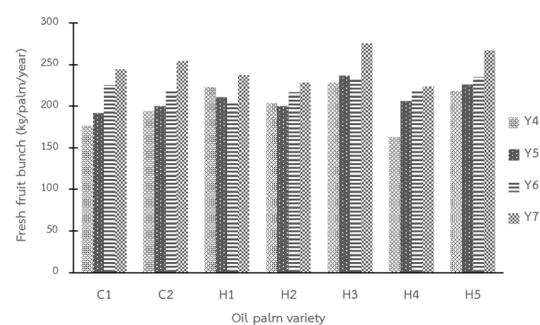


Figure 1 Seven oil palm varieties response to different four years in the young mature phase period (4-7 years after planting, 2012-2015) on fresh fruit bunch

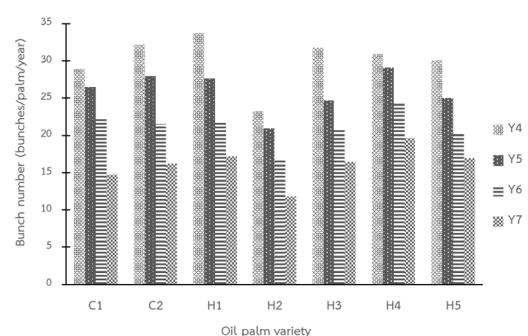


Figure 2 Seven oil palm varieties response to different four years in the young mature phase period (4-7 years after planting, 2012-2015) on bunch number

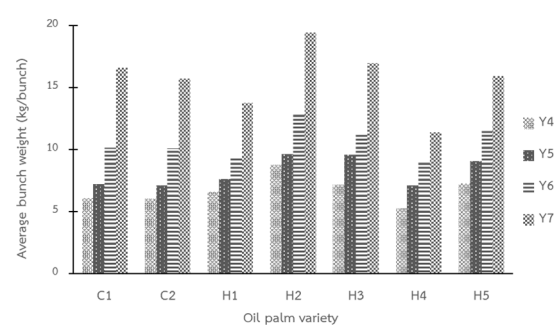


Figure 3 Seven oil palm varieties response to different four years in the young mature phase period (4-7 years after planting, 2012-2015) on average bunch weight

Table 2 Means of each year and bunch yield (FFB, BNO, and ABW) of seven Tenera varieties in the young mature phase in Krabi province

Year	FFB (kg/palm/year)	BNO (bunches/palm/year)	ABW (kg/bunch)
Y4	201.00 c	30.12 a	6.73 d
Y5	210.23 bc	25.97 b	8.18 c
Y6	222.19 b	21.13 c	10.62 b
Y7	247.24 a	16.13 b	15.67 a
Variety			
C1	209.31 b	23.09 c	10.01 c
C2	216.62 b	24.46 bc	9.73 c
H1	219.25 b	25.08 ab	9.35 c
H2	212.36 b	18.18 d	12.68 a
H3	243.90 a	23.42 c	11.22 b
H4	202.91 b	26.04 a	8.17 d
H5	236.81 a	23.11 c	10.92 b

Means with different lowercase letters in the same column denote significant differences between oil palm varieties based on DMRT

CONCLUSION

The young mature phase (4-7 years after planting) is the critical period of fresh fruit bunch yield, and the sharp yield curve showed that H3 exhibited the highest yield of FFB, 243.90 kg/palm/year, while H4 exhibited the BNO 26.04 bunches/palm/year and ABW 8.17 kg/bunch. The trend of FFB and ABW increases with age, while BNO exhibits a different pattern. After Y7 was the expected period to know with nearly the highest fresh fruit bunch yield for expect extension continue to get fresh fruit bunch yield in the future, which the mature phase or the stable of yield refers to farmers' income. Therefore, selecting

superior Tenera is a choice that supports career stability for farmers and government policy to expand plantations and replants for other farmers in the nearby environment.

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 Royal Golden Jubilee PhD.: RGJPHD (PHD/0232/2560), the Thailand Research Fund (TRF), the Thailand Science Research and Innovation (TSRI), (3) the Office of Agricultural Research and Development

Region 7, Department of Agriculture (DOA), (4) the Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, (5) the Hong Sila Agriculture and

Industry Company Limited, and (6) the Goldentenera Company Limited, Krabi Province, Thailand.

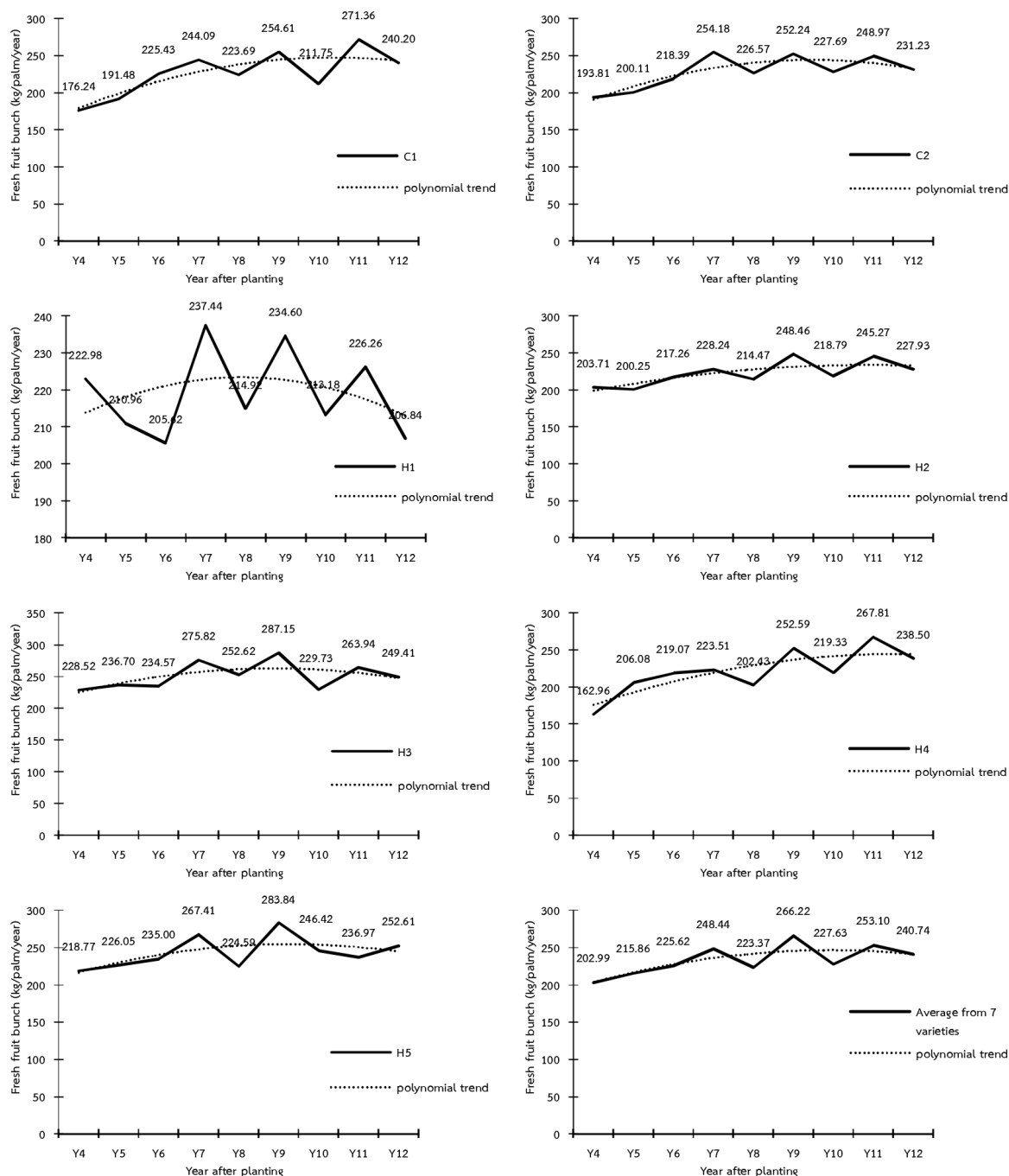


Figure 4 Seven oil palms fresh fruit bunch yield response in 4-12 years after planting of oil palm at Krabi province

REFERENCES

- Arolu, I.W., M.Y. Rafii, M. Marhalil, M.M. Hanafi, S. Zulkefly, H.A. Rahim, Z.A. Mohd Isa, A.M. Din, D.A. Kushairi and N. Rajanaidu. 2017. Breeding of high yielding and dwarf oil palm planting materials using Deli dura $\times$ Nigerian pisifera population. *Euphytica*. 213(7): 1-15.
- Bessou, C., A. Verwilghen, L.B. Ollivier, R. Marichal, J. Ollivier, V. Baron, X. Bonneau, M.P. Carron, D. Snoeck, M. Naim, A.A.K. Aryawan, F. Raoul, P. Giraudoux, E. Surya, E. Sihombing and J.P. Caliman. 2017. Agroecological practices in oil palm plantations: Examples from the field. *Oilseeds & Fats Crops and Lipids*. 24(3): 1-16.
- Corley, R.H.V. and P.B. Tinker. 2016. The Oil Palm Fifty Edition. Blackwell Science Ltd., USA. 630 p.
- Department of Internal Trade. 2017. Plan to reform the oil palm and palm oil sector (2017-2036), Ministry of Commerce, Thailand. 49 p. (in Thai)
- Department of Standards Malaysia. 2005. Malaysian Standard MS 157: 2005 Oil Palm Seed for Commercial Planting-Specification (Third revision). Department of Standards Malaysia, Malaysia. 15 p.
- Donough, C.R., C.W. Witt and T.H. Fairhurst. 2009. Yield intensification in oil palm plantations through best management practice. *Better Crops*. 93(1): 12-14.
- Fairhurst, T. and R. Hårdter. 2003. Oil Palm: Management for Large and Sustainable Yields. Singapore: Potash & Phosphate Institute. 382 p.
- Lawson, S., A. Blundell, B. Cabarle, N. Basik, M. Jenkins and K. Canby. 2014. Consumer Goods and Deforestation: An Analysis of the Extent and Nature of Illegality in Forest Conversion for Agriculture and Timber Plantations. *Forest Trends*. 142 p.
- National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. 2009. Thai Agricultural Standard TAS 5702-2009 Oil Palm Bunch. Ministry of Agriculture and Cooperatives Bangkok. 10 p. (in Thai)
- Ng, S.K. 1983. Advances in Oil Palm Nutrition, Agronomy and Productivity in Malaysia. PORIM occasional, Kuala Lumpur, Malaysia. 20 p.
- Office of Agricultural Economics. 2024. Agricultural Statistics of Thailand 2023. Office of Agricultural Economics Bangkok. 224 p. (in Thai)
- R Core Team. 2021. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R foundation for statistical computing. Available at: <https://www.r-project.org>. Accessed: March 3, 2022.
- Rubber Authority of Thailand. 2024. The role of RAOT in the rubber authority of Thailand act 2015. Available at: https://www.parliament.go.th/ewtadmin/ewt/elaw_parcy/ewt_dl_link.php?nid=1799. Accessed: May 14, 2024. (in Thai)
- Sowcharoensuk, C. 2020. Palm Oil Industry. Thailand Industry Outlook 2020-2022. 2020: 1-11.
- Thai Meteorological Department. 2021. Daily observation report. Available at: <https://www.tmd.go.th/service/tmdData>. Accessed: January 20, 2017. (in Thai)
- Woittiez, L.S., M.T. van Wijk, M. Slingerland, M. van Noordwijk and K.E. Giller. 2017. Yield gaps in oil palm: A quantitative review of contributing factors. *European Journal of Agronomy*. 83(6): 57-77.

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

การส่งต้นฉบับ:

ผู้เขียนต้องส่งต้นฉบับผ่านทาง Online submission เท่านั้น ที่: tci-thaijo.org/index.php/thaiagriculturalresearch

คำแนะนำสำหรับผู้เขียนนี้ใช้กับบทความที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการเกษตร ตั้งแต่ปีที่ 42 เป็นต้นไป

สามารถศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมได้จาก <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/thaiagriculturalresearch/guidelines> พร้อมไฟล์ตัวแบบให้ดาวน์โหลด

ต้นฉบับ: พิมพ์ด้วยโปรแกรมพิมพ์เอกสารใช้ font TH SarabunPSK ขนาด 16 pts พิมพ์บรรทัดห่าง 1 บรรทัด พิมพ์หน้าเดียว มีความยาว 10-15 หน้า กระดาษขนาด A4 มีรูปแบบการเขียนและการวางหัวข้อตามรายละเอียดดังนี้

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย/ภาษาอังกฤษ)

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

ที่อยู่ของหน่วยงานของผู้แต่ง (ภาษาไทย/ภาษาอังกฤษ)

Corresponding author: email

ABSTRACT: สรุปความสำคัญของเรื่องที่ทดลอง วัตถุประสงค์ วิธีการทดลอง สถานที่ เวลาทำการทดลอง ผลการทดลอง และสรุปสาระสำคัญที่ได้จากการทดลอง เป็นภาษาอังกฤษใช้สำนวนรัดกุมและให้รายละเอียดที่ชัดเจน มีความยาวไม่เกิน 300 คำ

Keywords: ไม่เกิน 5 คำ

บทคัดย่อ: มีเนื้อหาสาระเช่นเดียวกันกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (ABSTRACT)

คำสำคัญ: ไม่เกิน 5 คำ

บทนำ: อธิบายถึงเหตุผล ความสำคัญ วัตถุประสงค์และเป้าหมายของงานวิจัยพร้อมทั้งเสนอข้อมูลสนับสนุนหรือโต้แย้งจากการตรวจเอกสาร

อุปกรณ์และวิธีการ: อธิบายการวางแผนการทดลอง ขนาดแปลงทดลอง และรายละเอียดของวิธีการดำเนินการทดลอง วัน เวลา และสถานที่ทดลอง วิธีการบันทึกข้อมูล ใช้สำนวนที่ไม่เอนเอียง และให้รายละเอียดเป็นขั้นตอนที่ชัดเจน

ผลการทดลองและวิจารณ์: อธิบายผลการทดลองที่สำคัญ อ้างอิงถึงตาราง กราฟ หรือรูปประกอบพร้อมเหตุผลสนับสนุนผลการทดลอง และวิจารณ์เหตุผลที่ทำให้ผลการทดลองเป็นเช่นนั้น รวมทั้งอ้างอิงผลการทดลองของผู้อื่น (จากเอกสารอ้างอิงในบทนำ หรืออุปกรณ์และวิธีการ) เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านผลการทดลองนั้น ๆ

ตาราง: ชื่อตารางและรายละเอียดเป็นภาษาอังกฤษ เรียงตั้งแต่ Table 1 เป็นต้นไป

ภาพประกอบ: ภาพขาวดำ หรือภาพสี หรือภาพลายเส้น (กราฟ) เป็นต้นฉบับที่ชัดเจน สะอาดและสวยงามพร้อมคำบรรยายเป็นภาษาอังกฤษเรียงตั้งแต่ Figure 1 เป็นต้นไป

สรุปผลการทดลอง: สรุปสาระสำคัญของผลการทดลอง คำแนะนำในการนำไปใช้ประโยชน์ และข้อเสนอแนะในงานวิจัยเรื่องนั้น ๆ ในอนาคต (ถ้ามี)

คำขอบคุณ: กล่าวถึงบุคคลและหน่วยงานที่ช่วยเหลืองานวิจัยและทดลอง

เอกสารอ้างอิง: ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิง ตามตัวอย่าง

1. การตรวจเอกสาร ในเรื่องของคำนำหรือ อุปกรณ์และวิธีการ หรือ ผลการทดลอง

ตัวอย่างการเขียน

- โกศล (2523) หรือ (โกศล, 2523)
- อิมจิต และคณะ (2535) หรือ (อิมจิต และคณะ, 2535)
- Kreb (1978) หรือ (Kreb, 1978)
- Lekakul et al. (1977) หรือ (Lekakul et al., 1977)

ถ้าเอกสารไม่ปรากฏชื่อผู้เขียนให้ใช้ นิรนาม (2529) หรือ (นิรนาม, 2529)

2. เอกสารอ้างอิง

2.1 การเรียงลำดับเอกสาร

- ให้เอกสารภาษาไทยอยู่ในส่วนแรก และเอกสารภาษาต่างประเทศอยู่ในส่วนที่สอง
- ให้เรียงชื่อผู้แต่งตามอักษรแต่ละภาษา ผู้แต่งชื่อเดียวกัน มีเอกสารมากกว่า 1 ฉบับ
- ถ้าตีพิมพ์ในปีต่าง ๆ กัน ให้เรียงปีที่พิมพ์จากน้อยไปหามาก
- ถ้าตีพิมพ์ในปีเดียว ให้ใส่อักษร ก, ข, ค หรือ a, b, c กำกับในเนื้อเรื่องที่อ้างถึงก่อนและหลังตามลำดับ

2.2 ประเภทของเอกสาร

ก. ตำรา

ชื่อผู้แต่ง. ปี. ชื่อหนังสือ. ชื่อสำนักพิมพ์ จังหวัด. จำนวนหน้า.

สะอาด บุญเกิด จเร สดกร และทิพย์พรรณ สดกร. 2523. ชื่อพรรณไม้ในเมืองไทย. กองทุนจัดพิมพ์ตำราป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 657 หน้า.

Holm, G.L., D.L. Plucknett, J.V. Pancho and J.P. Herberger. 1997. Imperata cylindrical (L.) Beauv. pp. 62-71. In: The World 's Worst weeds, Distribution and Biology. Honolulu, University Press of Hawaii.

ข. วารสาร Newsletter และ Bulletin

ชื่อผู้แต่ง. ปี. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสารหรือชื่อ Newsletter หรือชื่อ Bulletin. ปีที่(เล่มที่): หน้า-หน้า.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2524. วิธีการเขียนบทความทางวิชาการวิทยาศาสตร์. วารสารสงขลานครินทร์. 3(1): 27-43.

Sharwa, A.D. and C.I. Jandalk. 1986. Studies on Recycling of Pleurotus Waste. Mushroom Newsletter for the Tropics. 3: 13-15.

ค. รายงานประจำปี

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

กรทอง จันทน์ อำนวย ทองดี และบรรจง ลิกษะมณฑล. 2522. การศึกษาหาวิธีการปลูกหอมแดงในภาคเหนือ. หน้า 5-20. ใน: รายงานสรุปผลการทดลองพืชสวน 2522. กองพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

Lewanich, A. 1974. A Taxonomic Study on the Lipdopterous Pests of Sugar Cane. pp. 511- 513. In: Annual Research Report 1974. Division of Entomology and Zoology, Department of Agriculture, Bangkok.

ง. รายงานการประชุม

ชื่อผู้แต่ง. ปี. ชื่อเรื่อง. หน้า-หน้า. ชื่อรายงานการประชุมถ้ามีด้วยย่อสากลให้พิมพ์ด้วยย่อ ครั้งที่ (ถ้ามี) วัน เดือน ปีที่มีการประชุม สถานที่ประชุม.

พิสิษฐ์ เสพสวัสดิ์ ศรีสมร พัทธ์ชัย เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธิ์ และสาทร สิริสิงห์. 2523. ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิด กับหนอนเจาะฝักกล้วย. หน้า 492-523. ใน: รายงานการประชุมวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 2 กองกัญและสัตววิทยา. 24-27 มิถุนายน 2532 ณ ศูนย์วิจัยการอารักขาข้าว กรุงเทพฯ.

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

จ. เอกสารไม่ปรากฏชื่อผู้เขียน ให้ใช้คำว่า นิรนาม หรือ Anonymous กรณีไม่ปรากฏปีที่พิมพ์ ให้ใช้ n.d. หรือ ม.ป.ป.

ฉ. สื่อวิชาการทาง Website

ชื่อผู้แต่ง. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่องของเอกสาร. แหล่งข้อมูล: (ระบุ URL) สืบค้น: (วัน เดือน ปี).

นิรนาม. 2556. ชาน้ำมัน (*Camellia oleifera* Abel). ศูนย์วิจัยและพัฒนาชาน้ำมันและพืชน้ำมัน 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
Office	:	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
Suphakam 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	Retired government official
Pompimon Athipunyakom, Ph.D	Retired government official
Suprada Sukonthabhirom na Pattalung, Ph.D.	Retired government official
Surapee Kiratiyaangul	Agricultural Research Development Agency (ARDA)
Sanchai Tantayapom, 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. Piyapom 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. 3

September - December 2024

ISSN : 3027-7254 (Print) ISSN : 3027-7272 (Online)

CONTENTS

EDITORIAL.....233

Amara Chinaphuti

RESEARCH PAPERS

- Development of a Subsoiler with Two Tandem Shanks Arranged for Directional Movement and Automated Depth Adjustment.....234
Chanon Chaem Prathuang Usaborisut Chaiya Jantra Watcharachan Sukcharoenvipharat
Wanrat Abdullakasim
- Development of Vertical Planting Mechanism for Sugarcane Transplanter.....245
Patara Jhantaraudom Sirisak Chertkiattipol
- Response of Some Rice Varieties against the Fungus, *Exserohilum rostratum*,
Causing Leaf Spot Disease on Rice and Expression of Plant Hormone
Responsive Genes in Rice during Infection.....257
Yatavee Boonkorn Veeranee Tongsri Pattavipha Songkumarn
- Insight into Host-driven *in Planta* Evolution of Columnea Latent Viroid
through Quasi-species Population.....272
Parichate Tangkanchanapas Kanjana Warawichanee Annelies Haegeman Monica Höfte Kris De Jonghe
- Development of SNP Molecular Markers for Detection of *Xanthomonas*
oryzae pv. *oryzae* Population Causing Bacterial Blight Disease of Rice in Thailand
Using MassARRAY Technique.....287
Luksorn Tumariya Thitima Chintaganon Vinitchan Ruanjaichon Sujin Patarapuwadol
- Colour and Odour Characteristics of Local Durian Varieties in Songkhla Province.....302
Roosanee Kulvijitra Pojchanad Pathaburee Pisamai Pinsrithong Songsuda Promthong
Wachiraporn Pisitaro Sakchaibordee Pinsrithong
- Effects of Fruit Bagging Materials on Yield and Fruit Quality of 'Barhee' Date Palm.....317
Sumit Wilaiporn Siragan Srithanrat Siriluck Inthawong
- Yield Trial of Pisang Mas Banana Mutant Clones Derived from Gamma Irradiation.....330
Piyanut Musigapong Chayanuch Tripan Sumalee Srikaew Suppaluck Ariyaphuchai
Auttaapon Rukkaphan
- Comparison of Bunch Yield of Five Hybrids and Two Commercial Tenera Oil Palms
in the Young Mature Phase.....340
Suteera Thawornrat Puntaree Taeprayoon Kittichai Kor-Or Somkid Damnoi
Surakitti Srikul Peerasak Srinives Anek Limsrivilai Patcharin Tanya