



Proceedings

งานประชุมวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2
ประจำปี 2566

ระหว่างวันที่ 3-4 และ 18 สิงหาคม 2566

คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

จัดทำโดย

คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สมาคมศิษย์เก่าคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สมาคมศิษย์เก่าวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สมาคมสัตว์บาลแห่งประเทศไทย

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

สารจากประธานการจัดงาน

ประเทศไทยเป็นฐานด้านการเกษตรสำคัญของโลก แต่ด้วยการเกษตรกรรมแบบดั้งเดิมให้ผลตอบแทนต่ำ จึงทำให้เกษตรกรของไทยยังคงประสบปัญหาเรื่องรายได้ที่ไม่เพียงพอ ประกอบกับสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปจากภาวะโลกร้อน ซึ่งส่งผลกระทบต่อเกษตรกรทั้งระบบ ขณะเดียวกันชุมชนเมืองมีการขยายตัว ทำให้พื้นที่ในการทำการเกษตรทั้งการเพาะปลูกและเลี้ยงสัตว์ลดลง ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตจึงไม่สอดคล้องต่อความต้องการของตลาด นวัตกรรมเกษตรจึงเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว โดยนวัตกรรมเกษตร คือ การบูรณาการเทคโนโลยีสารสนเทศ เทคโนโลยีชีวภาพ และเทคโนโลยีการเกษตรที่ทันสมัยต่าง ๆ เข้ากับเกษตรกรรมแบบดั้งเดิม ด้วยเทคโนโลยีการเกษตรที่ทันสมัย เกษตรกรรมแบบแม่นยำสูงหรือฟาร์มอัจฉริยะ เกษตรกรรมในเมือง และเกษตรกรรมแบบยั่งยืน รวมไปถึงการจัดการผลิตผลเกษตรแบบครบวงจร นวัตกรรมเกษตรจึงเป็นเกษตรกรรมยุคใหม่ที่จะมีบทบาทมากขึ้นและถือว่าเป็นเกษตรกรรมของอนาคตได้ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ถือเป็นแกนกลางสำคัญที่ได้ดำเนินการวิจัยทางศาสตร์พื้นฐาน การประยุกต์ใช้เพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน นักวิชาการของคณะทรัพยากรธรรมชาติ ทั้งทางด้านนวัตกรรมเกษตรและการจัดการ นวัตกรรมการผลิตสัตว์และการจัดการและด้านวาริชศาสตร์และนวัตกรรมจัดการ ได้ทำงานวิจัยในเชิงบูรณาการสร้างองค์ความรู้สู่สิ่งประดิษฐ์ สร้างเป็นนวัตกรรมทางการเกษตร ช่วยเพิ่มขีดความสามารถให้กับธุรกิจภาคการเกษตรตั้งแต่ระดับเกษตรกร จากการใช้เทคโนโลยีและนวัตกรรมในการเพิ่มผลผลิต รวมทั้งการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลผลิต เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตพืชและสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญในภาคใต้อย่างยั่งยืน จึงกำหนดให้มีการจัดประชุมทางวิชาการระดับชาตินวัตกรรมเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2 ภายใต้หัวข้อ **“นวัตกรรมเกษตรและประมง พัฒนาประเทศ พลิกฟื้นเศรษฐกิจและสังคม”** ระหว่างวันที่ 3 - 4 สิงหาคม 2566 และ การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ ด้านวาริชศาสตร์ โดยสาขาวิชาวาริชศาสตร์และนวัตกรรมจัดการ ร่วมกับ Fukuyama City University (FCU) วันที่ 18 สิงหาคม 2566 ณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

ในนามของคณะกรรมการจัดงานประชุมวิชาการนวัตกรรมเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2 พร้อมด้วยผู้สนับสนุน ได้แก่ สมาคมศิษย์เก่าคณะทรัพยากรธรรมชาติ, สมาคมศิษย์เก่าวาริชศาสตร์, สมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย ขอขอบคุณวิทยากรบรรยายพิเศษ สถาบันการศึกษาต่าง ๆ หน่วยงานภาครัฐและเอกชน และผู้สนับสนุนการจัดกิจกรรมทั้งในลักษณะการให้ทุนสนับสนุน การส่งบุคลากรเข้าร่วมประชุม และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าทุกท่านจะได้รับผลสำเร็จจากการประชุมวิชาการครั้งนี้ ตามที่มุ่งหวังไว้ทุกประการ



(รองศาสตราจารย์ ดร.นริศ ท้าวจันทร์)

ประธานคณะกรรมการจัดงานประชุมฯ

สารจากประธานคณะกรรมการฝ่ายวิชาการ

จากการประชุมทางวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 1 ภายใต้หัวข้อ “นวัตกรรมการเกษตรและความมั่นคงทางอาหาร: โอกาสและการฟื้นตัวหลังวิกฤติโลก” ในงานเกษตรภาคใต้ครั้งที่ 28 ก้าวเข้าสู่ “นวัตกรรมเกษตรและประมงพัฒนาประเทศพลิกฟื้นเศรษฐกิจและสังคม” ในงานเกษตรภาคใต้ครั้งที่ 29 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ถือเป็นแกนกลางสำคัญที่ได้ดำเนินการวิจัย สังสมความรู้ นำสู่การประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาการเกษตรในอันที่จะพลิกฟื้นเศรษฐกิจ และสังคมที่ยั่งยืน นักวิชาการของคณะทรัพยากรธรรมชาติ ทั้งทางด้านนวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ นวัตกรรมการผลิตสัตว์และการจัดการ และด้านวาริชศาสตร์และนวัตกรรมการจัดการ ได้ทำงานวิจัยในเชิงบูรณาการสร้างขีดความสามารถให้กับธุรกิจภาคการเกษตรตั้งแต่ระดับเกษตรกร จากการใช้เทคโนโลยีและนวัตกรรมในการเพิ่มผลผลิต รวมทั้งการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลผลิต ด้วยประเทศไทยเป็นฐานด้านการเกษตรสำคัญของโลก การบูรณาการเทคโนโลยีสารสนเทศ เทคโนโลยีชีวภาพ และเทคโนโลยีการเกษตรที่ทันสมัยต่าง ๆ เข้ากับเกษตรกรรมแบบดั้งเดิมช่วยส่งเสริมให้เป็นเกษตรที่ทันสมัย เกษตรกรรมแบบแม่นยำสูงหรือฟาร์มอัจฉริยะ เกษตรกรรมในเมือง และเกษตรกรรมแบบยั่งยืน รวมไปถึงการจัดการผลิตผลเกษตรแบบครบวงจร นวัตกรรมเกษตรจึงเป็นเกษตรกรรมยุคใหม่ที่จะมีบทบาทมากขึ้นและถือว่าเป็นเกษตรกรรมของอนาคตในการผลิตพืชและสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญในภาคใต้ อย่างยั่งยืน พลิกฟื้นให้เศรษฐกิจและสังคม คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จึงกำหนดให้มีการจัดประชุมทางวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2 ภายใต้หัวข้อที่เขียนไว้ข้างต้นด้วยการนำเสนอผลงานวิจัยทั้ง ภาคบรรยาย และโปสเตอร์จากนักวิชาการในศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระหว่างวันที่ 3 - 4 และ 18 สิงหาคม 2566 ณ อาคาร 2 และ 3 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

ในนามของคณะกรรมการจัดงานประชุมวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2 พร้อมด้วยผู้สนับสนุน ได้แก่ สมาคมศิษย์เก่าคณะทรัพยากรธรรมชาติ, สมาคมศิษย์เก่าวาริชศาสตร์, สมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย ขอขอบคุณวิทยากรบรรยายพิเศษ สถาบันการศึกษาต่าง ๆ หน่วยงานภาครัฐและเอกชน และผู้สนับสนุนการจัดกิจกรรมทั้งในลักษณะการให้ทุนสนับสนุน การส่งบุคลากรเข้าร่วมประชุม และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าทุกท่านจะได้รับผลสำเร็จจากการประชุมวิชาการครั้งนี้ ตามที่มุ่งหวังไว้ทุกประการ



ศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต
ประธานคณะกรรมการฝ่ายวิชาการและประสานงาน

งานประชุมวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2 “นวัตกรรมเกษตรและประมง พัฒนาประเทศ พลิกฟื้นเศรษฐกิจและสังคม”

ระหว่างวันที่ 3-4 สิงหาคม 2566 ณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

1. หลักการและเหตุผล

ประเทศไทยเป็นฐานด้านการเกษตรสำคัญของโลก แต่ด้วยการเกษตรกรรมแบบดั้งเดิมให้ผลตอบแทนต่ำ จึงทำให้เกษตรกรของไทยยังคงประสบปัญหาเรื่องรายได้ที่ไม่เพียงพอ ประกอบกับสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปจากสภาวะโลกร้อน ซึ่งส่งผลกระทบต่อเกษตรกรกรรม ทั้งระบบ ขณะเดียวกันชุมชนเมืองมีการขยายตัว ทำให้พื้นที่ในการทำการเกษตรทั้งการเพาะปลูกและเลี้ยงสัตว์ลดลง ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตจึงไม่สอดคล้องต่อความต้องการของตลาด นวัตกรรมเกษตรจึงเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว โดยนวัตกรรมเกษตร คือ การบูรณาการเทคโนโลยีสารสนเทศ เทคโนโลยีชีวภาพ และเทคโนโลยีการเกษตรที่ทันสมัยต่างๆ เข้ากับเกษตรกรรมแบบดั้งเดิม ด้วยเทคโนโลยีการเกษตรที่ทันสมัย เกษตรกรรมแบบแม่นยำสูงหรือฟาร์มอัจฉริยะ เกษตรกรรมในเมือง และเกษตรกรรมแบบยั่งยืน รวมไปถึงการจัดการผลิตผลเกษตรแบบครบวงจร นวัตกรรมเกษตรจึงเป็นเกษตรกรรมยุคใหม่ที่จะมีบทบาทมากขึ้นและถือว่าเป็นเกษตรกรรมของอนาคตได้ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ถือเป็นแกนกลางสำคัญที่ได้ดำเนินการวิจัยทางศาสตร์พื้นฐาน การประยุกต์ใช้เพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน นักวิชาการของคณะทรัพยากรธรรมชาติ ทั้งทางด้านนวัตกรรมเกษตรและการจัดการ นวัตกรรมการผลิตสัตว์และการจัดการ และด้านวาริชศาสตร์และนวัตกรรมการจัดการ ได้ทำงานวิจัยในเชิงบูรณาการสร้างสรรค์ความรู้สู่สิ่งประดิษฐ์ สร้างเป็นนวัตกรรมทางการเกษตร ช่วยเพิ่มขีดความสามารถให้กับธุรกิจภาคการเกษตรตั้งแต่ระดับเกษตรกร จากการใช้เทคโนโลยีและนวัตกรรมในการเพิ่มผลผลิต รวมทั้งการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลผลิต เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตพืชและสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญอย่างยั่งยืนต่อไป

คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จึงกำหนดให้มีการจัดงานประชุมวิชาการ นวัตกรรมเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2 “นวัตกรรมเกษตรและประมง พัฒนาประเทศ พลิกฟื้นเศรษฐกิจและสังคม” ณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ระหว่างวันที่ 3-4 สิงหาคม 2566 โดยจัดให้มีการบรรยายพิเศษจากผู้เชี่ยวชาญในหัวข้อที่เกี่ยวข้องกับนวัตกรรมเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ การนำเสนอผลงานทางวิชาการทั้งในภาคบรรยายและโปสเตอร์จากนักวิชาการ ในสาขาทางด้านปรับปรุงพันธุ์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพและชีวโมเลกุลพืช สาขาสัตววิทยาพืชก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว สาขาเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ การจัดการศัตรูพืช ปฐพีศาสตร์ พัฒนาการเกษตร สัตวศาสตร์/การผลิตสัตว์ วาริชศาสตร์/ด้านประมง และสาขาที่เกี่ยวข้อง โดยผลงานจากงานประชุมวิชาการดังกล่าวจะได้ส่งต่อให้กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาและตีพิมพ์ใน “e-Proceedings, วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, วารสาร ASEAN Journal of Scientific and Technological Reports, วารสาร Food Agricultural Sciences and Technology (FAST) และวารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมเกษตร” และจัดให้มีการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ ด้านวาริชศาสตร์ โดยสาขาวิชาวาริชศาสตร์และนวัตกรรมการจัดการร่วมกับ Fukuyama City University (FCU) ในวันที่ 18 สิงหาคม 2566

ซึ่งการจัดงานประชุมวิชาการในครั้งนี้ ตรงกับช่วงการจัดงานเกษตรภาคใต้ครั้งที่ 29 ซึ่งภายในงานดังกล่าวยังมีนิทรรศการ การประกวด และการสาธิตจากหน่วยงานต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชน การแสดงและจำหน่ายสินค้าทางการเกษตรจำนวนมาก จึงขอเรียนเชิญผู้สนใจทั้งนักวิชาการ เกษตรกร ตลอดจนนักเรียน นักศึกษาจำนวนมาก ไม่ว่าจะเป็เกษตรกร และนักวิชาการทางด้านที่เกี่ยวข้อง เข้าร่วมประชุมโดยพร้อมเพรียงกัน การ

สัมมนาทางวิชาการครั้งนี้ นับเป็นก้าวแรกในการระดม/แลกเปลี่ยนความรู้เพื่อนำไปสู่การพัฒนา ดูแลรักษา รวมไปถึง การสร้างนวัตกรรมใหม่ด้านการเกษตรเพื่อเพิ่มคุณภาพและตอบสนองความต้องการของตลาดที่เปลี่ยนแปลงไป อย่างรวดเร็ว

2. วัตถุประสงค์:

- 1) เพื่อให้ให้นักวิจัย นักวิชาการด้านการเกษตรทุกภาคส่วนทั้งระดับชาติและนานาชาติ ได้พบปะแลกเปลี่ยน ความรู้และประสบการณ์จากผลงานการวิจัยและพัฒนา
- 2) เพื่อให้ให้นักวิจัยและนักวิชาการของภาครัฐ ภาคการศึกษาและภาคเอกชนทั้งระดับชาติและนานาชาติ ได้รับทราบข้อมูลความรู้ที่เป็นปัจจุบันที่เกี่ยวกับความก้าวหน้าทางด้านการเกษตร
- 3) เพื่อรวบรวมผลงานข้อมูลงานวิจัยที่ได้เสนอในการประชุม จัดพิมพ์เป็นเอกสารเพื่อเผยแพร่ให้แก่ สาธารณชนต่อไป
- 4) เพื่อให้ให้นักวิจัยและนักวิชาการจากสถาบันที่ทำการวิจัยมีทิศทางศึกษาวิจัย ได้ตรงกับปัญหาของ เกษตรกร และสามารถตอบสนองต่อความต้องการของภาคเอกชนผู้ประกอบการธุรกิจด้านการเกษตรได้อย่างเป็น รูปธรรม
- 5) เพื่อให้เกิดความร่วมมือระหว่างนักวิจัยในศาสตร์ที่เกี่ยวข้องทั้งระดับชาติและนานาชาติ ทางด้านพืช ศาสตร์ การจัดการศัตรูพืช ปฐพีศาสตร์ พัฒนาการเกษตร สัตวศาสตร์/การผลิตสัตว์ วาริชศาสตร์/ด้านประมง เพื่อ พัฒนาให้เป็นเครือข่ายของนักวิจัยต่อไป

3. หน่วยงานรับผิดชอบ:

- 1) กลุ่มงานวิจัย นวัตกรรมและพันธกิจเพื่อสังคม คณะทรัพยากรธรรมชาติ
- 2) สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ
- 3) สาขาวิชาวาริชศาสตร์และนวัตกรรมการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ
- 4) สาขานวัตกรรมการผลิตสัตว์และการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

4. หน่วยงานสนับสนุน :

- 1) สมาคมศิษย์เก่าคณะทรัพยากรธรรมชาติ
- 2) สมาคมศิษย์เก่าวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ
- 3) สมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย
- 4) องค์กรเอกชนและบริษัทต่างๆ

5. กลุ่มเป้าหมายผู้ร่วมประชุม :

- 1) หน่วยงานภาครัฐ
- 2) สถาบันการศึกษา
- 3) หน่วยงานภาคเอกชน
- 4) นักศึกษาคณะทรัพยากรธรรมชาติ
- 5) นักศึกษาจากภายนอก

6. สถานที่และระยะเวลาในการจัดประชุม: คณะทรัพยากรธรรมชาติ ระหว่างวันที่ 3-4 สิงหาคม 2566

7. รูปแบบการจัดการประชุมวิชาการ :

- การบรรยายพิเศษจากวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิจากภาครัฐและเอกชน

- **การนำเสนอผลงานวิจัยภาคบรรยายและภาคโปสเตอร์**
 - สาขาทางด้านพืช เช่นปรับปรุงพันธุ์ สรีรวิทยาพืช วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว เทคโนโลยีชีวภาพ
 - สาขาทางการจัดการศัตรูพืช เช่น ระบบการผลิต การป้องกันกำจัดศัตรูพืชสวน
 - สาขาด้านปฐพีศาสตร์ เช่น การจัดการทรัพยากรดิน การพัฒนาที่ดินเพื่อการเกษตร การให้น้ำ-ให้ปุ๋ย

ความอุดมสมบูรณ์ของดิน ธาตุอาหารพืช ปุ๋ยและสารปรับปรุงดิน

 - สาขาพัฒนาการเกษตร เช่น การส่งเสริมและการติดต่อสื่อสารทางการเกษตร เศรษฐศาสตร์การพัฒนา ธุรกิจเกษตร ระบบข้อมูลและสารสนเทศทางการเกษตร การพัฒนาชนบท มนุษย์สัมพันธ์ในการพัฒนา การจัดการทรัพยากรเกษตรอย่างถูกวิธีมีประสิทธิภาพและยั่งยืน
 - สาขาสัตวศาสตร์/การผลิตสัตว์ เช่น การปรับปรุงพันธุ์สัตว์ การเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของสัตว์ เศรษฐกิจ โภชนาศาสตร์และการให้อาหารสัตว์ เทคโนโลยีชีวภาพการผลิตสัตว์ วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ การสุภาพบาล การป้องกันโรค และมาตรฐานฟาร์มสัตว์ การวางแผน การจัดการฟาร์มและการตลาดปศุสัตว์
 - สาขาวาริชศาสตร์/ด้านประมง เช่น การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆ การจัดการทรัพยากรทางน้ำอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน
 - อื่นๆ เช่น ระบบการตลาด โลจิสติกส์ เศรษฐศาสตร์ธุรกิจ พืชสวน ภูมิทัศน์ทางพืชสวน ส่งเสริมการเกษตร
- **นิทรรศการในงานเกษตรภาคใต้และโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ** เช่น แปลงสาธิตการปลูกพืชในโรงเรือนอัจฉริยะ การเพาะเห็ดในโรงเรือน คลินิกเทคโนโลยีการผลิตปาล์มน้ำมัน ชีวภัณฑ์ควบคุมโรคและแมลงปาล์มน้ำมัน นิทรรศการพืชกระท่อม การผลิตพืชโดยไม่ใช้ดิน เทคโนโลยีชีวภาพกับการผลิตพืช นวัตกรรมอัจฉริยะสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในอนาคต การเลี้ยงปูทะเลในระบบน้ำแบบหมุนเวียน และนิทรรศการทางด้านสัตวศาสตร์ การส่งเสริมการเลี้ยงแพะและการบริโภคผลิตภัณฑ์จากแพะ นิทรรศการไก่เบตงครบวงจร เป็นต้น

8. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) นักวิจัยได้นำเสนอและเผยแพร่ผลงานวิจัย เพื่อผู้เกี่ยวข้องได้นำไปใช้ประโยชน์
- 2) ผู้เข้าร่วมประชุมได้พบปะแลกเปลี่ยนประสบการณ์และความรู้ใหม่ ๆ เป็นการสร้างเครือข่ายระหว่างนักวิจัยและผู้เกี่ยวข้องหลายภาคส่วน เพื่อประโยชน์ในการวิจัยและพัฒนาด้านการเกษตรของประเทศ
- 3) เป็นการพัฒนานักศึกษา นักวิจัย และบุคลากรอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องทางการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ

9. กำหนดการส่งผลงานวิจัย

ระยะเวลา	กิจกรรม
พฤษภาคม-กรกฎาคม 2566	ลงทะเบียนเข้าร่วมงาน
1-31 พฤษภาคม 2566	เปิดรับบทความคัดย่อและเรื่องเต็ม
30 มิถุนายน 2566	แจ้งผลพิจารณาบทความคัดย่อและเรื่องเต็มผ่านทางเว็บไซต์
15 กรกฎาคม 2566	วันสุดท้ายของการชำระเงินค่าลงทะเบียน
3-4, 18 สิงหาคม 2566	งานประชุมวิชาการฯ

10. การสมัครและอัตราค่าลงทะเบียน: การประชุมวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2 (วันที่ 3-4 สิงหาคม 2566)

ประเภท	ชำระเงินก่อน 15 กรกฎาคม 2566	ชำระเงินหลัง 15 กรกฎาคม 2566
บุคคลทั่วไป ร่วมนำเสนอผลงาน	2,500 บาท/เรื่อง	3,000 บาท/เรื่อง
นิสิต / นักศึกษา ร่วมนำเสนอผลงาน	1,000 บาท/เรื่อง	1,500 บาท/เรื่อง
ผู้เข้าร่วมงานแบบไม่นำเสนอ	1,500 บาท/เรื่อง	1,500 บาท/เรื่อง

หมายเหตุ:

1. ค่าลงทะเบียน ไม่รวมค่าใช้จ่ายในการเดินทางและค่าที่พัก (ผู้เข้าร่วมประชุมจ่ายเอง)
2. คณะผู้จัดฯ ขอสงวนสิทธิ์ไม่จ่ายเงินคืนไม่ว่ากรณีใด

11. การชำระเงิน :

ชำระค่าลงทะเบียนโดยผ่านบัญชีธนาคารไทยพาณิชย์จำกัด สาขา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่

ชื่อบัญชี : เงินอุดหนุนโครงการวิจัยคณะทรัพยากรธรรมชาติ

หมายเลขบัญชี : 565-206832-3

กรุณายืนยันการชำระเงินโดยแนบหลักฐานการชำระเงินค่าลงทะเบียนโดยเขียนชื่อ-นามสกุลผู้ลงทะเบียน และอัปโหลดไฟล์ผ่านระบบการลงทะเบียนออนไลน์ในเวปไซด์งานประชุมหรือส่งมาที่โทรสาร : 0-7428-6038

12. ติดต่อสอบถามได้ที่

นางสาวชมพูนุท บัวเฟื่อน

กลุ่มงานวิจัย นวัตกรรมและพันธกิจเพื่อสังคม คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

Email: ainr.psu@gmail.com

เบอร์โทรศัพท์ 074-286060

13. วิธีการส่งบทคัดย่อและเรื่องเต็ม

การส่งบทคัดย่อ

ผู้ที่ต้องการส่งบทคัดย่อเพื่อเข้าร่วมการนำเสนองานวิจัย จะตีพิมพ์บทคัดย่อในเล่มเอกสารรวมบทคัดย่อ (Abstract Book) ผู้นำเสนอผลงาน โดยสามารถส่งผลงานของท่านได้ทางระบบเว็บไซต์ของงานประชุมฯ ครั้งที่ 2 “กฐณาระบุประเภทการนำเสนอมาด้วยทุกครั้ง” เมื่อคณะอนุกรรมการประชุมได้รับผลงานของท่านแล้วจะแจ้งการตอบรับ ผลงานที่ผ่านการพิจารณานำเสนอ จะต้องปรับปรุงแก้ไขบทคัดย่อให้ถูกต้องตามรูปแบบข้อกำหนดอย่างเคร่งครัดหากไม่สมบูรณ์หรือไม่ถูกต้องจะส่งคืนผู้นำเสนอแก้ไขก่อนการตีพิมพ์ต่อไป เพื่อนำเสนอภาคบรรยายและภาคโปสเตอร์

การส่งเรื่องเต็ม

ผู้ที่ต้องการส่งเรื่องเต็มเพื่อตีพิมพ์บทความฉบับสมบูรณ์ (Full paper) ในรายงานการประชุมวิชาการ (e-Proceeding) (ไม่เกิน 10 หน้ากระดาษ A4) สามารถส่งผลงานของท่านได้ทางระบบเว็บไซต์ของงานประชุมฯ

ครั้งที่ 2 หรือทางอีเมล Email: ainr.psu@gmail.com โดยพิมพ์ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟเวิร์ด (Microsoft Word for Windows 2007) เมื่อคณะอนุกรรมการประชุมได้รับผลงานของท่านแล้วจะแจ้งการตอบรับ ผลงานที่ผ่านการพิจารณานำเสนอ จะต้องปรับปรุงแก้ไขให้ถูกต้องตามรูปแบบข้อกำหนดอย่างเคร่งครัดหากไม่สมบูรณ์หรือไม่ถูกต้องจะส่งคืนผู้นำเสนอแก้ไขก่อนการตีพิมพ์ต่อไป

14. เรื่องเต็ม (Full paper)

รูปแบบและข้อกำหนดการเขียนเรื่องเต็มตามเอกสารแนบ (2)

15. การนำเสนอผลงานภาคบรรยาย

ข้อกำหนดการนำเสนอผลงานภาคบรรยาย เพื่อให้การนำเสนอของผู้สัมมนาเป็นไปด้วยความเรียบร้อย ไม่ให้เกิดปัญหาทางด้านเทคนิค ในการนำเสนอจึงขอความร่วมมือให้ผู้นำเสนอดำเนินการดังนี้

การบันทึกไฟล์นำเสนอ

บันทึกไฟล์นามสกุล .ppt ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟต์ออฟฟิศ (Microsoft Office) หรือ .pdf

- ผู้นำเสนอผลงานจะต้องนำไฟล์ที่ต้องการนำเสนอบันทึกลงในเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ทางผู้จัดเตรียมไว้ เท่านั้นโดยกำหนดให้ผู้ให้นำเสนอในแต่ละวัน นำไฟล์มามอบให้เจ้าหน้าที่เพื่อดำเนินการอย่างน้อย 1 ชั่วโมงก่อนนำเสนอ

การนำเสนอ

- ผู้นำเสนอมีเวลาในการนำเสนอ จำนวน 12 นาที เวลาซักถามจากผู้ทรงคุณวุฒิ จำนวน 3 นาที รวม 15 นาที เมื่อหมดเวลา 12 นาที ผู้นำเสนอหยุดการนำเสนอและเตรียมตัวตอบคำถามจากผู้ทรงคุณวุฒิตัดสินการนำเสนอผลงาน

16. การเตรียมเสนองานภาคโปสเตอร์

- ข้อกำหนดสำหรับผู้นำเสนอผลงานภาคโปสเตอร์

โปสเตอร์ที่ผ่านการพิจารณาแล้ว ต้องติดแสดงผลงานภาคโปสเตอร์ในวันประชุมทั้งวัน โดยผู้นำเสนอจะต้องติดตั้งโปสเตอร์ตั้งแต่วันที่ 3 สิงหาคม 2566 เวลา 08.30 น. เป็นต้นไป และให้เสร็จเรียบร้อยภายในเวลา 12.00 น. ของวันดังกล่าว และเริ่มเก็บโปสเตอร์ในวันที่ 4 สิงหาคม 2566 ตั้งแต่เวลา 17.00 น.

-ข้อกำหนดสำหรับผู้นำเสนอผลงานภาคโปสเตอร์

กำหนดให้นำเสนอผลงานโปสเตอร์มีขนาดกว้าง 80 เซนติเมตร สูง 100 เซนติเมตร จำนวน 1 แผ่นต่อเรื่อง และวางคิวอาร์โค้ด ขนาด 5x5 เซนติเมตร ไว้มุมล่างขวาของโปสเตอร์

สารบัญ

	หน้า
Title Page	ก
สารจากประธานจัดงานและคณะกรรมการวิชาการ	ข
รายละเอียดโครงการ	ง
สารบัญ	ญ
พืชศาสตร์: สรีรวิทยาการผลิตพืช (PP)	
PPP013: ผลของวิธีการให้น้ำต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5	1
PPP035: อิทธิพลของการใส่วัสดุอินทรีย์บางชนิดต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในสภาพดินเนื้อหยาบ	8
พืชศาสตร์: เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ (PS)	
PSO026: ผลของน้ำร้อนต่อความงอก และโอเพอคูลัมของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1	15
การจัดการศัตรูพืช (PE)	
PEO014: การคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตหัวเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 และวิธีการใช้ควบคุมด้วงหมัดผัก	23
วาริชศาสตร์ (AQ)	
AQO006: การเสริมตะกอนไบโอฟลอกคอบแห้งในสูตรอาหารต่อการต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรค <i>Aeromonas hydrophila</i> ในปลานิล (<i>Oreochromis niloticus</i> , Lin)	30
International Aquatic Science Session	
AQO022: Effects of Ethanolic Vinasse Extract on Growth, Gene Expression, and Biofilm Formation of AHPND-Causing <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (VpAHPND) Strain	38
AQO063: Screening and Characterization of Photosynthetic Bacteria (PSB) for Hydrogen Sulfide Removal	48
ภาคผนวก	
รายงานผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาบทความ	57
รายงานผู้สนับสนุนงบประมาณจัดประชุม	60
รายงานคณะกรรมการจัดประชุมวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 1	63

ผลของวิธีการให้น้ำต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 Effect of Irrigation Management on Growth and Yield of Nakhon Sawan 5 Hybrid Maize

สามัคคี จงฐิตินนท์^{1*} ศิวีไล ลาภบรรจบ² และ การิตา จงเจือกกลาง²
Jongthitinin, S.^{1*}, Lapbanjob, S.² and Chongchuaklang, K.²

¹ ศูนย์วิจัยพืชไร่สงขลา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

¹ Songkhla Field Crops Research Center, Hat Yai, Songkhla, 90110

² ศูนย์วิจัยพืชไร่ นครสวรรค์ อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ 60190

² Nakhon Sawan Field Crops Research Center, Takfa, Nakhon Sawan, 60190

* Corresponding author: willy.jongthitinin@gmail.com

บทคัดย่อ

การขาดน้ำมีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยเฉพาะการขาดน้ำในระยะออกดอกจนถึงระยะสะสมน้ำหนักเมล็ด ทำให้ผลผลิตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ปัจจุบันนิยมใช้ระบบการให้น้ำพืชเพื่อลดความเสี่ยงจากการขาดน้ำ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการให้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 ซึ่งดำเนินการปลูกในฤดูแล้งเดือนธันวาคม พ.ศ.2564 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วยวิธีการให้น้ำ 2 ระบบ คือ น้ำหยด และน้ำพุ่ม ร่วมกับปริมาณการให้น้ำ 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ผลการทดลองพบว่า ระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 75 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ให้ผลผลิตสูงและใช้น้ำน้อย โดยให้ผลผลิต 1,032 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งเทียบเท่ากับระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ นอกจากนี้ระบบน้ำพุ่มสามารถช่วยให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ดูดใช้ธาตุไนโตรเจนได้ดีกว่าการให้น้ำหยด ส่งผลต่อการเจริญเติบโตทางด้านความสูงต้น และความสูงฝัก ดังนั้นวิธีการให้น้ำข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 ที่เหมาะสม คือ ระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 75 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ

คำสำคัญ : ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม การคายระเหยน้ำ

Abstract

Dehydration is a limiting of growth, yield and quality of maize. Especially, dehydration in flowering stage to grain filling period was decreased yield at 50 percent. Recently, irrigation system was applied to reduce the risk of dehydration. The aim of this study was irrigation management methods for Nakhon Sawan 5 hybrid maize. The experiment had started on December 2021 dry season, that was conducted in a randomized complete block design with 4 replications, drip irrigation and rain spray irrigation at 50, 75, and 100 percent respectively of evapotranspiration. The results indicated that rain spray irrigation at 75 percent of maize evapotranspiration has highest grain yield and low water consumption (the grain yield 1,032 kg rai⁻¹), when compared with drip irrigation and rain spray irrigation at 100 percent of maize evapotranspiration. Addition, this uptake nitrogen fertilizer greater than drip irrigation system, resulting in growth improved of stem height and pod height. Therefore, the appropriate irrigation management for Nakhon Sawan 5 hybrid maize is the rain spray irrigation system at 75 percent of maize evapotranspiration.

Keywords: Maize hybrid, Evapotranspiration

บทนำ

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยใช้บริโภคภายในประเทศและเพื่ออุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์ 90 เปอร์เซ็นต์ และใช้ในอุตสาหกรรมแป้ง 10 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2563/64 มีพื้นที่ปลูก 7.08 ล้านไร่ แบ่งเป็นการปลูกในพื้นที่เขตชลประทาน 4.68 เปอร์เซ็นต์ (0.33 ล้านไร่) และนอกเขตชลประทาน 95.32 เปอร์เซ็นต์ (6.76 ล้านไร่) ผลผลิตรวมทั้งประเทศ 4.99 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 705 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 ได้รับการรับรองพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตรเมื่อปี 2562 เป็นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมเตี้ยอายุค่อนข้างสั้น สามารถ

เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 95-100 วัน ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1,459 กิโลกรัมต่อไร่ ในสภาพที่มีการให้น้ำเสริม และในสภาพแล้งให้ผลผลิตเฉลี่ย 749 กิโลกรัมต่อไร่ (ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์, 2563)

น้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะปลูกพืช และเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดั้นจำเป็นต้องมีระบบการให้น้ำพืชที่ดี ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในเขตร้อนชื้นมีความต้องการใช้น้ำ 600-900 มิลลิเมตรต่อฤดูปลูก (Fageria *et al.*, 1997) ซึ่งปริมาณน้ำที่ข้าวโพดใช้จะแตกต่างกันขึ้นกับช่วงวันปลูก สมบัติทางกายภาพของดิน อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และพันธุ์ ปริมาณน้ำที่ข้าวโพดต้องการใช้ในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตจะแตกต่างกัน ข้าวโพดมีความต้องการน้ำสูงสุดในระยะออกดอกและระยะแรกของการสร้างเมล็ด หากขาดน้ำในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น และใบ ผลผลิตจะลดลง 25 เปอร์เซ็นต์ หากขาดน้ำในระยะออกดอก จนถึงระยะเริ่มสร้างเมล็ด ทำให้เมล็ดติดไม่เต็มฝักหรือไม่ติดเมล็ด ผลผลิตจะลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ และหากขาดน้ำในระยะหลังการสร้างเมล็ด ผลผลิตจะลดลง 21 เปอร์เซ็นต์ (Denmead and Shaw, 1960; Aron, 1974; Grant *et al.*, 1989; Huang *et al.*, 2006; Grudloyma *et al.*, 2005) ปัจจุบันระบบการให้น้ำมีหลากหลายรูปแบบ ได้แก่ การให้น้ำทางใต้ดิน การให้น้ำทางผิวดิน การให้น้ำแบบพ่นฝอย และการให้น้ำเป็นจุดอย่างช้า (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) ซึ่งในแต่ละระบบการให้น้ำจะมีข้อดีและข้อเสียที่ต่างกัน เช่นระบบการให้น้ำแบบพ่นฝอยช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับบรรยากาศรอบข้าง แต่มีค่าลงทุนแรกเริ่มสูง ประสิทธิภาพการให้น้ำจะต่ำ หากนำไปใช้ในพื้นที่ที่มีลมแรง และจะมีปัญหาเรื่องวัชพืช ส่วนการให้น้ำเป็นจุดอย่างช้า เป็นระบบการให้น้ำที่ประหยัดที่สุดและประสิทธิภาพสูงที่สุดในระบบการให้น้ำทั้งหมด เพราะเป็นการให้น้ำเฉพาะที่โดยเป็นการให้น้ำเฉพาะในเขตรากพืช (Root zone) และยังสามารถให้น้ำไปพร้อมกับน้ำได้ แต่จะมีปัญหาการอุดตันที่หัวจ่ายน้ำ การกระจายตัวของรากไม่ดี และค่าลงทุนเริ่มแรกสูง (ธราวุฒิ, 2561) ดังนั้นจึงได้ศึกษาผลของวิธีการให้น้ำต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 เพื่อใช้เป็นคำแนะนำวิธีการให้น้ำที่เหมาะสมในการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5

อุปกรณ์และวิธีการ

การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (Randomized Complete Block Design) จำนวน 4 ซ้ำ สำหรับกรรมวิธีประกอบด้วยวิธีการให้น้ำ 2 ระบบ คือ น้ำหยด และน้ำพุ่ม ร่วมกับปริมาณการให้น้ำ 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ โดยคำนวณของการคายระเหยน้ำของพืชตามวิธีของ Smith (1992) $ET_c = ETo \times K_c$ (ET_c = ปริมาณความต้องการน้ำของพืช (มม./วัน) ETo = ปริมาณการใช้น้ำของพืชอ้างอิง (มม./วัน) K_c = ค่าสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของพืช) คำนวณอัตราการคายระเหยของพืชอ้างอิง (ETo) โดยใช้วิธีของ FAO Blaney-Criddle และค่าสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (K_c) ซึ่งรายงานไว้โดย กลุ่มงานวิจัยการใช้น้ำชลประทาน (2552) ดำเนินการในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ต.สุขสำราญ อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์ ฤดูแล้ง ปี พ.ศ. 2564 โดยปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์ 5 ระยะแถวปลูก 70 เซนติเมตร ระยะปลูกระหว่างต้น 15 เซนติเมตร โดยแปลงย่อยมีขนาด 63 ตารางเมตร ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 แถว แต่ละแถวยาว 9 เมตร ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 1.5 เท่า ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทช 1 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยใส่ปุ๋ยรองพื้นก่อนปลูกด้วยปุ๋ยไนโตรเจน 1/3 อัตรา ส่วนปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชใส่เต็มอัตรา เมื่อข้าวโพดอายุ 3-4 สัปดาห์ ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ด้วยปุ๋ยไนโตรเจน 1/3 อัตรา และใส่ปุ๋ยครั้งที่ 3 ด้วยปุ๋ยไนโตรเจน 1/3 อัตรา เมื่อข้าวโพดมีอายุ 40-45 วัน ดูแลรักษาแปลงทดลองด้วยวิธีการตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน, 2563) ใช้สารเคมี และสารกำจัดศัตรูพืชตามความจำเป็น เก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 100 วัน

การบันทึกข้อมูลและการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 และ 20-50 เซนติเมตร นำมาผึ่งให้แห้ง และร่อนผ่านตะแกรงช่องเปิดขนาด 2 มิลลิเมตร เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ได้แก่ พีเอช (ดิน:น้ำ=1:1) อินทรีย์วัตถุ (Walkley and Black) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray II) โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ($1M NH_4OAc$ pH 7) (จำเป็น และจักรกฤษณ์, 2559) บันทึกข้อมูลการปฏิบัติในแปลงทดลอง การเจริญเติบโต การให้ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวโพด ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนต้นเก็บเกี่ยวต่อแปลง จำนวนฝักเก็บเกี่ยวต่อแปลง จำนวนฝักที่ติดเมล็ดน้อยกว่า 50% ของฝัก จำนวนฝักเน่าเสียที่มีโรค/แมลง น้ำหนักฝัก ผลผลิต ความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว เปอร์เซ็นต์กะเทาะ วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืช โดยเก็บใบที่อยู่ด้านตรงข้ามด้านล่างของฝักในระยะออกใหม่ (จำเป็น และจักรกฤษณ์, 2559) และวิเคราะห์ประสิทธิภาพการใช้น้ำ (water use efficiency, WUE) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางเดียวด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกรรมวิธีโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สมบัติทางเคมีของดินก่อนปลูกและปริมาณน้ำที่ให้เสริมในกรรมวิธีต่างๆ

เก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกข้าวโพดในพื้นที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ที่ระดับความลึก 0-20 และ 20-50 เซนติเมตร พบว่าดินชั้นบนที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.40 อินทรีย์วัตถุ 1.62 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ดินชั้นล่าง ที่ระดับความลึก 20-50 เซนติเมตร มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.25 อินทรีย์วัตถุ 1.61 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1) จากผลการวิเคราะห์ดินก่อนปลูกสามารถประเมินการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินสำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่อัตรา 15-10-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

ตลอดฤดูปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีค่าการคายระเหยน้ำ 628.65 มิลลิเมตร ปริมาณน้ำฝน 91.40 มิลลิเมตร ทำให้ต้องมีการให้น้ำเสริมตามกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้ ระบบน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ มีการให้น้ำเสริม 254.18 406.61 และ 557.85 มิลลิเมตร (คิดเป็นเวลาในการให้น้ำ 665 1,014 และ 1,374 นาที) ตามลำดับ ส่วนระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ มีการให้น้ำเสริม 266.62 418.37 และ 570.55 มิลลิเมตร (คิดเป็นเวลาในการให้น้ำ 128 200 และ 273 นาที) ตามลำดับ (Table 2) จะเห็นได้ว่าระบบน้ำพุ่มสามารถช่วยลดระยะเวลาในการให้น้ำได้ถึง 5 เท่าของระบบน้ำหยด

Table 1 Characteristics of soil properties at Nakhon Sawan Field Crops Research Center before planting.

Soil depth (cm)	pH	Organic matter (%)	Avail. P (mg kg ⁻¹)	Exch. K (mg kg ⁻¹)
0-20	7.40	1.62	9	55
20-50	7.25	1.61	6	55
	Soil:water (1:1)	Walkley and Black	Bray II	1 M NH ₄ OAC pH 7

การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

วิธีการให้น้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อความเข้มข้นของไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในใบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อย่างมีนัยสำคัญ โดยระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 100 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ จะทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สูงกว่าระบบน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ นอกจากนี้ระบบน้ำพุ่มและน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในใบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สูงกว่าระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ แต่วิธีการให้น้ำที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อความเข้มข้นของโพแทสเซียมในใบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยรวมเท่ากับ 1.95 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) เนื่องจากการให้น้ำเป็นจุดอย่างช้าเป็นการให้น้ำเฉพาะที่โดยเฉพาะเป็นการให้น้ำเฉพาะในเขตรากพืช ซึ่งต่างจากระบบการให้น้ำแบบพ่นฝอยช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับบรรยากาศรอบข้าง และเป็นการให้น้ำกระจายครอบคลุมหน้าดิน (ธราวุฒิ, 2561) ดังนั้นระบบการให้น้ำแบบน้ำพุ่มทำให้การกระจายตัวของรากพืชดีกว่าระบบน้ำหยด ส่งผลให้รากพืชมีพื้นที่ในการดูดใช้ธาตุอาหารได้ดีกว่า อีกทั้งสอดคล้องกับ Khokan และคณะ (2020) รายงานว่า การให้น้ำในปริมาณที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส ส่งผลให้ข้าวโพดดูดใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสได้สูงขึ้น และจากการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินที่อัตรา 15-10-15 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ในใบของข้าวโพดอยู่ในระดับที่ไม่เพียงพอ ความเข้มข้นของธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในใบของข้าวโพดระดับที่เพียงพอ 2.7-3.5 0.2-0.4 และ 1.7-2.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ยงยุทธ, 2548) นอกจากนี้ระบบการให้น้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อความสูงต้นและความสูงฝักอย่างมีนัยสำคัญอยู่ โดยการระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ มีความสูงต้นเฉลี่ย 214 และ 202 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าระบบการให้น้ำด้วยวิธีอื่น ๆ ในทำนองเดียวกันระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ มีความสูงฝักเฉลี่ย 117 เซนติเมตร สูงกว่าระบบการให้น้ำด้วยวิธีอื่น ๆ และระบบการให้น้ำที่แตกต่างกันจะไม่มีผลกับจำนวนฝักเก็บเกี่ยว ที่มีค่าเฉลี่ยรวม 15,036 ฝักต่อไร่ นอกจากนี้ระบบการให้น้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อจำนวนฝักดี จำนวนฝักเสีย และน้ำหนักต้นสด โดยระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดในปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นมีผลให้จำนวนฝักดีเพิ่มขึ้น และจำนวนฝักเสียลดลง สำหรับน้ำหนักต้นสดระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 100 และ 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ทำให้มีน้ำหนักสูงที่สุด 2,288 และ 2,198 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 4)

Table 2 Evapotranspiration (mm.) of maize and water supplemented under different irrigation management.

Week	ETc	Rainfall	Drip irrigation			Rain Spray irrigation		
			50 %ETc	75 %ETc	100 %ETc	50 %ETc	75 %ETc	100 %ETc
1	24.11	0.00	11.98	17.97	23.96	11.90	17.86	23.81
2	29.41	0.00	14.73	22.10	29.46	14.88	22.32	29.76
3	34.43	0.00	17.29	25.93	34.57	16.87	25.30	33.73
4	41.40	0.00	20.63	30.94	41.25	20.83	31.25	41.67
5	51.45	0.30	25.54	38.30	51.07	25.79	38.69	51.59
6	59.64	0.00	29.86	44.79	59.71	29.76	44.64	59.52
7	64.93	0.10	32.21	48.32	64.43	32.74	49.11	65.48
8	69.23	21.40	11.98	30.94	48.32	11.90	31.25	49.11
9	66.63	7.80	28.68	52.64	76.61	26.55	42.87	59.13
10	65.31	3.90	28.68	45.18	61.29	31.75	47.62	63.49
11	66.65	57.90	19.64	29.86	39.68	29.76	47.62	65.48
12	55.46	0.00	12.96	19.64	27.50	13.89	19.84	27.78
Total	628.65	91.40	254.18	406.61	557.85	266.62	418.37	570.55

Note : ETc = Evapotranspiration crop

ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ระบบการให้น้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อผลผลิตเมล็ดที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ และระบบน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ให้ผลผลิตสูงสุดที่ 1,106, 1,032 และ 1,053 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ที่ให้ผลผลิต 917 และ 933 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ นอกจากนี้ระบบการให้น้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อน้ำหนัก 100 เมล็ด อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยระบบน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ มีน้ำหนัก 100 เมล็ด 27.6 กรัม ซึ่งสูงกว่าระบบการให้น้ำแบบอื่น ๆ แต่ไม่แตกต่างกับระบบน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 75 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ และระบบการให้น้ำที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว และเปอร์เซ็นต์กะเทาะ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยรวมเท่ากับ 32.93 และ 75.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 5) สอดคล้องกับ Couto และคณะ (2013) รายงานว่า การให้น้ำข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยระบบสปริงเกอร์ และระบบน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และในการศึกษาในครั้งนี้ในช่วงที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีอายุ 75 วัน ซึ่งอยู่ในช่วงระยะการสะสมน้ำหนักของเมล็ด มีพายุฝนลมแรงทำให้ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 ล้มทับกัน ระบบรากลอยขึ้นมาเหนือนดิน มีผลให้การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์หยุดชะงัก ทำให้ได้ผลผลิตไม่เต็มประสิทธิภาพ ราเชนทร์ (2539) รายงานว่า ในระยะการสะสมน้ำหนักของเมล็ด ใบและรากเป็นปัจจัยสำคัญของการให้น้ำหนักเมล็ดและผลผลิต โดยปกติข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 หากปลูกในสภาพที่มีการให้น้ำเสริม จะมีผลผลิตเฉลี่ย 1,459 กิโลกรัมต่อไร่ (ศูนย์วิจัยพืชไร่ นครสวรรค์, 2563)

ประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ระบบการให้น้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงสุด คือ 2.70 และ 2.57 กิโลกรัมผลผลิตต่อไร่ 1 มิลลิเมตร ตามลำดับ และระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ มีประสิทธิภาพการใช้น้ำต่ำที่สุด คือ 1.62 และ 1.67 กิโลกรัมผลผลิตต่อไร่ 1 มิลลิเมตร (Figure 1) สอดคล้องกับศุภกาญจน์ และกัรिता (2564) รายงานว่า การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยการให้น้ำเสริม 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ มีผลให้ประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงกว่าการให้น้ำเสริม 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ดังนั้นในพื้นที่ที่มีน้ำอยู่อย่างจำกัดจึงควรเลือกใช้ระบบที่มีประสิทธิภาพการใช้น้ำสูงที่สุด คือ ระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพการใช้น้ำของระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำจะต่ำกว่า แต่ให้ผลผลิตที่สูงกว่าระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ

Table 3 Nutrient content in leaves of maize under different irrigation management.

Irrigation management	Total N (%)	Total P (%)	Total K (%)
DI 50 %ETc	1.56 c	0.16 c	1.80
DI 75 %ETc	1.63 c	0.19 ab	2.08
DI 100 %ETc	1.79 bc	0.20 a	1.93
RSI 50 %ETc	1.88 ab	0.17 bc	2.00
RSI 75 %ETc	1.95 ab	0.18 abc	2.03
RSI 100 %ETc	2.09 a	0.20 a	1.85
Mean	1.82	0.18	1.95
F-test	**	**	ns
C.V. (%)	8.0	8.0	15.2

Note: ns = not-significant, *, ** Significant at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively, Means in the same columns with different letters are significant ($P < 0.05$) determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

DI = Drip irrigation, RSI = Rain spray irrigation, ETc = Evapotranspiration crop

Table 4 Agronomic characteristics of maize under different irrigation management.

Irrigation management	height (cm.)		Total Ear	Normal ear (%)	Rotten ear (%)	Fresh weight (kg rai^{-1})
	Plant	Ear				
DI 50 %ETc	176 d	87 c	15,238	95.31 b	4.69 a	1,720 d
DI 75 %ETc	182 cd	94 c	15,072	97.8 ab	2.20 ab	1,780 d
DI 100 %ETc	197 b	105 b	15,095	97.94 ab	2.06 ab	1,919 cd
RSI 50 %ETc	193 bc	103 b	14,976	95.72 b	4.28 a	2,033 bc
RSI 75 %ETc	202 ab	107 b	14,786	97.4 ab	2.61 ab	2,198 ab
RSI 100 %ETc	214 a	117 a	15,048	98.58 a	1.42 b	2,288 a
Mean	194	102	15,036	97.13	2.88	1,190
F-test	**	**	ns	**	**	**
C.V. (%)	4.2	5.6	2.1	1.8	59.5	7.6

Note: ns = not-significant, *, ** Significant at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively, Means in the same columns with different letters are significant ($P < 0.05$) determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

DI = Drip irrigation, RSI = Rain spray irrigation, ETc = Evapotranspiration crop

Table 5 Grain yield of maize under different irrigation management.

Irrigation management	Grain yield (kg rai^{-1})	100-Grain weight (g)	% Shelling	Grain moisture (%)
DI 50 %ETc	933 c	25.61 b	75.78	33.27
DI 75 %ETc	947 bc	26.81 ab	76.35	33.43
DI 100 %ETc	1,053 ab	27.6 a	74.82	33.06
RSI 50 %ETc	917 c	25.93 b	74.71	32.59
RSI 75 %ETc	1,032 ab	25.66 b	75.46	33.11
RSI 100 %ETc	1,106 a	25.97 b	76.09	32.13
Mean	1,003	26.26	75.53	32.93
F-test	**	**	ns	ns
C.V. (%)	5.7	3.9	1.7	3.7

Note: ns = not-significant, *, ** Significant at $P < 0.05$ and 0.01 , respectively, Means in the same columns with different letters are significant ($P < 0.05$) determined by Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

DI = Drip irrigation, RSI = Rain spray irrigation, ETc = Evapotranspiration crop

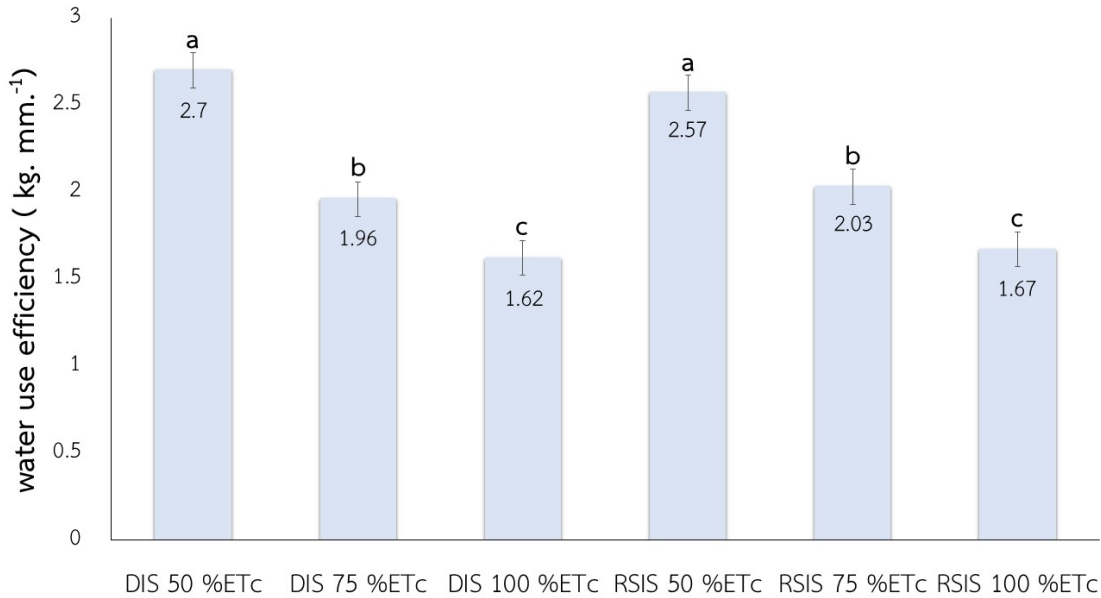


Figure 1 Water use efficiency of maize under different irrigation management.

DI = Drip irrigation, RSI = Rain spray irrigation, ETc = Evapotranspiration crop

สรุปผล

จากการศึกษาผลของวิธีการให้น้ำต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 พบว่าวิธีการให้น้ำที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 โดยเฉพาะระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 75 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ให้ผลผลิตสูง 1,032 กิโลกรัมต่อไร่ เทียบเท่ากับระบบน้ำพุ่ม และน้ำหยดที่ปริมาณการให้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ ที่ให้ผลผลิต 1,106 และ 1,053 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ อีกทั้งระบบน้ำพุ่มยังสามารถช่วยให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ดูดใช้ธาตุอาหารไนโตรเจนได้ดีกว่าการให้น้ำหยด มีผลให้การเจริญเติบโตทางด้านความสูงต้น และความสูงฝักของวิธีการให้น้ำพุ่มดีกว่าการให้น้ำหยด ดังนั้นวิธีการให้น้ำที่เหมาะสมในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 คือ ระบบน้ำพุ่มที่ปริมาณการให้น้ำ 75 เปอร์เซ็นต์ของการคายระเหยน้ำ

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานวิจัยการใช้น้ำชลประทาน. 2552. ค่าสัมประสิทธิ์ (Kc) ของพืช 40 ชนิด. ส่วนการใช้น้ำชลประทาน สำนักอุทกวิทยาและบริหารน้ำ กรมชลประทานกรุงเทพมหานคร.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

จำป็น อ่อนทอง และจักรกฤษณ์ พูนภักดี. 2559. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ธราวุฒิ ไก่แก้ว. 2561. คู่มือการออกแบบระบบน้ำฉบับประชาชน. สำนักงานการปฏิรูปที่ดินเพื่อเกษตรกรรม กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร.

ยงยุทธ โอสดสภา. 2548. ธาตุอาหารพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พิมพ์ครั้งที่ 4 กรุงเทพฯ.

ราเชนทร์ ธีรพร. 2539. ข้าวโพด. ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ.

ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์. 2563. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์นครสวรรค์ 5 อายุเก็บเกี่ยวสั้นและทนทานแล้ง. เข้าถึงได้จาก: <https://www.doa.go.th/fc/nakhonsawan/?p=178> [เข้าถึงเมื่อ 28 มิถุนายน 2566].

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี และกานติลา จงเจือกกลาง. 2564. ศึกษาประสิทธิภาพการใช้น้ำของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสมอายุเก็บเกี่ยวยาว. เข้าถึงได้จาก: <https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=2948> [เข้าถึงเมื่อ 28 มิถุนายน 2566].

สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. 2563. เอกสารคำแนะนำเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์, สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2564. เข้าถึงได้จาก: <https://www.opsmoac.go.th/nakhonphanom-dwl-files-431991791110> [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2565].

Arnon, L. 1974. Mineral Nutrition on Maize. Internation Potash Institute. Werder AG, Switzerland. 452.

Couto, A., Padin, A.R. and Reinoso, B. 2013. Comparative yield and water use efficiency of two maize hybrids

- differing in maturity under solid set sprinkler and two different lateral spacing drip irrigation systems in León, Spain. *Agricultural Water Management Journal* 124: 77– 84
- Denmead, O. T. and R. H. Shaw. 1960. The effects of soil moisture stress at different stages of growth on the development and yield of corn. *Agronomy Journal* 52: 272-274.
- Fageria, N.K., V. C. Baligar and C. A. Jones. 1997. *Growth and Mineral Nutrition of Field Crops*. 2nd Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker, Inc. New York. 624.
- Grant, F.R., B.S. Jackson, J.R. Kiniry and G.F. Arkin. 1989. Water deficit timing effects on yield components in maize. *Agronomy Journal* 81: 61-65.
- Grudloyma, P., T. Budthong and N. Kumlar. 2005. Identification of tropical late yellow maize under water stress conditions. Pages 132-135. In *Proceedings of the Ninth Asian Regional Maize Workshop*. September, 5-9 2005. Beijing, China.
- Huang, R., C.J. Birch and D.L. Goerge. 2006. *Water Use Efficiency in Maize Production – the Challenging and Improvement Strategies*. 6th Triennial Conference 2006. Maize Association of Australia.
- Khokan, K.S., Akbar, H., Jagadish, T., Sujit, K.B., Sparkle, L.M., Khairul, A., Henry, W., Loeschert, G. and Mahfuz, B. 2020. Alternate furrow irrigation can maintain grain yield and nutrient content, and increase crop water productivity in dry season maize in sub-tropical climate of South Asia. *Agricultural Water Management Journal* 238: 106229.
- Smith, M. 1992. *CROPWAT a computer Program for irrigation planning and management*. FAO Irrigation and Drainage Paper No 26, FAO, Rome.

อิทธิพลของการใส่วัสดุอินทรีย์บางชนิดต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในสภาพดินเนื้อหยาบ

Effects of Some Organic Materials Application on Growth and Yield of Soybean Variety Chiang Mai 60 under Coarse-texture Soil Conditions

พรทิพย์ ศรีมงคล¹ เรวัตร์ จินดาเจีย² และ วิมลนันทน์ กันเกตุ^{1*}
Srimongkol, P. ¹, Chindachia, R. ² and Kanket, W. ^{1*}

¹คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร

¹ Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University, Chalemphrakiat Sakonnakhon Province Campus, Sakonnakhon, 47000

² สถานีวิจัยลำตะคอง เลขที่ 333 หมู่ 12 ต.หนองสาหร่าย อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 301300

² Lamtakhong Research Station Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) 333 Moo 12 Nongsarai pakchong Nakhon Ratchasima, 30130

* Corresponding author: wimolnan.k@ku.th

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใส่วัสดุอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในสภาพดินเนื้อหยาบ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการจัดการเพิ่มผลผลิต และการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองโดยการใช้วัสดุอินทรีย์บางชนิดร่วมกับการใส่ถ่านชีวภาพ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ 9 ตำรับทดลอง ประกอบด้วย ไม่ใส่วัสดุ (T1) ใส่ปุ๋ยเคมีตามวิธีเกษตรกร (T2) ใส่ฟางข้าวอัตรา 4 ตัน/ไร่ (T3) ใส่มูลโคอัตรา 4 ตัน/ไร่ (T4) ใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ (T5) ใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 4 ตัน/ไร่ (T6) ใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับฟางข้าวอัตรา 2 ตัน/ไร่ (T7) ใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับมูลโคอัตรา 2 ตัน/ไร่ (T8) และใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับมูลไก่อัตรา 2 ตัน/ไร่ (T9) บันทึกการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง 4 ระยะคือ การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ ระยะออกดอก ระยะติดฝัก และระยะสุกแก่ และบันทึกองค์ประกอบผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ในระยะเก็บเกี่ยวถั่วเหลือง จากผลการทดลองพบว่าการใส่ปุ๋ยมูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ส่งเสริมการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบของถั่วเหลือง โดยทำให้จำนวนข้อต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินของถั่วเหลืองสูงสุด และการใส่ปุ๋ยมูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองระยะเก็บเกี่ยวมีจำนวนฝักต่อต้นสูงที่สุด และมีปริมาณผลผลิตสูงกว่าตำรับการทดลองอื่น แต่พบว่าการใส่ถ่านชีวภาพอย่างเดียวหรือใส่ร่วมกับปุ๋ยคอกไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ปลูกในสภาพกระถาง

คำสำคัญ: ดินเนื้อหยาบ ถั่วเหลือง ถ่านชีวภาพ วัสดุอินทรีย์

Abstract

Study on effects of some organic materials application on growth and yield of soybean variety Chiang Mai 60 under coarse-texture soil conditions have objective to enhance growth and productivity of soybean growth by using some organic materials in combination with biochar application. The experiment was arranged as Randomized Complete Block Design with 4 replications and 9 treatments as followed: no organic material (T1), chemical fertilizer application follow by farmer (T2), rice straw application at rate of 4 tons/rai (T3), cattle manure application at rate of 4 tons/rai (T4), poultry manure application at rate of 4 tons/rai (T5), biochar application at rate of 4 tons/rai (T6), biochar at rate of 2 tons/rai combination with rice straw at rate of 2 tons/rai (T7), biochar at rate of 2 tons/rai combination with cattle manure at rate of 2 tons/rai (T8) and biochar at rate of 2 tons/rai combination with poultry manure at rate of 2 tons/rai (T9). Soybean growth were record at reproductive, flowering, pod development and maturity stage. Yield component and yield per rai were record at the mature stage. The results showed that application of poultry manure at rate of 4 tons/rai gave the highest vegetative growth of soybean in number of node per plant, number of leaves and dry weight. And it also provided the higher number of pod per plant and yield than the other treatments. But it was found that biochar application alone or with animal manure had no effect on growth and yield of soybean cv. Chiang Mai 60 grown in pot conditions.

Keywords: coarse-texture soil, soybean, biochar, organic materials

บทนำ

ถั่วเหลือง เป็นพืชที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ เพราะมีความต้องการใช้ในประเทศสูง สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ทั้งการบริโภค และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น น้ำมันถั่วเหลือง เต้าหู้ เต้าเจี้ยว เป็นต้น แต่ปัจจุบันถั่วเหลืองกลับมีพื้นที่ปลูก ลดลง เนื่องจากเกษตรกรนิยมปลูกพืชแข่งขันตัวอื่นที่ดูแลรักษาง่ายและได้กำไรสูงกว่า และจากวิกฤตการณ์ภัยแล้งที่เกิดขึ้นถั่วเหลืองเป็นพืชอายุสั้น ปัจจุบันจึงเป็นพืชที่นิยมนำมาปลูกหลังนา หรือปลูกทดแทนนาปรัง เนื่องจากเป็นพืชที่ใช้น้ำน้อย อีกทั้งช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดิน เพิ่มการสะสมธาตุอาหารพืช และปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์มากขึ้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2560)

ถั่วเหลืองเป็นพืชน้ำมันที่มีมูลค่าการนำเข้าสูงที่สุดในประเทศถึง 72,611 ล้านบาท โดยเพิ่มขึ้นจากปี 2563 ร้อยละ 43.80 และมีอัตราการขยายตัวในรอบ 5 ปี (พ.ศ. 2560-2564) ถึงร้อยละ 71.15 มีผลผลิตรวมและผลผลิตต่อไร่ในรอบการผลิต 2564/65 ค่อนข้างคงที่เมื่อเปรียบเทียบกับปี 2563/64 แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบผลผลิตในรอบ 5 ปีที่ผ่านมาพบว่า มีผลผลิตรวมและผลผลิตต่อไร่ลดลงประมาณร้อยละ 10 อีกทั้งราคาผลผลิตถั่วเหลืองเฉลี่ยในรอบปีที่ผ่านมาเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 11.40 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565; ศูนย์สารสนเทศ, 2565) จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ทั้งในส่วนของปริมาณผลผลิตที่ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการภายในประเทศ และราคาผลผลิตที่ปรับตัวสูงขึ้น ถั่วเหลืองนับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่น่าจับตามอง และส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกเพิ่มมากขึ้น และต้องมีการวิจัยเพื่อหาวิธีการที่จะเพิ่มผลผลิตต่อไร่ให้สูงขึ้นในพื้นที่ที่เป็นดินเนื้อหยาบ เก็บกักความชื้นและธาตุอาหารได้ต่ำ ถึงแม้ว่าถั่วเหลืองจะเป็นพืชที่สามารถทนแล้งได้ค่อนข้างดีก็ตาม ทั้งนี้จากการรวบรวมข้อมูลวิชาการ พบว่าการใส่วัสดุอินทรีย์เช่นปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก และถ่านชีวภาพจากวัสดุเกษตร สามารถทำให้การเจริญเติบโต และผลผลิตของพืชปลูกสูงขึ้นได้ ดังนั้นการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ ร่วมกับการใช้ถ่านชีวภาพนับเป็นวิธีการที่น่าสนใจ และควรส่งเสริมให้เกษตรกร เนื่องจากเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ ธาตุอาหาร อีกทั้งช่วยในการปรับปรุงโครงสร้างดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับการรายงานของ สายชลและคณะ (2563) ที่พบว่า การใส่ถ่านชีวภาพ และปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับวัสดุปลูกสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ปริมาณผลผลิตของถั่วฝักยาว เพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุเพิ่มการสะสมธาตุอาหารในพืช อีกทั้งช่วยกักเก็บธาตุอาหารเพื่อเป็นประโยชน์ต่อพืชในรอบฤดูกาลปลูกถัดไป นอกจากนี้ Lui และคณะ (2022) ทำการศึกษาผลของการใช้ถ่านชีวภาพร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองพบว่า การใส่ถ่านชีวภาพส่งผลให้ถั่วเหลืองมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการใช้วัสดุปรับปรุงดินดังกล่าวเพื่อหาวิธีการ และวัสดุที่เหมาะสมที่จะใช้ในการปลูกถั่วเหลืองทนแล้งในพื้นที่ดินเนื้อหยาบที่มีการเก็บกักน้ำและปริมาณธาตุอาหารพืชต่ำ

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาผลของการใส่วัสดุอินทรีย์ในดินทรายที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ดำเนินการทดลองในฟาร์มวิจัยด้านพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ 9 ตำรับทดลอง ประกอบด้วย ไม่ใส่วัสดุ (T1) ใส่ปุ๋ยเคมีตามวิธีเกษตรกร (T2) ใส่ฟางข้าวอัตรา 4 ตัน/ไร่ (T3) ใส่มูลโคอัตรา 4 ตัน/ไร่ (T4) ใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ (T5) ใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 4 ตัน/ไร่ (T6) ใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับฟางข้าวอัตรา 2 ตัน/ไร่ (T7) ใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับมูลโคอัตรา 2 ตัน/ไร่ (T8) และใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับมูลไก่อัตรา 2 ตัน/ไร่ (T9) ทำการทดลองในกระถาง ซังดินใส่กระถางๆ ละ 9 กิโลกรัม จำนวน 36 กระถาง ใส่วัสดุตามตำรับการทดลองข้างต้น ปลูกถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 กระถางละ 4 เมล็ด และถอนแยกคอกเหลือไว้กระถางละ 2 ต้น ให้น้ำปริมาตร 800 มิลลิลิตร ทุกๆ 7-10 วัน ถอนหญ้า กำจัดโรคและแมลงตลอดระยะเวลาปลูก วัดการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง 4 ระยะคือ การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ ระยะออกดอก ระยะติดฝัก และระยะสุกแก่ บันทึกข้อมูลความสูง จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนใบต่อต้น ขนาดทรงพุ่ม และบันทึกองค์ประกอบผลผลิตคือน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 100 เมล็ด และผลผลิตต่อไร่ในระยะเก็บเกี่ยวถั่วเหลือง

วิเคราะห์ข้อมูล ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก Randomized Complete Block Design (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลอง Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ผลการทดลอง

การเจริญเติบโตของถั่วเหลือง

จากการศึกษาผลของการใส่วัสดุอินทรีย์ในดินเนื้อหยาบที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 พบว่า การใส่วัสดุอินทรีย์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความสูงของถั่วเหลืองทุกระยะการเจริญเติบโต โดยมีความสูงที่ระยะสุกแก่อยู่ระหว่าง 122.28-157.20 เซนติเมตร (Table 1)

การใส่วัสดุอินทรีย์ที่ต่างกันมีผลต่อจำนวนข้อต่อต้นของถั่วเหลืองที่ระยะออกดอก โดยการใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองมีจำนวนข้อต่อต้นสูงที่สุด 11.58 ข้อ/ต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตำรับการทดลองอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใส่มูลโคอัตรา 4 ตัน/ไร่ ซึ่งมีจำนวนข้อ 10.41 ข้อ/ต้น ที่ระยะติดฝักและระยะสุกแก่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างตำรับการทดลองแต่มีแนวโน้มว่าการใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองมีจำนวนข้อต่อต้นสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่นๆ ที่ระยะติดฝักถั่วเหลืองมีจำนวนข้อต่อต้นระหว่าง 10.08-12.83 ข้อ/ต้น ส่วนที่ระยะสุกแก่มีจำนวนข้อต่อต้นระหว่าง 10.75-13.25 ข้อ/ต้น (Table 2)

Table 3 แสดงผลของการใส่วัสดุอินทรีย์ต่อจำนวนใบของถั่วเหลือง พบว่า การใส่วัสดุอินทรีย์ที่ต่างกันมีผลต่อจำนวนใบต่อต้นของถั่วเหลือง โดยการใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองมีจำนวนใบต่อต้นสูงที่สุดที่ระยะออกดอกและระยะติดฝัก คือ 13.66 และ 20.50 ใบ/ต้น ส่วนที่ระยะสุกแก่ พบว่า การใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับมูลไก่อัตรา 2 ตัน/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองมีจำนวนใบต่อต้นสูงที่สุด (17.00 ใบ/ต้น) ในขณะที่การใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับมูลโคอัตรา 2 ตัน/ไร่ทำให้ใบถั่วเหลืองร่วงมากกว่าตำรับการทดลองอื่น โดยมีจำนวนใบต่อต้นน้อยที่สุด คือ 5.08 ใบ/ต้น

Table 1 Effect of organic materials on height of soybean at vegetative growth, flowering stage, pod development and mature stage.

Treatments	Height (cm)			
	Vegetative growth	Flowering stage	Pod development	Mature stage
no organic material	31.83	81.67	122.75	127.18
chemical fertilizer application follow by farmer	33.58	76.59	118.42	122.28
rice straw application at rate of 4 tons/rai	28.58	88.83	138.08	157.20
cattle manure application at rate of 4 tons/rai	30.58	94.41	131.67	131.25
poultry manure application at rate of 4 tons/rai	33.75	98.09	146.42	154.10
biochar application at rate of 4 tons/rai	33.83	104.75	148.08	155.83
biochar at rate of 2 tons/rai combination with rice straw at rate of 2 tons/rai	30.25	87.58	127.75	128.87
biochar at rate of 2 tons/rai combination with cattle manure at rate of 2 tons/rai	30.16	91.41	134.75	138.87
biochar at rate of 2 tons/rai combination with poultry manure at rate of 2 tons/rai	28.67	85.00	130.50	132.94
CV (%)	15.82	21.17	21.19	21.03
F-test	ns	ns	ns	ns

Note: Numbers followed by different letters in a column were significantly different according to DMRT test (P<0.01), *Significant at P ≤ 0.05, **Significant at P ≤ 0.01, ns is not significant

Table 2 Effect of organic materials on number of node per plant soybean at vegetative growth, flowering stage, pod development and mature stage.

Treatments	Node per plant			
	Vegetative growth	Flowering stage	Pod development	Mature stage
no organic material	4.41	9.33 b	11.74	12.41
chemical fertilizer application follow by farmer	4.24	9.00 b	10.91	11.75
rice straw application at rate of 4 tons/rai	4.08	9.41 b	11.41	12.50
cattle manure application at rate of 4 tons/rai	4.08	10.41 ab	11.41	11.66
poultry manure application at rate of 4 tons/rai	4.33	11.58 a	12.83	13.25
biochar application at rate of 4 tons/rai	4.58	9.91 b	11.83	12.33
biochar at rate of 2 tons/rai combination with rice straw at rate of 2 tons/rai	3.91	9.75 b	10.08	10.75
biochar at rate of 2 tons/rai combination with cattle manure at rate of 2 tons/rai	4.33	9.41 b	11.74	12.58
biochar at rate of 2 tons/rai combination with poultry manure at rate of 2 tons/rai	3.74	9.33 b	11.25	12.00
CV (%)	15.37	8.10	11.93	13.67
F-test	ns	**	ns	ns

Note: Numbers followed by different letters in a column were significantly different according to DMRT test (P<0.01), *Significant at P ≤ 0.05, **Significant at P ≤ 0.01, ns is not significant

Table 3 Effect of organic materials on number of leaves soybean at vegetative growth, flowering stage, pod development and mature stage.

Treatments	Number of leaves			
	Vegetative growth	Flowering stage	Pod development	Mature stage
no organic material	4.33	8.41 d	15.16 cd	10.25 ab
chemical fertilizer application follow by farmer	4.58	9.08 cd	13.41 d	5.16 b
rice straw application at rate of 4 tons/rai	4.08	9.33 cd	15.16 cd	10.83 ab
cattle manure application at rate of 4 tons/rai	5.16	12.66 ab	17.33 abc	13.16 ab
poultry manure application at rate of 4 tons/rai	4.58	13.66 a	20.50 a	10.91 ab
biochar application at rate of 4 tons/rai	4.75	10.00 bcd	16.33 bcd	15.50 a
biochar at rate of 2 tons/rai combination with rice straw at rate of 2 tons/rai	4.08	10.33 bcd	16.75 bcd	13.16 ab
biochar at rate of 2 tons/rai combination with cattle manure at rate of 2 tons/rai	5.25	10.75 abcd	16.33 bcd	5.08 b
biochar at rate of 2 tons/rai combination with poultry manure at rate of 2 tons/rai	3.99	12.08 abc	18.75 ab	17.00 a
CV (%)	15.21	15.02	14.12	39.54
F-test	ns	**	*	**

Note: Numbers followed by different letters in a column were significantly different according to DMRT test (P<0.01), *Significant at P ≤ 0.05, **Significant at P ≤ 0.01, ns is not significant

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลือง

จากการศึกษาผลของการใส่วัสดุอินทรีย์ในดินเนื้อหยาบที่มีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 พบว่า การใส่วัสดุอินทรีย์ที่ต่างกันมีผลต่อน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินของถั่วเหลืองที่ระยะเก็บเกี่ยว โดยการใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองมีน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินสูงสุด 32.66 กรัม/กระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่ใส่วัสดุ การใส่ปุ๋ยเคมีตามวิธีเกษตรกร และการใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 2 ตัน/ไร่ ร่วมกับมูลโคอัตรา 2 ตัน/ไร่ นอกจากนี้ยังพบว่าการใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองมีจำนวนฝักต่อต้นสูงสุด คือ 25.58 ฝัก/ต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการไม่ใส่วัสดุ การใส่ปุ๋ยเคมีตามวิธีเกษตรกร การใส่ฟางข้าวอัตรา 4 ตัน/ไร่ และการใส่ถ่านชีวภาพอัตรา 4 ตัน/ไร่ แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติกับใส่มูลโคอัตรา 4 ตัน/ไร่ และการใส่ถ่านชีวภาพร่วมกับฟางข้าว มูลโค และมูลไก่ (Table 4) ถึงแม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างวัสดุอินทรีย์ที่ใส่ในดินทรายต่อผลผลิตถั่วเหลือง แต่มีแนวโน้มว่าการใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองมีผลผลิตสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น

Table 4 Effect of organic materials on yield and yield component of soybean.

Treatments	Dry weight (g/pot)	Pods/plant	Seeds/pod	100 seeds weight (g)	Yield (g/pot)
no organic material	24.31 bcd	21.17 bcd	1.92	13.69	11.26
chemical fertilizer application follow by farmer	19.38 d	21.00 bcd	1.67	12.86	9.84
rice straw application at rate of 4 tons/rai	24.43 abcd	17.58 d	1.34	13.78	10.27
cattle manure application at rate of 4 tons/rai	29.37 abc	25.25 ab	2.26	13.84	10.74
poultry manure application at rate of 4 tons/rai	32.66 a	25.58 a	1.50	12.25	13.52
biochar application at rate of 4 tons/rai	27.06 abcd	20.08 cd	1.86	11.63	9.20
biochar at rate of 2 tons/rai combination with rice straw at rate of 2 tons/rai	26.08 abcd	23.33 abc	1.41	11.12	10.62
biochar at rate of 2 tons/rai combination with cattle manure at rate of 2 tons/rai	21.55 cd	21.50 abcd	1.38	12.33	12.93
biochar at rate of 2 tons/rai combination with poultry manure at rate of 2 tons/rai	31.71 ab	24.83 ab	2.31	13.32	10.24
CV (%)	15.99	13.52	31.82	15.11	21.70
F-test	**	*	ns	ns	ns

Note: Numbers followed by different letters in a column were significantly different according to DMRT test (P<0.01), *Significant at P ≤ 0.05, **Significant at P ≤ 0.01, ns is not significant

วิจารณ์ผล

การปลูกถั่วเหลืองหลังนามักประสบกับปัญหาความชื้นดินไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต โดยเฉพาะในพื้นที่ที่เป็นดินเนื้อหยาบซึ่งเป็นดินที่มีการระบายน้ำดีแต่ความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารต่ำ ทำให้มีผลผลิตถั่วเหลืองต่ำ การศึกษาแนวทางในการปรับปรุงดินเนื้อหยาบให้สามารถเก็บกักความชื้นและธาตุอาหารได้ดี และส่งเสริมการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของถั่วเหลือง โดยการใส่วัสดุอินทรีย์ที่เกษตรกรสามารถหาได้ท้องถิ่น เช่น ปุ๋ยคอก ซึ่งมีการนำมาใช้เพื่อปรับปรุงดินทำให้ดินมีการสะสมอินทรีย์วัตถุสูงขึ้น และเมื่อมีการใช้วัสดุอินทรีย์อย่างสม่ำเสมอสามารถทำให้ดินมีสมบัติทางกายภาพและเคมีดีขึ้นได้ (Wang *et al.*, 2017)

จากผลการทดลอง พบว่า การใส่ปุ๋ยมูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ส่งเสริมการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบของถั่วเหลือง โดยทำให้จำนวนข้อต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินของถั่วเหลืองสูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยเคมี และการใส่ปุ๋ยมูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ยังมีผลทำให้ถั่วเหลืองระยะเก็บเกี่ยวมีจำนวนฝักต่อต้นสูงสุด สอดคล้องกับ Abdão dos Passos และคณะ (2014) ซึ่งศึกษาผลตกค้างของมูลไก่ มูลโค และถ่านชีวภาพ ต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของถั่ว

เหลือง พบว่า การใส่ปุ๋ยมูลไก่อัตรา 9 ตัน/เฮกตาร์ ให้ผลผลิตถั่วเหลืองสูงที่สุด (3.7 ตัน/เฮกตาร์) สูงกว่าการใส่มูลโคและถ่านชีวภาพอย่างเดียว นอกจากนี้การใส่ปุ๋ยมูลไก่ร่วมกับปุ๋ยเคมียังช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงโดยไม่ทำให้ผลผลิตถั่วเหลืองลดลงอีกด้วย เนื่องจากมูลไก่ มีธาตุอาหารจำเป็นสำหรับถั่วเหลือง โดยเฉพาะฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม จากรายงานของ วิมลนันทน์ และคณะ (2564) ซึ่งศึกษาการใช้วัสดุอินทรีย์ปรับปรุงดินและเพิ่มผลผลิตถั่วเหลือง พบว่า การใส่มูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ทำให้ดินมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และมีปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้สูงกว่าวัสดุอินทรีย์ชนิดอื่น และส่งผลทำให้ผลผลิตถั่วเหลืองสูงกว่าการใส่ปุ๋ยเคมีตามวิธีเกษตรกรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ถ่านชีวภาพ หรือ ไบโอชาร์ (biochar) คือ ถ่านที่ผลิตจากการนำชีวมวล (biomass) ชนิดต่างๆ ไปผ่านกระบวนการเผาในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนอยู่อย่างจำกัด ซึ่งเรียกว่า กระบวนการแยกสลายด้วยความร้อน (pyrolysis) (บัวหลวง และเสาวนีย์, 2563) ถ่านชีวภาพ ถูกนำมาใช้เป็นสารปรับปรุงสมบัติดิน ทั้งเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน มีผลต่อโครงสร้างของดิน เพิ่มความจุในการอุ้มน้ำ และลดความหนาแน่นของดิน สร้างสภาพแวดล้อมเป็นแหล่งสะสมอาหารให้จุลินทรีย์ (Atkinson *et al.*, 2010) ส่งผลทำให้พืชมีการเจริญเติบโตดีขึ้น (Hammes and Schmidt, 2009; จาวภา และคณะ, 2560) แต่จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า การใส่ถ่านชีวภาพอย่างเดียวหรือใส่ร่วมกับปุ๋ยคอกไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ปลูกในสภาพกระถาง

สรุปผล

จากผลการทดลองการศึกษาลักษณะของการใส่วัสดุอินทรีย์ในดินทรายที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 พบว่าการใส่ปุ๋ยมูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ส่งเสริมการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบของถั่วเหลือง โดยทำให้จำนวนข้อต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินของถั่วเหลืองสูงที่สุด และการใส่ปุ๋ยมูลไก่อัตรา 4 ตัน/ไร่ ยังมีผลทำให้ถั่วเหลืองระยะเก็บเกี่ยวมีจำนวนฝักต่อต้นสูงที่สุด แต่จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าการใส่ถ่านชีวภาพอย่างเดียวหรือใส่ร่วมกับปุ๋ยคอกไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ปลูกในสภาพกระถาง

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2560. การปลูกถั่วเหลืองในฤดูแล้ง เอกสารแนะนำเลขที่ 7/2560. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บริษัท นิเวศธรรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด.
- จาวภา มะนาวนอก, สันติไมตรี ก้อนคำดี, เกษสุดา เดชภิมล, วรณวิภา แก้วประดิษฐ์ พลพินิจ และ ดรณิ โชติชัยชาญากร. 2560. ถ่านชีวภาพ: ผลต่อคุณสมบัติของดินและการเจริญเติบโตของข้าวนา หว่านน้ำตาม (การทดสอบในสภาพกระถาง). *แก่นเกษตร*. 45(2): 209-220.
- บัวหลวง ฝ่ายเยื่อ และเสาวนีย์ วิจิตรโกสม. 2563. บทความ: “ถ่านชีวภาพ (biochar)” วัสดุปรับปรุงดินเพื่อ ส่งเสริมการปลูกข้าวในพื้นที่ดินเค็มภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ของประเทศไทย. *วารสารสิ่งแวดล้อม*. 24(2): 1-9.
- วิมลนันทน์ กันเกตุ, ศุภวารณ ประพันธ์ และพรทิพย์ ศรีมงคล. 2564. การปรับปรุงดินลูกรังเพื่อผลิตถั่วเหลืองในพื้นที่ส่งเสริมการปลูกถั่วโรงงาน. ใน *การประชุมวิชาการเกษตรแฟร์ นนทบุรีอีสาน ครั้งที่ 9 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร*. สกลนคร. 27 พฤศจิกายน 2564 หน้า 133-141.
- ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. ตัวชี้วัดเศรษฐกิจการเกษตรของประเทศไทย 2564. กรุงเทพฯ: ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- สายชล สุขญาณกิจ, สิริวรรณ สมิตธิอาภรณ์ และธนภัทร ปลื้มพวง. 2563. ผลของถ่านชีวภาพร่วมกับการจัดการปุ๋ยต่อผลผลิตและความเข้มข้นธาตุอาหารในถั่วฝักยาวไร้ค้าง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 28(3): 443-454.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2564 (เอกสารสถิติการเกษตรเลขที่ 402). กรุงเทพฯ: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- Abdão dos Passos, A.M., P. Milanez de Rezende, E. R. Carvalho, A. M. Aker. 2014. Residual effects of the organic amendment poultry litter, farmyard manure and biochar on soybean crop. *Agricultural Sciences*. (5): 1376-1383.
- Atkinson, C.J., J.D. Fitzgerald, and N.A. Hipps. 2010. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: A review. *Plant and Soil*. 33: 10-18.

- Hammes, K. and W.I. Schmidt. 2009. Changes of Biochar in Soil. pp. 169-182. In: J. Lehmann and S. Joseph (eds). Biochar for Environmental Management: Science and Technology. Earthscan, United Kingdom.
- Liu, M., C. Linnat, S. Ma, Q. Ma, J. Guo, F. Wang and L. Wang. Effects of biochar with inorganic and organic fertilizers on agronomic traits and nutrient absorption of soybean and fertility and microbes in purple soil. 2022. *Frontiers of Plant Science*. 13: 1-13.
- Wang, X., Y. Ren, S. Zhanga, Y. Chena and N. Wang. 2017. Applications of organic manure increased maize (*Zea mays* L.) yield and water productivity in a semi-arid region. *Agricultural Water Management*. 187: 88–98.

ผลของน้ำร้อนต่อความงอก และโอเพอкулัมของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 Effect of Hot Water on Germination and Operculum of Oil Palm Seed, Variety SUP-PSU 1

จุฑามาศ แก้วนาบอน¹ วิชัย หวังวโรดม^{1*} และ สมปอง เตชะโต¹
Kaewnaborn, J.¹, Wangvarodom, V.^{1*} and Te-chato, S.¹

¹ สาขาวิชานวัตกรรมและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

¹ Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University

* Corresponding author: vichai.w@psu.ac.th

บทคัดย่อ

การแก้การพักตัวของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันด้วยวิธีการค้าใช้เวลา 60 วัน และมีค่าใช้จ่ายด้านพลังงานไฟฟ้าสูงมาก การนำโอเพอкулัมของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันออกทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกสูง และงอกได้เร็ว แต่ต้องใช้แรงงานและความชำนาญสูง น้ำร้อนเป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจใช้แก้การพักตัวทางกายภาพของเมล็ดพันธุ์ที่ให้ผลดี ใช้แรงงานน้อย และทำได้จำนวนมากในครั้งเดียว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแก้การพักตัวของเมล็ดพันธุ์ด้วยการแช่น้ำร้อนที่เวลาต่างกันต่อความงอก และโครงสร้างโอเพอкулัมของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประเมินความมีชีวิตด้วยการย้อมเตตระโซเลียม ความเข้มข้น 0.075% อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ทดสอบความงอก เวลาเฉลี่ยในการงอก ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดเน่า เมล็ดพันธุ์ที่ไม่งอก และโครงสร้างโอเพอкулัม ผลการศึกษาพบว่า เมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำร้อนมีความงอกน้อยกว่าวิธีการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำร้อน 3 นาที มีความมีชีวิต 92.00% ความงอก 61.50% และเวลาเฉลี่ยในการงอก 38.93 วัน การแช่น้ำร้อน 30-60 นาที ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความมีชีวิตลดลง นอกจากนี้เมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำร้อน 3 นาที เกิดรอยแยกบริเวณโอเพอкулัมเช่นเดียวกับวิธีการค้า และเมื่อแช่ 60 นาที พบรอยแยก รูกวาง และเส้นใยฉีกขาด

คำสำคัญ: น้ำร้อน ความงอก เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน โอเพอкулัม

Abstract

Oil palm seed dormancy breaking by commercial dry heat takes a long time for 60 days and consumes a high electrical energy cost. Removal of the operculum of oil palm seeds resulted in high and fast seed germination whereas it requires labor and high expertise. Hot water is a highly effective method of solving physical seed dormancy, less labor and mass production. Therefore, the objective of this research was to break seed dormancy by soaking in hot water for different times on germination and operculum structure of oil palm seed, Variety SUP-PSU. An experiment was conducted using Completely Randomized Design. Seed viability with 0.075% tetrazolium at 40°C for 4 h, germination, mean germination time, abnormal seedlings, rotten seeds, ungerminated seeds and the operculum structure were evaluated. The results found that hot water-treated seeds gave statistically significant lower germination than commercial dry heat. Soaking in hot water for 3 min gave seed viability of 92.00 seeds, germination of 61.50% and mean germination time of 38.93 days. Prolonged hot water soaking time for 30-60 min decreased seed viability. In addition, soaked seeds in hot water for 3 min were ruptured on operculum structure as well as commercial dry heat. Rupture, holes and torn fibers were found after soaking in hot water for 60 min.

Keywords: Hot water, germination, oil palm seed, operculum

บทนำ

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) มีศักยภาพในการให้น้ำมันต่อพื้นที่สูงสุดเมื่อเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่น โดยสูงกว่าถั่วเหลืองประมาณ 11 เท่า (Khor et al., 2021) และใช้ต้นทุนในการผลิตน้ำมันต่อกิโลกรัมต่ำกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น (สถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน และสำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2553) น้ำมันปาล์มเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมสินค้าอุปโภคและบริโภค รวมทั้งพลังงานทดแทนและอุตสาหกรรมต่อเนื่องอีกจำนวนมาก โดยแหล่งผลิตปาล์มน้ำมันหลักของโลกอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในปี 2563 ประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซียมีพื้นที่ปลูก 15.00 และ 5.23 ล้านเฮกตาร์ ตามลำดับ ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูก 940,311 เฮกตาร์ (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2023)

โดยพื้นที่ให้ผลผลิตส่วนใหญ่อยู่ในภาคใต้และได้มีการปลูกขยายในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือเพิ่มมากขึ้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) ทำให้ความต้องการใช้เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดีภายในประเทศไทยสูงถึงปีละประมาณ 12 ล้านเมล็ด (สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2563) ทั้งนี้ยังไม่นับรวมเมล็ดพันธุ์ที่ส่งออกไปยังต่างประเทศ แต่ปัญหาประการหนึ่งคือ เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันมีการพักตัว (Noor, 2007) ทำให้ไม่สามารถนำเมล็ดพันธุ์ไปใช้ในการเพาะปลูกได้ทันที จำเป็นต้องมีการแก้การพักตัวของเมล็ดพันธุ์ก่อน วิธีแก้การพักตัวของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยการให้ความร้อนแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน เป็นวิธีทางการค้าที่นิยมใช้ในปัจจุบัน เนื่องจากให้เปอร์เซ็นต์ความงอกและจำนวนต้นกล้าปกติสูง แต่มีข้อจำกัดคือ ใช้เวลานานและต้นทุนการผลิตสูง เนื่องจากใช้พลังงานไฟฟ้าสูง การนำโอเพอคูล์มออกเป็นอีกหนึ่งวิธีแก้การพักตัวของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ช่วยให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกสูงและงอกได้เร็วไม่แตกต่างกับวิธีทางการค้า (Myint *et al.*, 2010) แต่วิธีนี้ต้องใช้แรงงานและความชำนาญสูง ซึ่งสามารถทำได้เพียง 150 เมล็ดต่อวันเท่านั้น นอกจากนี้การใช้น้ำร้อนหรือน้ำที่มีอุณหภูมิสูงในการแก้การพักตัวของเมล็ดพันธุ์ มีผลต่อการเสื่อมหรือการแตกสลายของเนื้อเยื่อพืช เช่น ทำให้ palisade layer อ่อนนุ่มและแยกตัว เปลือกหุ้มเมล็ดแตกร้าว หรือทำให้ chalazal plug หลุดออกจากเมล็ดพันธุ์ และมีผลทำให้เมล็ดพันธุ์งอกได้ดีขึ้น (Baskin และ Baskin, 1998) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการใช้น้ำร้อนในการทำลายโอเพอคูล์มเพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแก้การพักตัวของเมล็ดพันธุ์โดยการแช่น้ำร้อนที่เวลาต่างกันต่อความงอก และโครงสร้างโอเพอคูล์มของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน พันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

รวบรวมเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 (เดลี ดูรา x AVROS พิสิเฟอรา) ณ แปลงทดลอง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ที่อายุทะล่าย 150-165 วันหลังผสมเกสร ล้างทำความสะอาดเมล็ดพันธุ์ และแช่ด้วยสารเมทาแลกซิล อัตรา 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 30 นาที ผึ่งเมล็ดพันธุ์ในที่ร่มเป็นเวลา 3 วัน นำเมล็ดพันธุ์ที่มีน้ำหนัก 3.30-4.70 กรัมต่อเมล็ด แช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน (เปลี่ยนน้ำทุกวัน) จากนั้นแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 5 7 9 12 15 30 และ 60 นาที เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่แช่น้ำร้อน และเมล็ดพันธุ์ที่แก้การพักตัวด้วยวิธีทางการค้า (ธีระ, 2554) เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำเมล็ดพันธุ์ทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

2. การทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

2.1 ความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ แยกต้นอ่อนออกจากเมล็ดพันธุ์ ด้วยการกระแทกทะลอปาล์มน้ำมัน โดยระวังไม่ให้กระทบกระเทือนรูสำหรับกรงอก (germination pores) วางต้นอ่อน (embryo) จำนวน 25 ต้น บนกระดาษเพาะชั้น 3 แผ่นและปิดทับด้วยกระดาษเพาะชั้น 3 แผ่น ในจานแก้วปิดฝาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร วางที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เพื่อปรับสภาพต้นอ่อน จำนวน 4 ซ้ำ ย้อมต้นอ่อนด้วยสารละลายไตรโซเลียม ความเข้มข้น 0.075% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร วางในสภาพมืดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ล้างต้นอ่อนด้วยน้ำ และประเมินผลการย้อมภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอจากตำแหน่งที่ย้อมติดสีต้นอ่อน 2 ส่วน ทั้ง Tigelo ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อบริเวณ Cotyledonary petiole และ Haustorium (Figure 1A) ความเข้มสี และความสม่ำเสมอของสีด้วยการประเมินที่ตัดแปลงจาก Maquine และคณะ (2014) และ Bonetti และคณะ (2016) ซึ่งแบ่งความมีชีวิตและระดับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ 4 ระดับ ดังนี้

- ระดับที่ 1 เมล็ดพันธุ์มีชีวิตและความแข็งแรงสูง ทั้งบริเวณ Tigelo และ Haustorium ติดสีแดงหรือสีชมพูสม่ำเสมอ (Figure 1B)
- ระดับที่ 2 เมล็ดพันธุ์มีชีวิตและความแข็งแรงปานกลาง โดยบริเวณ Tigelo ติดสีแดงหรือสีชมพูสม่ำเสมอ และ Haustorium มีบริเวณที่ติดสีแดงหรือสีชมพูมากกว่า 75% (Figure 1C)
- ระดับที่ 3 เมล็ดพันธุ์มีชีวิตและความแข็งแรงต่ำ โดยบริเวณ Tigelo ติดสีแดงหรือสีชมพูสม่ำเสมอ และ Haustorium มีที่ติดสีแดงหรือสีชมพู 50-75% (Figure 1D)
- ระดับที่ 4 เมล็ดตาย โดยบริเวณ Tigelo ติดสีแดงหรือสีชมพูสม่ำเสมอ และ Haustorium มีบริเวณที่ติดสีแดงหรือสีชมพูน้อยกว่า 50% (Figure 1E) หรือบริเวณ Tigelo มีบริเวณที่ย้อมไม่ติดสี (Figure 1F)

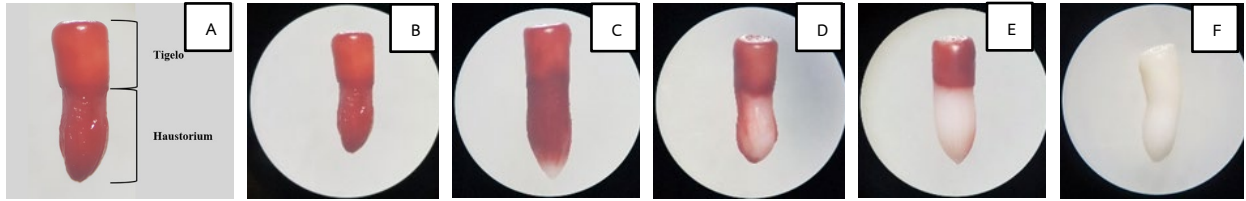


Figure 1 Assessment of viability and vigor classes with tetrazolium test of oil palm seed: embryo structure (A) viable seed with high (B) medium (C) and low vigor (D) and dead seed (E–F)

2.2 ความงอกและเวลาเฉลี่ยในการงอก

นำเมล็ดพันธุ์ที่เตรียมจากข้อ 1 จำนวน 50 เมล็ด/ซ้ำ บรรจุในถุงพลาสติกขนาด 8x12 นิ้ว มัดปากถุงให้แน่น ด้วยเชือกฟางโดยให้มีอากาศอยู่ภายในถุง ตรวจสอบจำนวนต้นกล้าปกติที่มีความยาวส่วนของรากและยอดอ่อนรวมกัน 8 มิลลิเมตร (สุทธาร, 2559) ประเมินความงอกทุก 7 วัน จนครบ 119 วันหลังเพาะ สำหรับการกระตุ้นความงอกด้วยน้ำร้อน และทุก 7 วัน จนครบ 49 วันหลังเพาะ (นาถอนงค์, 2563) สำหรับการกระตุ้นความงอกด้วยวิธีทางการค้า คำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกและเวลาเฉลี่ยในการงอก (mean germination time: MGT) โดยวิธีของวัลลภ (2550) จากสูตร

$$MGT = \frac{\sum Dn}{\sum n}$$

เมื่อ D คือ อายุวันที่ตรวจนับ และ n คือ จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกในวันที่ตรวจนับ

2.3 โครงสร้างโอเพอคูล์ม

นำเมล็ดพันธุ์ที่เตรียมจากข้อ 1 เจียตามขวางของกะลาให้ห่างจากรูสำหรับการงอก เพื่อไม่ให้กระทบกระเทือนต่อโอเพอคูล์ม ตัดเนื้อเมล็ดให้ล้อมรอบบริเวณโอเพอคูล์มเป็นรูปสี่เหลี่ยม วางตัวอย่างบนแท่นอะลูมิเนียม เคลือบด้วยทองเป็นเวลา 2 นาที และใช้กำลังศักย์ไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ ตรวจสอบโครงสร้างโอเพอคูล์มและบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ยี่ห้อ THERMO FISHER SCIENTIFIC รุ่น QUANTA 400

การวิเคราะห์สถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) จำนวน 4 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ขึ้นไป (วัชรินทร์, 2555) ด้วยโปรแกรม R version 4.2.2 (R-Core Team, 2021)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ระยะเวลาในการแช่เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันในน้ำร้อนมีผลต่อความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (Table 1) โดยเมล็ดพันธุ์ที่ไม่แช่น้ำร้อน (0 นาที) มีความมีชีวิตสูงสุด 97.00% และ 87.00% ของเมล็ดพันธุ์ทั้งหมดจัดอยู่ในระดับความแข็งแรงสูง รองลงมาคือการแช่นาน 3 นาที โดยเมล็ดพันธุ์มีชีวิต 92.00% และ 77.00% ของเมล็ดพันธุ์ทั้งหมดจัดอยู่ในระดับความแข็งแรงสูง ในขณะที่ระยะเวลาในการแช่เพิ่มขึ้น ตั้งแต่ 5–60 นาที ส่งผลให้เมล็ดตาย 24.00–100% สอดคล้องกับการศึกษาของ Neto และคณะ (2014) ซึ่งพบว่าการแช่เมล็ดพันธุ์ macaw palm ในน้ำที่อุณหภูมิ 57.6–98.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ทำให้เมล็ดพันธุ์ตาย 5.00% ส่วนการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 56.0–98.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที ทำให้เมล็ดตาย 21.20% แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ชุดควบคุม

ความงอกของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการพักตัวด้วยการแช่น้ำร้อนที่เวลาต่างกัน เปรียบเทียบกับการไม่แช่น้ำร้อน และวิธีการแก่การพักตัวทางการค้า (Table 2) พบว่าเมล็ดพันธุ์มีความงอกแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการพักตัวด้วยวิธีทางการค้ามีความงอกสูงสุด 81.00% รองลงมาคือ การแช่น้ำร้อนเป็นเวลา 3 นาที โดยเมล็ดพันธุ์มีความงอก 61.50% แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำร้อน 5–15 นาที (45.50–53.00%) และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่แช่น้ำร้อน (45.00%) ในขณะที่การแช่น้ำร้อนเป็นเวลา 30 และ 60 นาที ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกลดลงตามระยะเวลาแช่ที่เพิ่มขึ้น (Table 2) จันทนา และคณะ (2566) รายงานว่าน้ำร้อนมีผลต่อความงอกเมล็ดพันธุ์ตาลโตนด โดยการแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิเริ่มต้น 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอก 93.33% หลังเพาะ 60 วัน มากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่แช่น้ำร้อน 12.22% และเมื่อแช่เป็นเวลา 90 นาที พบว่าความงอกลดลงเหลือ 88.89% Ribeiro และคณะ (2011) พบว่าน้ำร้อนสามารถกระตุ้นความงอกของเมล็ดพันธุ์ macaw palm (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart.) ได้ โดยการแช่น้ำร้อน 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกเพิ่มขึ้น 21.00% แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำร้อน 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที มีความงอกไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ซึ่งความร้อนที่สูงเกินไปอาจมีผลทำลายต้นอ่อนในเมล็ดพันธุ์ และส่งผลต่อการเจริญของต้นอ่อน

Table 1 Percentage of seed viability and vigor classes of oil palm seed, variety SUP-PSU 1 after soak in hot water for different times

Hot water soaking times (min)	Seed viability (%)	Vigor classes (%)			
		High	Medium	Low	Dead seeds
0 (control)	97.00 ± 2.00a	87.00 ± 8.87a	3.00 ± 3.83bc	7.00 ± 6.83	3.00 ± 2.00e
3	92.00 ± 3.27a	77.00 ± 13.22ab	5.00 ± 3.83abc	10.00 ± 9.52	8.00 ± 3.27de
5	76.00 ± 5.66b	55.00 ± 14.38bc	7.00 ± 6.00ab	14.00 ± 5.16	24.00 ± 5.66cd
7	76.00 ± 10.33b	63.00 ± 16.45bc	4.00 ± 3.27abc	9.00 ± 11.49	24.00 ± 10.33cd
9	68.00 ± 7.30b	47.00 ± 13.22cd	10.00 ± 6.93a	11.00 ± 8.25	32.00 ± 7.30c
12	41.00 ± 2.00c	26.00 ± 12.44de	5.00 ± 3.83abc	10.00 ± 8.33	59.00 ± 2.00b
15	30.00 ± 18.62c	22.00 ± 12.00ef	3.00 ± 2.00bc	5.00 ± 6.00	70.00 ± 18.62b
30	4.00 ± 3.27d	2.00 ± 2.31f	0.00 ± 0.00c	2.00 ± 2.31	96.00 ± 3.27a
60	0.00 ± 0.00d	0.00 ± 0.00f	0.00 ± 0.00c	0.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00a
F-test	**	**	*	ns	**
C.V. (%)	14.77	27.53	96.85	96.12	17.19

ns not significant difference

*,** significant difference at $p>0.05$ and $p>0.01$, respectively

Means followed by the same letter within column are not significantly different according to DMRT.

Table 2 Germination and mean germination time after soaking in hot water for different times and commercial dry heat of oil palm seed, variety SUP-PSU 1

Seed dormancy breaking treatments	Germination (%)	Mean germination time (days)
Commercial dry heat (Control)	81.00 ± 6.22a	25.61 ± 0.72e
Duration of seed soaked in hot water (min)		
0 (Control)	45.00 ± 13.32bcd	65.69 ± 7.90a
3	61.50 ± 10.50b	38.93 ± 2.80cd
5	52.50 ± 5.51bc	37.42 ± 2.67d
7	53.00 ± 6.83bc	42.01 ± 4.37cd
9	48.50 ± 5.26bcd	39.79 ± 3.05cd
12	45.50 ± 7.19bcd	44.52 ± 2.88bcd
15	48.00 ± 4.90bcd	46.04 ± 0.95bc
30	42.50 ± 6.81cd	50.87 ± 4.53b
60	33.50 ± 6.40d	59.29 ± 1.83a
F-test	**	**
C.V. (%)	15.08	8.29

** significant difference at $p>0.01$

Means followed by the same letter within column are not significantly different according to DMRT.

เมล็ดพันธุ์ที่แก่การพักตัวด้วยวิธีการค้ำมีเวลาเฉลี่ยในการงอกน้อยที่สุด 25.61 วัน แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการแช่น้ำร้อน เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำร้อนพบว่า การแช่ 5 นาที มีเวลาเฉลี่ยในการงอกน้อยที่สุด 37.42 วัน แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่แช่น้ำร้อน แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการแช่น้ำร้อนเป็นเวลา 3 7 9 และ 12 นาที (38.93–44.52 วัน) เมล็ดพันธุ์ที่ไม่แช่น้ำร้อนมีเวลาเฉลี่ยในการงอกมากที่สุด 65.69 วัน ไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่แช่

น้ำร้อนเป็นเวลา 60 นาที (59.29 วัน) (Table 2) Ullah และคณะ (2020) พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ใช้เวลาในการงอก 161.10 180.47 และ 185.20 วัน ตามลำดับ น้อยกว่าเมล็ดพันธุ์ชุดควบคุมที่แช่น้ำ 24 ชั่วโมง (204.58 วัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การวิเคราะห์เมล็ดพันธุ์ที่ไม่งอกหลังการแช่น้ำร้อน 3–30 นาที พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่งอกสามารถจำแนกเป็นเมล็ดที่มีชีวิตและความแข็งแรงระดับสูง 21.50–28.50% และ 20.50–27.00% ตามลำดับ และเมล็ดตาย 8.50–18.00% ไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่แช่น้ำร้อน เมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำร้อน 60 นาที สามารถจำแนกเป็นเมล็ดมีชีวิตและความแข็งแรงระดับสูง ปานกลางและต่ำ และเมล็ดตาย ไม่แตกต่างทางสถิติกับวิธีทางการค้า (Table 3)

เมล็ดพันธุ์ที่ไม่แช่น้ำร้อนมีโครงสร้างโอเพอคูล์มที่แข็งแรงและไม่พรอยแยก (Figure 2A–C) การแช่น้ำร้อน 3 นาทีทำให้เมล็ดพันธุ์เกิดรอยแยกบริเวณโอเพอคูล์ม (Figure 2D–F) เช่นเดียวกับวิธีทางการค้า (Figure 2G–I) ซึ่งรอยแยกเหล่านี้อาจทำให้น้ำสามารถซึมเข้าสู่เมล็ดพันธุ์ ช่วยให้ต้นอ่อนเจริญเติบโต ขยายขนาด ยึดตัวต้นโครงสร้างโอเพอคูล์มในรูสำหรับการงอกออก และงอกพัฒนาเป็นรากอ่อนและยอดอ่อนได้ (Murugesan *et al.*, 2015) Yousif และคณะ (2020) พบว่าการแช่น้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ทำให้เมล็ดพันธุ์ *Leucaena leucocephala* มีความงอกเพิ่มขึ้นจากเมล็ดพันธุ์ที่ไม่แช่น้ำร้อนประมาณ 89.00% และ lens ซึ่งเป็นตำแหน่งที่น้ำเข้าสู่เมล็ดถูกเปิดออกและเซลล์ชั้น palisade layer ถูกทำลาย อย่างไรก็ตาม การแช่เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันในน้ำร้อน 60 นาที นานเกินไปจนทำให้โครงสร้างโอเพอคูล์มเกิดรอยแยก รุกลวง และเส้นใยฝักขาด ซึ่งเสียหายรุนแรงจนอาจส่งผลให้ต้นอ่อนสูญเสียความมีชีวิต (Figure 2J–L)

สรุปผล

การแช่เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความมีชีวิตและความแข็งแรง และความงอกสูง และทำให้โอเพอคูล์มเกิดรอยแยกเช่นเดียวกับวิธีทางการค้า

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ขอขอบคุณนายศักดิ์ดา คงแจ่ม ที่ช่วยเตรียมเมล็ดพันธุ์และให้คำแนะนำต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

จันทนา ก่อนเก่า, วัชรภรณ์ ประภาสะโนบล, พาขวัญ ทองรักษ์, ฉอ้อน จุ้ยแจ่ม และ นิสนติ ศิลประเสริฐ. 2566. การพัฒนากระบวนการเร่งการเพาะงอกของตาลโตนดในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรี. วารสารแก่นเกษตร 51: 301-308.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2554. การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน. กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์.

นาฏอนงค์ เมืองนาโพธิ์. 2563. ผลของระยะเวลาเก็บรักษา ระยะเวลาการให้ความร้อน และน้ำหนักเมล็ดพันธุ์ต่อความงอกขอเมล็ดพันธุ์และการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วัชรินทร์ ชื่นสุวรรณ. 2555. สถิติสำหรับการวิจัยทางการเกษตร: การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม R. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วัลลภ สันติประชา. 2550. บทปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน และสำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2553. ปาล์มน้ำมัน: การปรับปรุงขยายพันธุ์ การปลูกและการจัดการสวน. กรุงเทพฯ : โอ เอส พริ้นติ้ง เฮาส์.

สุธารา สุวรรณดวง. 2559. อายุทะเลายต่อการพัฒนาและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. ปาล์มน้ำมัน: เนื้อที่ยืนต้นเนื้อที่ให้ผลผลิตและผลผลิตต่อไร่ปี 2562. เข้าถึงได้จาก: [http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/oilpalm% 2062.pdf](http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/oilpalm%2062.pdf) (เข้าถึงเมื่อ 23 มกราคม 2566).

สำนักวิจัยและพัฒนา. 2563. ปาล์มน้ำมัน “พันธุ์ทรัพย์ ม.อ.1”. เข้าถึงได้จาก: <https://rdo.psu.ac.th/th/index.php/recommend/420-psu-palm1> (เข้าถึงเมื่อ 27 พฤศจิกายน 2563).

Baskin, C. C. and Baskin, J. M. 1998. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. San Diego: Academic Press.

- Bonetti, K. A. P., Quoirin, M., Quisen, R. C. and Lima, S. C. S. 2016. *In vitro* germination of zygotic embryos of hybrid BRS Manicoré (*E. guineensis* X *E. oleifera*). *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 88: 1841-1850.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2023. Plantation area of oil palm. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RL> (accessed on 1 February 2021).
- Khor, J. F., Ling, L., Yusop, Z., Tan, W. L., Ling, J. L. and Soo, E. Z. X. 2021. Impact of El Niño on oil palm yield in Malaysia. *Agronomy* 11: 1-22.
- Maquine, T. M., Cysne, A. Q., Lima, W. A. A., Abreu, S. C., Green, M. and Rios, S. A. 2014. Germination of seeds of interspecific hybrid caiaué x oil palm submitted to the mechanical depulping. *American Journal of Plant Sciences* 5: 2965-2972.
- Murugesan, P., Ravichandran, G. and Shareef, M. 2015. Seed germination and ultra structural changes in oil palm (*Elaeis guineensis*) hybrid seed influenced by heat treatments. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 85: 1419–1423.
- Myint, T., Chanprasert, W. and Srikul, S. 2010. Germination of seed of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) as affected by different mechanical scarification methods. *Seed Science and Technology* 38: 635-645.
- Neto, A. R., Silva, F. G., Sales, J. F., Reis, E. F., Silva, L. Q. and Campos, R. C. 2014. Dormancy breaking in macaw palm [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges ex Mart.] seeds. *Acta Scientiarum* 36: 43-50.
- Noor, M. R. M. 2007. A review on seed dormancy and germination. *Oil Palm Bulletin* 55: 31-35.
- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ribeiro, L. M., Souza, P. P., Rodrigues J., A. G., Oliveira, T. G. S. and Garcia, Q. S. 2011. Overcoming dormancy in macaw palm diaspores, a tropical species with potential for use as bio-fuel. *Seed Science and Technology* 39: 303-317.
- Ullah, Z., Hassan, I., Hafiz, I. A. and Abbasi, N. A. 2020. Effect of different priming treatments on seed germination of sago palm (*Cycas revoluta* L.). *World Journal of Biology and Biotechnology* 5: 1-3.
- Yousif, M. A. I., Wang, Y. R. and Dali, C. 2020. Seed dormancy overcoming and seed coat structure change in *Leucaena leucocephala* and *Acacia nilotica*. *Forest Science and Technology* 16: 18-25.

Table 3 Abnormal seedlings, rotten seeds, viability and vigor classes of ungerminated seed after soaking in hot water for different times and commercial dry heat of oil palm seed, variety SUP-PSU 1

Dormancy breaking methods	Abnormal seedlings	Rotten seeds	Viability (%)	Vigor classes (%)			
				High	Medium	Low	Dead seeds
Commercial dry heat (control)	2.00 ± 2.83	0.00 ± 0.00c	1.50 ± 1.91b	1.50 ± 1.91b	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	15.50 ± 4.43
Soaking times in hot water (min)							
0 (control)	2.00 ± 2.83	0.00 ± 0.00c	31.50 ± 3.79a	29.00 ± 2.58a	2.00 ± 1.63	0.50 ± 1.00	21.50 ± 8.06
3	0.00 ± 0.00	3.00 ± 2.00bc	27.00 ± 8.08a	27.00 ± 8.08a	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	8.50 ± 4.12
5	3.50 ± 3.42	3.00 ± 2.00bc	28.50 ± 8.06a	24.50 ± 7.90a	2.50 ± 1.91	1.50 ± 1.91	12.50 ± 3.42
7	1.50 ± 1.91	8.00 ± 5.66bc	23.00 ± 11.60a	20.50 ± 12.79a	2.00 ± 2.83	0.50 ± 1.00	14.50 ± 1.00
9	1.00 ± 1.15	5.00 ± 5.03bc	27.50 ± 2.52a	26.50 ± 1.91a	1.00 ± 2.00	0.00 ± 0.00	18.00 ± 4.90
12	2.00 ± 2.83	13.00 ± 8.87bc	25.00 ± 6.22a	25.00 ± 6.22a	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	14.50 ± 7.19
15	2.00 ± 1.63	11.00 ± 6.00bc	26.00 ± 5.66a	25.00 ± 5.03a	1.00 ± 2.00	0.00 ± 0.00	13.00 ± 2.58
30	3.00 ± 2.00	15.00 ± 11.49b	21.50 ± 10.63a	20.50 ± 9.85a	0.50 ± 1.00	0.50 ± 1.00	18.00 ± 9.93
60	4.50 ± 3.42	40.00 ± 9.24a	2.50 ± 5.00b	2.50 ± 5.00b	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	19.50 ± 3.00
F-test	ns	**	**	**	ns	ns	ns
C.V. (%)	112.98	64.32	32.98	34.70	169.73	272.17	35.48

ns = not significant difference

** = significant difference at $p > 0.01$

Means followed by the same letter within column are not significantly different according to DMRT.

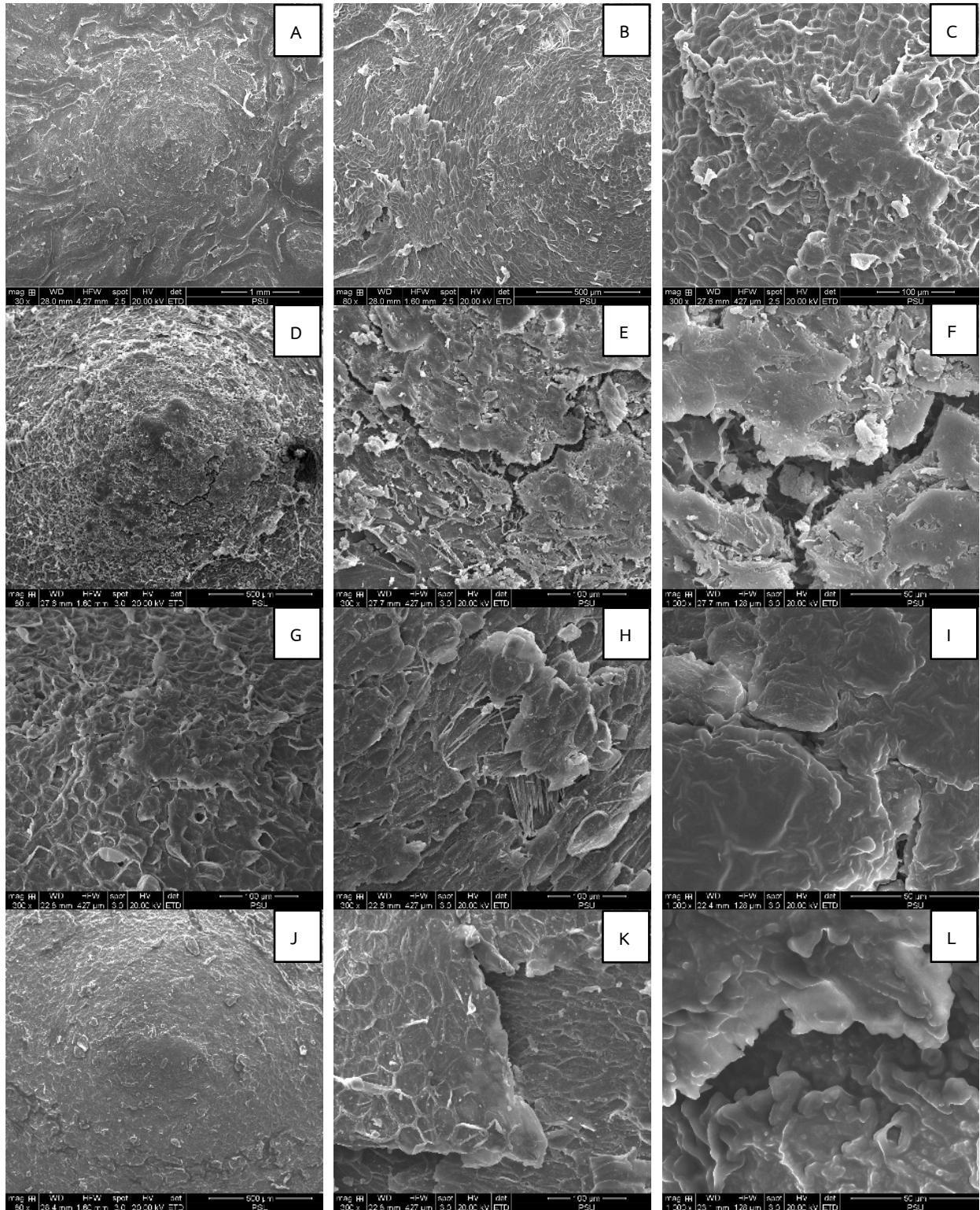


Figure 2 Operculum characteristics of non-hot water-treated seed (A–C) hot water-treated seed for 3 (D–F) or 60 (G–I) min and commercial dry heat (J–L)

การคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตหัวเชื้อราเมตาไรเซียม DOA-M3
และวิธีการใช้ควบคุมด้วงหมัดผัก

Selection of a Suitable Culture Medium for *Metarhizium* DOA-M3 Stock Culture Production
and Application Method to Control Flea Beetles

นิยม ไช่มุกข์¹ และ รัตติกาล ยุทธศิลป์^{2*}
Kaimuk, N.¹ and Yutthasin, R.^{2*}

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรนครพนม 144 ม. 1 ต. ขามเฒ่า อ.เมือง จ.นครพนม 48000

¹ Nakhon Phanom Agricultural Research and Development Center 144 Moo 1, Kham Thao Subdistrict, Mueang District, Nakhon Phanom Province 48000

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 3 ขอนแก่น 180 ม. 27 ถ.มิตรภาพ ต.ศิลา อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000

² Agricultural Research and Development Region 3 Khon Kaen 180 Moo 27, Mittraphap Road, Sila Subdistrict, Mueang District, Khon Kaen Province 40000

* Corresponding author: rattikan3107@gmail.com

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin เป็นเชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด รวมทั้งด้วงหมัดผักที่เป็นปัญหาสำคัญของการผลิตผักในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตหัวเชื้อรา *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin ไอโซเลต DOA-M3 (เมตาไรเซียม DOA-M3) ที่เกษตรกรสามารถนำไปผลิตขยายเป็นชีวภัณฑ์ชนิดเชื้อสด ใช้ได้เอง และวิธีการใช้ควบคุมด้วงหมัดผักได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ และแปลงทดลอง ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 3 จังหวัดขอนแก่น ระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือน ธันวาคม 2565 ผลการทดลอง พบว่า อาหารที่เหมาะสมสำหรับเตรียมหัวเชื้อราเมตาไรเซียม DOA-M3 คือ เมล็ดข้าวฟ่าง มีอายุเก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส) ได้นาน 6 เดือน ต้นทุนการผลิตต่ำ และนำไปผลิตขยายเป็นชีวภัณฑ์เชื้อสดในข้าวสอยได้ง่ายกว่าเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดหยาบ ขณะที่เมล็ดข้าวเปลือก มีต้นทุนการผลิตต่ำที่สุด แต่มีอายุเก็บรักษาและปริมาณเชื้อที่อยู่ระหว่างเก็บรักษาน้อยกว่าเมล็ดธัญพืชทั้งสองชนิด ส่วนเปอร์เซ็นต์การตายของด้วงหมัดผักจากหัวเชื้อราเมตาไรเซียม DOA-M3 ทั้ง 3 ชนิด ก่อนและหลังเก็บรักษาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อยู่ระหว่างร้อยละ 88-100 เมื่อนำหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างมาขยายต่อในข้าวสอยผลิตเป็นชีวภัณฑ์เชื้อสด แล้วทดสอบการควบคุม ด้วงหมัดผักในกวางตุ้งสภาพแปลงทดลอง จำนวน 2 ฤดูปลูก ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกัน โดยการใช้ชีวภัณฑ์เมตาไรเซียม DOA-M3 ชนิดเชื้อสดอัตรา 2,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สามารถควบคุมด้วงหมัดผักได้ดีเช่นเดียวกับการใช้สารเคมี fipronil 5% SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ ใส่เดือนฝอยกำจัดแมลงสายพันธุ์ไทย จำนวน 120 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนผลผลิตของกวางตุ้งในฤดูปลูกที่ 1 กรรมวิธีใช้สารเคมี fipronil 5% SC ให้ผลผลิตมากที่สุด (650 กรัมต่อตารางเมตร) ขณะที่ฤดูปลูกที่ 2 ทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1,349 - 1,519 กรัมต่อตารางเมตร

คำสำคัญ: เชื้อราเมตาไรเซียม ราแมลง ชีวภัณฑ์ กวางตุ้ง

Abstract

Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin is entomopathogenic fungi that infects and kills several pest insects. Flea beetles are major pest of many vegetable crops in Upper Northeast Thailand. The objective of this study was to test the culture medium of *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin isolate DOA-M3 for stock culture that farmers can use to produce fresh bioagent and determines the suitable application of flea beetles control. This experiment was studied at laboratory and trial plot of Agricultural Research and Development Region 3, Khon Kaen province from October 2021 to September 2022. The results showed that the sorghum grains have proved to be suitable medium for preparation of *Metarhizium* DOA-M3 starter that can be preserved for 6 months in refrigerator. They were low cost and easy to inoculated in the steamed rice substrate compare with coarse ground corn kernels. Although paddy grains had lowest cost, their storage period was shortest and *Metarhizium* DOA-M3 amount had least. *Metarhizium* DOA-M3 cultured in each medium was highly effective in controlling

flea beetles both before storage and in each month of preservation (88-100%). The *Metarhizium* DOA-M3 fresh formulation produced from the sorghum grains was evaluated to control flea beetles in two growing seasons of Chinese flowering cabbage trial plot. They showed similar results The *Metarhizium* DOA-M3 fresh formulation 2,000 grams in 20 water liters was the highest efficiency in controlling flea beetles same as spraying fipronil 5% SC at a ratio of 5 ml/20 water liters of water and applying *Steinernema siamkayia* Thai strain 120 million infective juveniles /20 water liters. In the first growing season, the insecticide treatment gave the highest yield of Chinese flowering cabbage (650 g/m²), while there was no difference in later crop growing season (1,349 - 1,519 g/ m²).

Keywords: *Metarhizium*, entomopathogenic fungi, bioagent, Chinese flowering cabbage

บทนำ

เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม (*Metarhizium anisopliae*) (Metsch) Sorokin เป็นจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อยู่ใน Phylum: Ascomycota เชื้อราในกลุ่มนี้มักจะเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรค “muscardine” ในแมลง ทำให้เชื้อรา *M. anisopliae* มีชื่อเรียกว่า “green muscardine” พบแพร่กระจายได้ทั่วไป สามารถใช้ควบคุมแมลงในกลุ่ม Diptera Lepidoptera Orthoptera Coleoptera Hemiptera และ Hymenoptera จากปัญหาการผลัดผักกินใบของเกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนพบการระบาดของด้วงหมัดผักอย่างรุนแรงโดยเฉพาะในผักกวางตุ้ง และคะน้าเสาวนิตย์และคะน้า (2555) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมเพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผักในห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อราเขียวเมตาไรเซียม ไอโซเลต M3, M5, M7, M8, M2, M9, M1, M0 และ M6 ที่ปรับความเข้มข้น 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพทำให้ด้วงหมัดผักติดเชื้อราเขียวได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ย 100, 100, 100, 97.50, 95, 91.25, 90, 88.75 และ 85% ตามลำดับ และได้เลือกเชื้อราเขียวเมตาไรเซียมไอโซเลต M3 มาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณ โดยเริ่มต้นจากการเลี้ยงในอาหารเหลว Potato dextrose broth บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน แล้วนำมาเลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบปลอดเชื้อ เป็นเวลา 14 วัน นำมาล้างโคนิเดียออกจากเมล็ดข้าวโพดกรองแยกโคนิเดียนำไปอบที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 ชั่วโมง แล้วนำไปใช้ทดสอบการควบคุมด้วงหมัดผักในสภาพไรในพื้นที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี และแปลงเกษตรกรที่ อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี พบว่า การใช้เชื้อราเขียวไอโซเลต M3 ไม่สามารถควบคุมประชากรด้วงหมัดผักได้ทั้ง 2 พื้นที่ เนื่องจากระยะเวลาและเทคนิคการใช้ยังไม่เหมาะสม (เสาวนิตย์และคณะ, 2556) ปัจจุบันการใช้ประโยชน์จากเชื้อรานิยมใช้ในรูปแบบหัวเชื้อสด โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ เช่น Potato dextrose broth (PDB) Potato Dextrose Agar (PDA) Malt agar (MA) Potato Sucrose Agar (PSA) Oatmeal Agar (OA) และ Sabouraud Dextrose Agar plus Yeast (SDAY) แล้วนำมาเพิ่มปริมาณในเมล็ดธัญพืช ได้แก่ เมล็ดข้าวโพดบดหยาบ ข้าวเจ้าเส้าให้ และข้าวเปลือก (เสาวนิตย์ และคณะ, 2548; ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, ม.ป.บ.; Philippine Rice Research Institute, 2022; เบบูจพร และคณะ, 2565) โดยกระบวนการเลี้ยงและขยายเพิ่มปริมาณเชื้อต้องทำในตู้ปลอดเชื้อ และต้องใช้เทคนิคทางจุลชีววิทยาเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ทำให้เป็นข้อจำกัดในการส่งเสริมระดับเกษตรกร อีกทั้งหัวเชื้อราสดในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่สามารถคงความมีชีวิตและประสิทธิภาพได้นาน ถึงแม้จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส ซึ่งมีอายุเก็บรักษาประมาณ 15 วัน (สุสิวรรณ ต้นชู และคณะ, 2560) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตหัวเชื้อราเมตาไรเซียม DOA-M3 ที่สามารถเก็บรักษาได้นาน มีปริมาณและประสิทธิภาพในการควบคุมด้วงหมัดผัก และเกษตรกรสามารถนำไปใช้เพิ่มปริมาณเป็นชีวภัณฑ์ชนิดเชื้อสดได้ด้วยตนเอง และทดสอบวิธีการนำไปใช้ควบคุมด้วงหมัดผักเพื่อให้ได้อัตราและวิธีการใช้ที่มีประสิทธิภาพสำหรับนำไปทดสอบในแปลงเกษตรกรที่พบการระบาดของด้วงหมัดผักในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบอาหารสำหรับผลิตหัวเชื้อราเมตาไรเซียม DOA-M3

วางแผนการทดลองแบบ Split plot design จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย ปัจจัยหลัก (Main plot) คือ อาหารสำหรับทำหัวเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ เมล็ดข้าวฟ่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดหยาบ และ ข้าวเปลือก ปัจจัยรอง (Subplot) คือ ระยะเวลาเก็บรักษาหัวเชื้อ คือ 1 2 3 4 5 และ 6 เดือน

เตรียมอาหารสำหรับทำหัวเชื้อ โดยนำเมล็ดข้าวฟ่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดหยาบ และข้าวเปลือก มาต้มจนเมล็ดนิ่ม แล้วนำเมล็ดมาผึ่งลมให้หมาด จากนั้นบรรจุในขวดกลมโซดา ปริมาณ 50 กรัมต่อขวด ปิดด้วยจุกสำลี ทับด้วยกระดาษ 2 ชั้น แล้วรีดด้วยยางรัด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 30 นาที หลังจากให้อาหารเย็นแล้ว นำเชื้อราเมตาไรเซียม DOA-M3 ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มาเลี้ยงโดยใช้เข็มเขี่ยปลอดเชื้อตัดปลาย

เส้นใยขนาด 1X1 เซนติเมตร จำนวน 1 ชิ้นต่อขวด บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน จึงนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (4±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 เดือน

ตรวจสอบปริมาณเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 ที่มีชีวิต และประสิทธิภาพการก่อโรคในด้วงหมัดผักของหัวเชื้อในอาหารแต่ละชนิด โดยนำหัวเชื้อที่เก็บรักษา 0 1 2 3 4 5 และ 6 เดือน มาตรวจนับปริมาณของเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 ที่มีชีวิตด้วยวิธี Dilution plating technique บนอาหารในจานเพาะเชื้อ PDA ที่ระดัดการเจือจาง 10^{-5} 10^{-7} และ 10^{-9} จำนวน 3 จานต่อระดับ บ่มที่อุณหภูมิห้อง 7 วัน และทดสอบการก่อโรคในด้วงหมัดผัก โดยนำหัวเชื้อในอาหารแต่ละชนิดมาเพิ่มปริมาณในข้าวสาลี บ่มที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ปรับความเข้มข้น 1×10^{10} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ใช้ไมโครปิเปตดูดสปอร์แขวนลอยปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่วางอยู่ในจานอาหารปลอดเชื้อ จากนั้นปล่อยด้วงหมัดผักจำนวน 10 ตัวต่อจาน จำนวน 3 จานต่อกรรมวิธี เป็นเวลา 7 วัน

บันทึกผลโดยนับจำนวนโคโลนีของเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 ที่เจริญบนอาหาร PDA คำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมของหัวเชื้อ และตรวจนับจำนวนหมัดผักที่ติดเชื้อราภายในด้วงหมัดผัก คัดเป็นเปอร์เซ็นต์การตายวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธีโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

การทดสอบวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เมตาโรเซียม DOA-M3 ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกวางตุ้งสภาพแปลงทดลอง

การเตรียมชีวภัณฑ์เมตาโรเซียม DOA-M3 ชนิดเชื้อสด

นำหัวเชื้อ 5-10 เมล็ด มาเพิ่มปริมาณในข้าวสาลีที่ใช้วิธีการหุงข้าวแบบใช้น้ำน้อย (ข้าว 3 ส่วนต่อน้ำ 2 ส่วน) บรรจุในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6X9 นิ้ว ปริมาณ 125 กรัมต่อถุง ริดยางตรงปากถุงให้แน่น แล้วใช้เข็มสะอาดแทงรอบๆ ปากถุงบริเวณใต้ที่รัดยาง ถุงละประมาณ 15-20 จุด นำไปบ่มในห้องที่มีแสง และอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

การเตรียมแปลงทดลอง และพืชทดสอบ

ไถตากดินตากแดดประมาณ 7 วัน แล้วไถพรวนอีก 1-2 ครั้ง ทำแปลงทดลองขนาด 1X 30 เมตร จำนวน 4 แปลง หว่านโดโลไมท์ อัตรา 260 กิโลกรัมต่อไร่ ปุ๋ยคอกอัตรา 4 ตันต่อไร่ แต่ละแปลงแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 1x5 เมตร จำนวน 6 แปลงย่อย หยอดเมล็ดผักกวางตุ้งในหลุมปลูก ระยะปลูก 20X25 เซนติเมตร จำนวน 4 แถวๆละ 20 หลุม รวม 80 หลุมต่อพื้นที่ 5 ตารางเมตร รดน้ำด้วยระบบมินิสปริงเกอร์ ให้ทั่วทั้งแปลง เมื่อต้นผักกวางตุ้งแข็งแรง ถอนให้เหลือหลุมละ 1 ต้น หว่านปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ หลังหยอดเมล็ด 14 วัน และเพิ่มอัตราเป็น 100 กิโลกรัมต่อไร่ หลังหยอดเมล็ด 21 และ 30 วัน แล้วเปลี่ยนเป็นปุ๋ยเคมีสูตร 13-13-21 อัตรา 100 กิโลกรัมต่อไร่ หลังหยอดเมล็ด 45 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่ผักกวางตุ้งออกดอกให้น้ำด้วยระบบมินิสปริงเกอร์ วันละ 1-2 ครั้ง และหลังจากใส่ปุ๋ยทันที เก็บผลผลิตระยะที่ดอกบานสีเหลือง

การทดสอบวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เมตาโรเซียม DOA-M3 ควบคุมด้วงหมัดผัก

ทำการทดลอง 2 ฤดูปลูก คือ เดือนเมษายน – มิถุนายน 2565 (ฤดูร้อน) และ เดือนตุลาคม – ธันวาคม 2565 (ฤดูหนาว) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Randomized complete block) 6 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 48 ต้นในพื้นที่ปลูก 3 ตารางเมตร) ประกอบด้วย

- กรรมวิธีที่ 1 พ่นเชื้อราเมตาโรเซียม ที่มีความเข้มข้น 1×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร (ชีวภัณฑ์เชื้อสดอัตรา 500 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรองแยกเมล็ดข้าวออก) อัตรา 100 ลิตรต่อไร่ หลังจากเมล็ดงอกทุก 7 วัน จนเก็บผลผลิต
- กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อราเมตาโรเซียม ที่มีความเข้มข้น 5×10^9 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร (ชีวภัณฑ์เชื้อสดอัตรา 1,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรองแยกเมล็ดข้าวออก) อัตรา 100 ลิตรต่อไร่ หลังจากเมล็ดงอกทุก 7 วัน จนเก็บผลผลิต
- กรรมวิธีที่ 3 พ่นเชื้อราเมตาโรเซียม ที่มีความเข้มข้น 1×10^{10} โคนิเดียต่อมิลลิลิตร (ชีวภัณฑ์เชื้อสดอัตรา 2,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรองแยกเมล็ดข้าวออก) อัตรา 100 ลิตรต่อไร่ หลังจากเมล็ดงอกทุก 7 วัน จนเก็บผลผลิต
- กรรมวิธีที่ 4 รดหรือพ่นไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงสายพันธุ์ไทย จำนวน 120 ล้านตัวต่อน้ำ 20 ลิตร สีดหรือรดให้ครอบคลุมพื้นที่กว้าง 1x20 เมตร ก่อนปลูก และหลังปลูกทุก 7 วัน ติดต่อกันจนเก็บผลผลิต
- กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารเคมี fipronil 5% SC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพบตัวเต็มวัย 1 ตัวต่อต้น พ่นทุก 7 วัน และหยุดใช้ก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิต 7 วัน ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร
- กรรมวิธีที่ 6 ชุดควบคุม (พ่นน้ำเปล่า)

บันทึกข้อมูล โดยนับจำนวนด้วงหมัดผักในตอนเย็นที่พบบนต้นผักกวางตุ้งทุกต้นในพื้นที่ปลูก 3 ตารางเมตรต่อซ้ำในแต่ละกรรมวิธี ทุก 7 วัน จนเก็บผลผลิต ข้อมูลผลผลิต ได้แก่ จำนวนยอดต่อต้น และผลผลิตต่อตารางเมตร วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธีโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบอาหารสำหรับผลิตหัวเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3

จากการทดสอบเตรียมหัวเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 ในอาหาร 3 ชนิด (Figure 1) นำไปเก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ชนิดของอาหารและระยะเวลาเก็บรักษา มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันทางสถิติ หัวเชื้อที่เก็บรักษาได้นาน 6 เดือน คือ หัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่าง และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดหยาบ โดยมีปริมาณของเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 4.67×10^7 และ 5.67×10^7 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ และมีปริมาณของเชื้อที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปริมาณก่อนเก็บรักษา แต่จะมีปริมาณมากที่สุดที่อายุเก็บรักษา 3-4 เดือน ขณะที่หัวเชื้อเมล็ดข้าวเปลือก มีอายุเก็บรักษาได้เพียง 5 เดือน และมีปริมาณเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 เพียง 1.53×10^7 โคโลนีต่อกรัม น้อยกว่าหัวเชื้อทั้งสองชนิด (Table 1 Figure 2) และจากการทดสอบประสิทธิภาพควบคุมด้วงหมัดผัก พบว่า หัวเชื้อข้าวฟ่าง และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดหยาบ ก่อนเก็บและหลังเก็บไว้ 6 เดือน แล้วนำมาผลิตขยายเป็นชีวภัณฑ์เชื้อสดในข้าวสอย มีประสิทธิภาพควบคุมด้วงหมัดผักได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีการติดเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 ในด้วงหมัดผักอยู่ระหว่าง 89 -100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่หัวเชื้อข้าวเปลือกมีประสิทธิภาพควบคุมด้วงหมัดผักได้เพียง 5 เดือน มีการติดเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 ในด้วงหมัดผักอยู่ระหว่าง 88 -100 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของเสาวนิตย์และคณะ (2556) (Table 2 Figure 3) โดยต้นทุนของเมล็ดข้าวฟ่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดหยาบ และข้าวเปลือก ที่นำมาผลิตหัวเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 ปริมาณ 50 กรัมต่อขวด เท่ากับ 1.50 2.10 และ 0.75 บาทตามลำดับ



Figure 1 *Metarhizium* DOA-M3 grew in sorghum grains, ground maize kernels and paddy grains for 10 days before being stored at the refrigerator temperature (4±2°C)

Table 1 The amount of *Metarhizium* DOA-M3 on PDA for 7 days after cultured in each medium stored at the refrigerator temperature (4±2°C) for 6 months

Treatment	The amount of <i>Metarhizium</i> DOA-M3 colonies (cfu/g)							CV (B) (%)
	0	1 month	2 month	3 month	4 month	5 month	6 month	
sorghum grains	8.67x10 ⁷ bBC	2.93x10 ⁸ aB	1.30x10 ⁸ bBC	2.97x10 ⁹ bA	3.90x10 ⁹ aA	1.60x10 ⁹ aBC	4.67x10 ⁷ aC	18.20
ground maize kernels	3.90 x10 ⁸ aB	2.60x10 ⁸ aBC	6.83 x10 ⁸ aB	7.60x10 ⁹ aA	6.30x10 ⁹ aA	2.43x10 ⁹ aBC	5.67x10 ⁷ aC	15.87
paddy grains	4.00x10 ⁶ cD	2.33x10 ⁶ bD	7.00x10 ⁶ cCD	3.33x10 ⁷ cA	1.27x10 ⁷ bBC	1.53x10 ⁷ bB	0.00bE	24.51
CV (A) (%)	13.46	15.57	14.96	12.18	20.52	13.99	22.85	

Means within the same column with a common lowercase letter are not significantly different by DMRT (P < 0.05)

Means within the same row with a common uppercase letter are not significantly different by DMRT (P < 0.05)

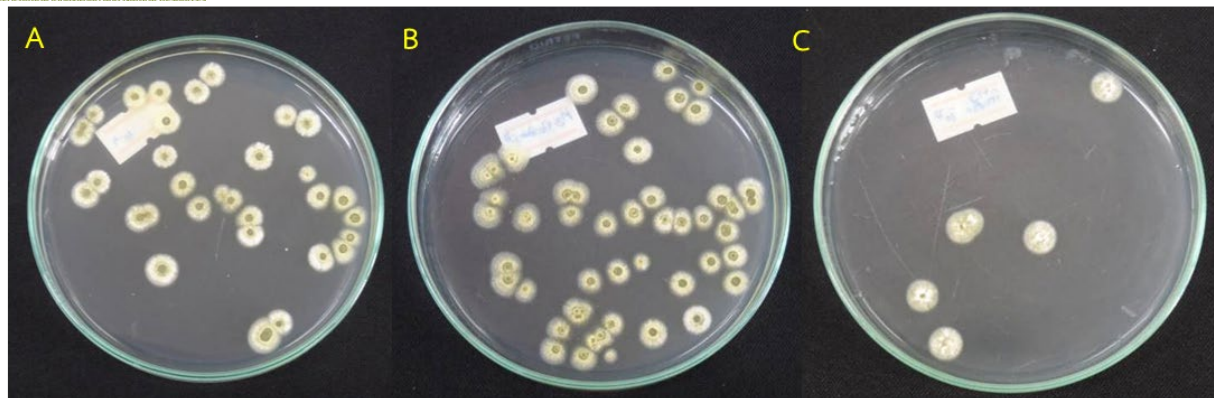


Figure 2 Colonies of *Metarhizium* DOA-M3 on PDA for 7 days after cultured in each medium stored at the refrigerator temperature ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) for 3 months. (A) sorghum grains (B) ground maize kernels and (C) paddy grains.

Table 2 Percent mortality of flea beetles after inoculated conidia suspension of *Metarhizium* DOA-M3 cultured in each medium preserved for 6 months

Treatment	% Mortality of flea beetles ¹							CV (B) (%)
	0	1 month	2 month	3 month	4 month	5 month	6 month	
sorghum grains	100.0a	95.3a	100.0a	100.0a	100.0a	100.0a	96.3a	3.1
ground maize kernels	100.0a	89.0a	100.0a	100.0a	91.7a	100.0a	100.0a	9.6
paddy grains	100.0aA	100.0aA	94.3aA	91.7aA	88.7bA	100.0aA	0.0bB	8.2
sterile water	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0c	0.0b	0.0b	0.0
CV (A) (%)	0.0	15.4	6.7	15.6	6.8	0.0	0.0	

Means within the same column with a common lowercase letter are not significantly different by DMRT ($P < 0.05$)

Means within the same row with a common uppercase letter are not significantly different by DMRT ($P < 0.05$)

¹ Mortality at day 7 after inoculation

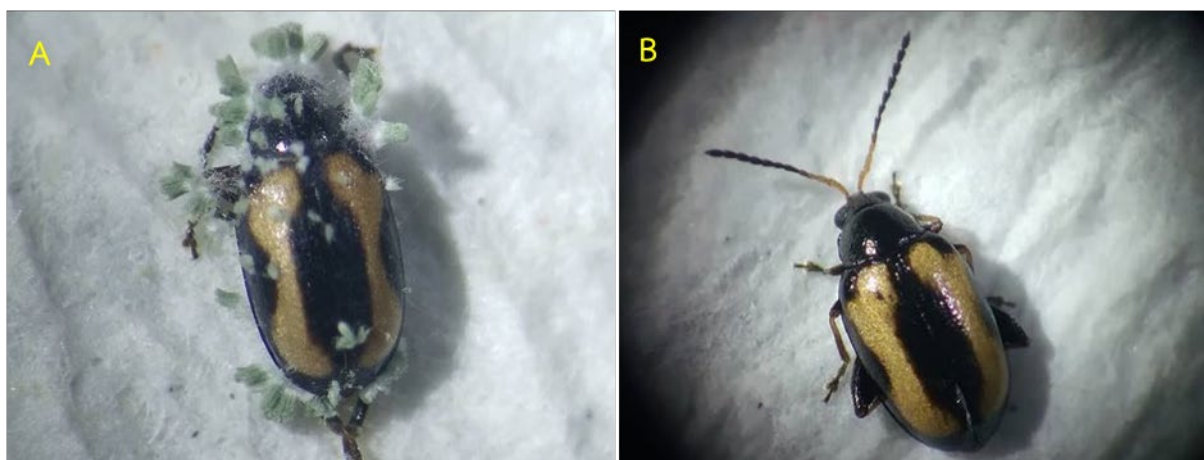


Figure 3 (A) *Metarhizium* DOA-M3 produced conidial on flea beetles after inoculation for 7 days compared with (B) control treatment (un-inoculated *Metarhizium* DOA-M3)

การทดสอบวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เมตาโรเซียม DOA-M3 ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกวางตุ้งสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบครั้งที่ 1 เดือนเมษายน – มิถุนายน 2565 จากการทดสอบควบคุมด้วงหมัดผักในกวางตุ้งสภาพแปลงทดลองที่สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 จังหวัดขอนแก่น พบว่า กรรมวิธีฉีดพ่นสารเคมี fipronil 5% SC อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ ควบคุมด้วงหมัดผักได้ดีที่สุด พบด้วงหมัดผักเข้าทำลายผักกวางตุ้งในสัปดาห์ที่ 6 เฉลี่ย 0.05 ตัวต่อตารางเมตร รองลงมา คือ การใช้ชีวภัณฑ์เมตาโรเซียม อัตรา 2,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ ใส่เดือนพฤษภาคมมีจำนวนด้วงหมัดผัก 0.35 และ 0.45 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ สำหรับผลผลิตของผักกวางตุ้ง พบว่า กรรมวิธีฉีดพ่นสารเคมี fipronil 5% ให้ผลผลิตต่อไร่มากที่สุด คือ 650 กรัมต่อตารางเมตร ขณะที่กรรมวิธีอื่นให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยผลผลิตเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 262-434 กรัมต่อตารางเมตร (Table 3) เนื่องจากพบการระบาดของเพลี้ยอ่อนในทุกกรรมวิธีที่ทดสอบ ยกเว้นกรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารเคมี fipronil 5% ซึ่งงานวิจัยของ Din และคณะ (2022) พบว่า สารเคมี fipronil 5% สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนได้เป็นอย่างดีมีประสิทธิภาพ จึงทำให้ผลผลิตของกวางตุ้งในกรรมวิธีใช้สารเคมีมากกว่ากรรมวิธีอื่น ขณะที่เชื้อรามตาโรเซียม DOA-M3 เป็นไอโซเลตที่มีความจำเพาะไม่สามารถก่อโรคในเพลี้ยอ่อน

การทดสอบครั้งที่ 2 เดือนตุลาคม– ธันวาคม 2565 พบว่า ด้วงหมัดผักเริ่มเข้าทำลายผักกวางตุ้งในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากหยอดเมล็ด ซ้ำกว่าฤดูร้อน และกรรมวิธีฉีดพ่นสารเคมี fipronil 5% SC ชีวภัณฑ์เมตาโรเซียม อัตรา 2,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ ใส่เดือนพฤษภาคม สามารถควบคุมด้วงหมัดผักได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยพบจำนวนด้วงหมัดผักเฉลี่ย 0.34 1.50 และ 1.50 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ สำหรับผลผลิตของผักกวางตุ้ง พบว่าทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยให้ผลผลิตอยู่ระหว่าง 1,349 - 1,519 กรัมต่อตารางเมตร (Table 4) แสดงว่าชีวภัณฑ์เมตาโรเซียม DOA-M3 ไม่มีผลต่อการเจริญและผลผลิตของกวางตุ้ง ไม่ก่อให้เกิดโรครักกับพืช สอดคล้องกับงานวิจัยของ นาวิณ และคณะ (2559)

Table 3 Number of flea beetles and yield of Chinese flowering cabbage in the 1st cropping (April-May 2022)

Treatment	Number of flea beetles/m ² after sowing					Shoots/ plant	Yield (g/m ²)
	2 week	3 week	4 week	5 week	6 week		
<i>Metarhizium</i> DOA-M3 500 g	0.60c	0.40bc	0.20bc	0.20ab	0.75c	2.04 ^{ns}	434b
<i>Metarhizium</i> DOA-M3 1,000 g	0.65c	0.65cd	0.45c	0.60c	0.80c	1.85	362b
<i>Metarhizium</i> DOA-M3 2,000 g	0.30b	0.40bc	0.10ab	0.30b	0.35ab	1.75	360b
<i>Steinernema siamkayai</i> Thai strain	0.25b	0.25b	0.30c	0.15ab	0.45cb	1.65	342b
fipronil 5% SC	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.05a	1.89	650a
control	0.85c	0.80d	1.35d	0.80d	1.50d	1.66	262b
CV (%)	21.82	25.11	31.39	37.15	35.31	19.34	26.41

Means within the same column with a common lowercase letter are not significantly different by DMRT (P < 0.05)

ns= non-significant

Table 4 Number of flea beetles and yield of Chinese flowering cabbage in the 2nd cropping (October -November 2022)

Treatment	Number of flea beetles/m ² after sowing		Shoots/ plant	Yield (g/m ²)
	8 week	9 week		
<i>Metarhizium</i> DOA-M3 500 g	2.11a	2.00b	1.51 ^{ns}	1,430 ^{ns}
<i>Metarhizium</i> DOA-M3 1,000 g	4.03b	2.61b	1.38	1,417
<i>Metarhizium</i> DOA-M3 2,000 g	1.48a	1.50ab	1.49	1,349
<i>Steinernema siamkayai</i> Thai strain	1.16a	1.50ab	1.56	1,436
fipronil 5% SC	1.27a	0.34a	1.44	1,519
control	4.24b	3.31c	1.82	1,453
CV (%)	18.66	36.91	12.29	9.00

Means within the same column with a common lowercase letter are not significantly different by DMRT (P < 0.05)

ns= non-significant

สรุปผล

อาหารที่เหมาะสมสำหรับเตรียมหัวเชื้อราเมตาโรเซียม DOA-M3 คือ เมล็ดข้าวฟ่าง สามารถเก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส) ได้นาน 6 เดือน มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บดหยาบ และง่ายต่อการนำไปเพิ่มปริมาณในข้าวสาลีสำหรับผลิตเป็นชีวภัณฑ์เชื้อสดในการควบคุมด้วงหมัดผัก โดยอัตราและวิธีการใช้ พบว่า เชื้อสดอัตรา 2,000 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรองแยกส่วนของข้าวสาลีออก แล้วนำสปอร์แขวนลอยผสมสารจับใบตามคำแนะนำข้างฉลาก ฉีดพ่นตอนเย็น ลงบนต้นผักกวางตุ้งจนต้นเปียก หลังจากเมล็ดงอก และพ่นซ้ำทุก 7 วัน จนเก็บผลผลิต สามารถควบคุมด้วงหมัดผักได้ดีเช่นเดียวกับการใช้สารเคมี fipronil 5%

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ รชก.ผชช.เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อรา *M. anisopliae* (Metsch) Sorokin ไอโซเลต M3 และ กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- นาวัน สุขเลิศ, จิราพร กุลสาริน, ไสว บรณพานิชพันธ์ และวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2559. ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบปลาย ในเบบี่ฮ่องเต้บนพื้นที่สูงของจังหวัดเชียงใหม่. วารสารเกษตร 32(2): 171 - 180
- เบญจพร ชำนาญ, ขวัญฤดี สุวะไกร, ทิพย์สุนธ์ อนุภาพ, ทศนีย์ แจ่มจรรยา, นุชรีย์ ศิริ, ยุทธิดา ศรีพลแทน, อุบล ตั้งวานิช และประกายจันทร์ นิ้มกิ่งรัตน์. 2565. การใช้ชีวภัณฑ์ในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบปลาย (*Phyllotreta sinuata* Stephen) (Coleoptera: Chrysomelidae) ในกวางตุ้ง. แก่นเกษตร 50(4): 932-944.
- ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. ม.ป.ป. เมตาโรเซียม: ราเขียวกำจัดแมลงศัตรูพืช. เข้าถึงได้จาก: <https://www.nstda.or.th/agritec/wp-content/uploads/2021/01/METARHZIUM.pdf> [เข้าถึงเมื่อ 5 กรกฎาคม 2556].
- สุธีวรรณ ต้นชู, วิสูตร หมัดหมัด และนิพนวรรณ หมี่ทอง. 2560. การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช. เข้าถึงได้จาก: <http://www.pmc06.doae.go.th/training%20document/file%20document%20biocontrol.pdf> [เข้าถึงเมื่อ 6 กรกฎาคม 2556].
- เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และอนุวัฒน์ จันทรสวรรณ. 2548. การวิจัยและพัฒนาการผลิตและ ใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* เพื่อประโยชน์ทางการเกษตร. หน้า 1785-1808. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2548 เล่ม 2. กรุงเทพฯ: สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, อิศเรศ เทียนทัด และวิไลวรรณ เวชยันต์. 2556. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา เมตาโรเซียม *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokini เพื่อป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก; *Phyllotreta sinuata* (Stephens). หน้า 693 - 703. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556. กรุงเทพฯ: สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Din, M.ud, Khan, S. A., Shah, S. H. and Ullah, N. 2022. Efficacy of different pesticides against Mustard Aphid, *Lipaphis Erysimi* in selected Mustard cultivars. Pakistan Journal of Agricultural Research 35 (2):374-379.
- Phillipine Rice Research Institue. 2022. *Metarhizium* Micobial control agent for rice black bug. Available from: <https://www.pinoyrice.com/?wpdmdl=3296> [accessed on 12 May 2023].

การเสริมตะกอนไบโอฟลอคอบแห้งในสูตรอาหารต่อการต้านทานเชื้อแบคทีเรียก่อโรค
Aeromonas hydrophila ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*, Lin)
Dietary Supplementation of Dried Bioflocs on Disease Resistance Against
Aeromonas hydrophila Infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Lin)

สุโหลหมาน หมดไทยต^{1*} สุภิญญา ชูใจ¹ สุภาพร หนูชู¹ สุวรรณ ผลใหม่² และ สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวิ³
Madyod, S.^{1*}, Chujai, S.¹, Hnuch, S.¹, Pholmai, S.² and Wuthisuthimethavee, S.³

¹ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช, 80240

¹ Faculty of Veterinary, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thungyai, Nakhon si Thammarat, 80240

² คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช, 80110

² Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon si Thammarat, 80110

³ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช, 80160

³ School of Agricultural Technology and Food Industry, Walailak University, Tha-sala, Nakhon si Thammarat, 80160

* Corresponding author: sulaiman.m @rmutsv.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของตะกอนไบโอฟลอคอบแห้งต่ออัตราการตายและอัตราการรอดตายสัมพัทธ์ของปลานิลที่กระตุ้นให้เกิดการติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลองๆละ 3 ซ้ำ ได้แก่ กลุ่มการทดลองที่ 1 เป็นอาหารสูตรมาตรฐานที่ไม่มีส่วนผสมของไบโอฟลอค (กลุ่มควบคุม) กลุ่มการทดลองที่ 2-4 เป็นอาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอค 0.5, 1, และ 5 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และกลุ่มการทดลองที่ 5 อาหารที่มีส่วนผสมของเบต้ากลูแคน 0.5 กรัมต่อกิโลกรัม ใช้ปลานิลซ้ำละ 20 ตัว ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 17 วัน โดยปรับเป็นสูตรอาหารทุกกลุ่มทดลองกำหนดให้มีโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ใช้ปลานิลทดลองขนาดเฉลี่ย 10.0±0.5 กรัม ให้อาหารแต่ละชุดการทดลองก่อนการฉีดเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วันและหลังฉีดเชื้ออีก 10 วัน โดยฉีดเชื้อ *A. hydrophila* ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เข้ากล้ามเนื้อเพื่อชักนำให้เกิดการติดเชื้อ จากนั้นเก็บข้อมูลอัตราการตายของปลาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของตะกอนไบโอฟลอคอบแห้งและวิเคราะห์อัตราการรอดตายสัมพัทธ์ (%RPS) ผลการทดลองพบว่า อัตราการตายของปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอค 5 กรัม/กิโลกรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอค 0.5 กรัม/กิโลกรัม และกลุ่มควบคุม ส่วนอัตราการรอดตายสัมพัทธ์ของกลุ่มทดลอง 2-5 เท่ากับ 2.87 ± 1.4 , 11.42 ± 0.4 , 31.42 ± 2.85 และ 17.14 ± 8.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยชุดการทดลองที่ผสมไบโอฟลอคในอาหาร 5 กรัมต่อกิโลกรัมให้ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ ซึ่งแสดงว่าตะกอนไบโอฟลอคอบแห้งสามารถเพิ่มอัตราการรอดตายในปลานิลที่ติดเชื้อ *A. hydrophila* ได้เป็นอย่างดี และมีความเป็นไปได้ที่จะช่วยเพิ่มการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลาต่อเชื้อโรคเมื่อมีการใช้ตะกอนฟลอคอบแห้งในส่วนผสมของอาหารแต่ต้องมีการทดลองต่อไป

คำสำคัญ: ตะกอนไบโอฟลอคอบแห้ง *Aeromonas hydrophila* ปลานิล

Abstract

The aim of this research is to determine the efficiency of dried biofloc sediment on mortality rate and relative percent survival of Nile Tilapia infected with *Aeromonas hydrophila*. The experiment was consisted of 5 treatments, each with 3 repetitions, and completely randomized design was used: 1) A standard diet without biofloc (control group) and (2) trials with diets containing 0.5, 1 and 5 g/kg of dried biofloc. While experiment 5 had 0.5 g/kg of beta-glucan. 20 fish with average weights of 10.00±0.5 grams were raised for experimentation. 17 days were experimented, each treatment group was fed for 7 days before the disease infection, in addition data on mortality for the next 10 days after infection was collected. *A. hydrophila* was intramuscularly injected at 0.2 mL/fish to induce disease infection. The fish mortality was analyzed for determining on relative percent survival (RPS) of each trial. The results of this study showed that the mortality rates of fish fed the diet with 5

g/kg of dried biofloc were significantly different ($P < 0.05$) when compared with fish fed the diet with 0.5 g/kg of dried biofloc and control group. Moreover, the relative percent survival of 2-5 group were found at 2.87 ± 1.4 , 11.42 ± 0.4 , 31.42 ± 2.85 and 17.14 ± 8.6 percent, respectively, which trial group 4 (5 g/kg dried bio floc) was showed on significant statistical difference ($P < 0.05$) from other treatment groups. Dried biofloc sediment indicated on effectively increase survival rate in Nile Tilapia infected with *A. hydrophila*, which will require further experimentation on immunity system of fish.

Keywords: Dried bio-floc sediment, *Aeromonas hydrophila*, Nile tilapia

บทนำ

ปลานิล เป็นปลาน้ำจืดที่สำคัญทางเศรษฐกิจของไทย และเป็นที่ยอมรับกันมากชนิดหนึ่ง ในทางอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของไทยมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเพื่อตอบสนองความต้องการการบริโภคทั้งภายในประเทศและการขยายตัวด้านการส่งออก สำหรับประเทศไทยปลานิลและปลานิลลูกผสมสีแดงเป็นปลาน้ำจืดที่ผลิตได้มากที่สุด โดยมีปริมาณรวม 205,971 ตัน ในปี 2563 และมีประเทศที่เป็นผู้ส่งออกปลานิลและผลิตภัณฑ์มากที่สุดในโลก 3 อันดับแรก ได้แก่ จีน (มูลค่า 8,634.0 ล้านบาท) เกาหลีใต้ (มูลค่า 1,512.9 ล้านบาท) และอินโดนีเซีย (1,356.0 ล้านบาท) ตามลำดับ โดยไทยมีการส่งออกปลานิลและผลิตภัณฑ์เป็นอันดับที่ 16 คิดเป็นมูลค่า 277.9 ล้านบาท (กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ, 2564) ปัจจุบันการเลี้ยงปลาในระดับความหนาแน่นสูงขึ้นเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มากขึ้น เกษตรกรต้องประสบปัญหาของเสียในระบบการเลี้ยง ซึ่งมักเกิดจากการให้อาหารในปริมาณที่มาก อาหารเหลือ หรือจากการขับถ่ายของตัวสัตว์น้ำเอง ส่งผลต่อสุขภาพสัตว์น้ำ เช่น ก่อให้เกิดความเครียด อ่อนแอ ระบบภูมิคุ้มกันลดลง และเป็นเหตุให้เกิดปัญหาการระบาดของโรคติดเชื้อได้

เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายของปลาเป็นจำนวนมาก ทั้งในโรงเพาะฟักและตามแหล่งน้ำธรรมชาติ พบการแพร่ระบาดในสัตว์น้ำหลายชนิดและก่อให้เกิดปัญหาในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจทั่วโลก โดยสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ คือ *A. hydrophila*, *A. sobria* และ *A. caviae* ซึ่งทำให้ปลาที่ติดเชื้อมีอาการหลายอย่าง เช่น ภาวะโลหิตเป็นพิษ (septicemia) เกิดการตกเลือด (hemorrhage) แผลเน่าเปื่อยตามผิวหนัง (ulcer) (Cipriano, 2001) ในขณะที่ *A. jandaei* เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่มีชีวิตในสภาพแวดล้อมทางน้ำ เช่น น้ำจืดและน้ำที่มีความเค็มต่ำ แม้ว่า *A. jandaei* จะมีศักยภาพในการก่อโรคในสัตว์น้ำ แต่มักจะเป็นอันตรายต่อสัตว์ที่มีระบบภูมิคุ้มกันที่อ่อนแอ หรือที่มีอาการป่วยอยู่ก่อน ส่วนอาการของการติดเชื้อ *A. jandaei* ในสัตว์น้ำอาจประกอบด้วยอาการของการติดเชื้อทางเลือด (septicemia) ซึ่งสัตว์อาจมีอาการป่วย อ่อนเพลีย การหายใจเร็ว และการเคลื่อนไหวไม่ปกติ การติดเชื้อ *A. jandaei* ยังอาจทำให้เกิดอาการของการติดเชื้อในระบบหายใจ ทำให้เกิดปอดอักเสบในสัตว์น้ำ และ *A. veronii* เป็นชนิดแบคทีเรียในกลุ่ม *Aeromonas* sp. ที่สามารถก่อโรคในสัตว์น้ำได้ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในสัตว์น้ำขนาดเล็กและตัวเต็มวัย อาการที่เกิดขึ้นอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำและระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์นั้น ๆ อาการที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ *A. veronii* สามารถก่อให้เกิดโรค yellow disease หรือ ulcer disease ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากการทำลายเนื้อเยื่อในส่วนต่าง ๆ ของสัตว์น้ำ เช่น ผิวหนัง กล้ามเนื้อ หรืออวัยวะภายใน เมื่อติดเชื้อ *A. veronii* สัตว์น้ำอาจแสดงอาการที่ผิวหนังมีจุดแผลหรือแผลเปิด อาการอักเสบ ก้อนหรือกล้ามเนื้อที่บวม และอาจเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในอวัยวะภายในได้ด้วย (Dong et al., 2017)

โรคติดเชื้อ *Aeromonas* sp. หากไม่ได้รับการวินิจฉัยและรักษาอย่างทันท่วงทีอาจก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากและส่งผลกระทบต่อผลผลิตของเกษตรกร จึงมีการพัฒนาสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในรูปแบบของจุลินทรีย์จากธรรมชาติเพื่อช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลา เนื่องจากการใช้ยาปฏิชีวนะมากเกินไปทำให้เกิดสายพันธุ์แบคทีเรียก่อโรค *Aeromonas* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (Yang et al., 2018) ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว มีการเปลี่ยนแปลงความจำเพาะเจาะจงของ DNA (พลาสมิด) ทำให้เกิดการดื้อยาของกลุ่มจุลินทรีย์เหล่านี้มากขึ้นในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำ (Haygood and Jha, 2016)

ระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบการใช้เทคโนโลยีไบโอฟลอคได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะการเลี้ยงกุ้งและปลานิล เนื่องจากสามารถบำบัดสารอินทรีย์เหลือทิ้งในระบบและนำกลับไปเป็นอาหารสัตว์น้ำจากกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในน้ำ (Azim and Little, 2008) ซึ่งการเลี้ยงในระบบไบโอฟลอคจะพบอัตราการรอดตายของสัตว์น้ำสูงกว่าการเลี้ยงในระบบการเลี้ยงปกติ (Kim et al., 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยที่แสดงถึงคุณสมบัติและศักยภาพของตะกอนไบโอฟลอคเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ เมื่อสัตว์น้ำได้รับอาหารผสมไบโอฟลอคจะส่งผลให้มีภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น เช่น ในปลานิล (ศุภณัฐและคณะ, 2561) กุ้งขาว (Ekasari et al., 2014) และปลายี่สกเทศ (Ahmad et al., 2016) แต่อย่างไรก็ตามไบโอฟลอคที่ผลิตจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันจะมีประสิทธิภาพของไบโอฟลอคในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลานิลแตกต่างกัน จากการศึกษาของ Ahmad et al (2016) ทดลองเลี้ยงปลายี่สกเทศในระบบไบโอฟลอคโดยใช้แหล่งคาร์บอน 4 ชนิด (แป้งมันสำปะหลัง แป้งสาลี แป้งข้าวโพด และกากอ้อยจากการผลิตน้ำตาล) พบว่าฟลอคที่เกิดขึ้นในระบบการเลี้ยงที่ใช้แหล่งคาร์บอนทั้ง 4 ชนิดสามารถกระตุ้น

ภูมิคุ้มกันปลายี่สกเทศได้ แต่ประสิทธิภาพการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแตกต่างกัน โดยแป้งมันสำปะหลังสามารถกระตุ้นได้ดีที่สุด และรายงานการวิจัยของ Caldini และคณะ (2015) ทดลองใช้ตะกอนฟลอกอบแห้งและตะกอนฟลอกไม่อบแห้งผสมกับอาหารสำเร็จรูปในอัตราส่วนที่ต่างกันเลี้ยงปลาชนิด ผลการทดลองพบว่า การให้อาหารสำเร็จรูปผสมกับตะกอนฟลอกอบแห้งไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาชนิดนี้เมื่อเทียบกับการให้อาหารสำเร็จรูปผสมกับตะกอนฟลอกไม่อบแห้ง และเมื่อพิจารณาอัตราการตายของแต่ละชุดการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีอัตราการรอดตายสูงถึง 87.8 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่งานวิจัยของ Binalshikh-Abubkr and Mohd Hanafiah (2021) พบว่า การเสริมสารอาหารด้วยไบโอฟลอกแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยทดลองให้อาหารทดลอง 2 กลุ่ม (กลุ่ม T0: ไม่มีไบโอฟลอก; และกลุ่ม T1: ไบโอฟลอกแห้งแช่แข็ง 4%) ในการเลี้ยงปลาชนิดแดงเป็นระยะเวลา 57 วัน ผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่ไม่มีไบโอฟลอก (T0) มีการใช้อาหารมากกว่ากลุ่มที่มีไบโอฟลอก (T1) ($P < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างที่มีนัยสำคัญระหว่างทั้งสองกลุ่มการทดลองในเรื่องน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Specific growth rate: SGR) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate: FCR) ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามสามารถเพิ่มไบโอฟลอกแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 4% เข้าไปในอาหารสูตรที่ออกแบบไว้ได้สำหรับการเลี้ยงปลาชนิดแดงเนื่องจากมีการใช้อาหารที่น้อย แม้ว่าจะไม่พบผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตในเรื่องน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย ก็ตาม

ปัจจุบันสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในอุตสาหกรรมสัตว์น้ำมีราคาสูง ส่งผลต่อต้นทุนของเกษตรกรเมื่อนำมาใช้ในระบบฟาร์ม ดังนั้นผู้ทำวิจัยจึงหาแนวทางในการค้นหาประสิทธิภาพของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลาชนิดที่ติดเชื้อแบคทีเรียจากตะกอนไบโอฟลอกในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยใช้อาหารที่ผสมตะกอนไบโอฟลอกเหลือทิ้งจากระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำเสริมในอาหารสัตว์น้ำ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของตะกอนไบโอฟลอกอบแห้งในสูตรอาหารต่ออัตราการรอดตาย และอัตราการรอดตายสัมพันธ์ของปลาชนิดที่ติดเชื้อ *A. hydrophila*

อุปกรณ์และวิธีการ

การผลิตตะกอนไบโอฟลอก

เตรียมน้ำจากแหล่งน้ำที่ไม่มีสารกำจัดจุลินทรีย์จากแหล่งน้ำธรรมชาติ ปรับค่า pH ให้เท่ากับ 8 ให้ออกซิเจนตลอดเวลา จากนั้นเตรียมตะกอนไบโอฟลอกในบ่อเลี้ยงปลาโดยกำหนดอัตราส่วนของคาร์บอน : ไนโตรเจน เท่ากับ 16:1 โดยใช้ อาหารสำเร็จรูปเป็นแหล่งไนโตรเจน และแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนเติมลงในถัง เมื่อผ่านไป 48-72 ชั่วโมงจะได้ ตะกอนไบโอฟลอก โดยสังเกตตะกอนฟลอกจากอุปกรณ์ Imhoff cone จากนั้นนำปลาเลี้ยงจำนวน 50 ตัว ให้อาหารปลาวันละ 1 ครั้ง ในอัตรา 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน และเริ่มทำการเก็บตะกอนไบโอฟลอก เมื่อมีปริมาณมากกว่า 40 มิลลิลิตร ในอุปกรณ์ Imhoff cone

การเก็บตะกอนฟลอกโดยการกรองผ่านผ้ากรองที่มีขนาด 40 ไมครอน สัปดาห์ละ 1 ครั้ง หรือกรณีที่ปริมาณมาก โดยทำการวัดปริมาณตะกอนชีวภาพจากอุปกรณ์ Imhoff cone ในแต่ละวัน ซึ่งถ้ามีตะกอนปริมาณมากกว่า 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร ก็สามารถเก็บตะกอนฟลอกได้ (Avnimelech, 2007) จากนั้นนำไปอบแห้งโดยใช้เครื่องอบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งความชื้นของตัวอย่าง อยู่ในช่วงประมาณ 10-15% จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโภชนะในตะกอนฟลอก โดยปรับปรุงจากวิธีการของ AOAC (2000) จากนั้นนำไปเก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเกิดเชื้อราจนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

การวางแผนการทดลอง

ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design ; CRD) โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 5 ชุด ชุดละ 3 ซ้ำ (15 ตู้ทดลอง) ดังต่อไปนี้

1. ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสูตรไม่มีส่วนผสมของไบโอฟลอก 0 กรัม/กิโลกรัม (กลุ่มควบคุม)
2. ชุดการทดลองที่ 2 อาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอก 0.5 กรัม/กิโลกรัม
3. ชุดการทดลองที่ 3 อาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอก 1 กรัม/กิโลกรัม
4. ชุดการทดลองที่ 4 อาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอก 5 กรัม/กิโลกรัม
5. ชุดการทดลองที่ 5 อาหารที่มีส่วนผสมของเบต้ากลูแคน 0.5 กรัม/กิโลกรัม (Lee *et al.*, 2017)

การเตรียมอาหารทดลอง

การกำหนดสูตรอาหาร โดยนำผงตะกอนฟลอก มาคำนวณเพื่อกำหนดสูตรอาหารปลาชนิดโดยดัดแปลงจากสูตรอาหารพื้นฐานที่ถูกพัฒนาขึ้นโดย ธนาภรณ์ (2557) และปรับปริมาณโปรตีนเป็น 30 เปอร์เซ็นต์

Table 1 Diets formulation and composition of experimental diets

Feed ingredients	Experimental diets				
	Dried biofloc 0 g/kg	Dried biofloc 0.5g/kg	Dried biofloc 1g/kg	Dried biofloc 5 g/kg	Beta glucan 0.5 g/kg
Dried floc	0	0.5	1	5	0
Beta glucan	0	0	0	0	0.5
Fish meal	450	450	450	450	450
Soybean	290	280	280	260	280
Rice bran	200	230	165	180	200
Corn meal	35	14.5	79	80	44.5
Alpha starch	5	5	5	5	5
Premix***	20	20	20	20	20
Total (1000 g)	1000	1000	1000	1000	1000

***หมายเหตุ: วิตามิน: A C D3 E K3 B1 B3 B5 B6 B7 B8 B9 B12

แร่ธาตุ: เหล็ก สังกะสี ทองแดง ซีลีเนียม

สัตว์ทดลอง

ปลานิลจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดนครศรีธรรมราช นำมาพักปรับสภาพการเลี้ยงก่อนการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ขนาดปลานิลที่ใช้ทดลองเฉลี่ย 10.0±0.5 กรัมต่อตัว เลี้ยงในตู้ขนาด 31.25 x 57.5 x 42.5 ซม. (ปริมาตรน้ำใช้เลี้ยงปลา ประมาณ 55 ลิตร) เลี้ยงปลาตู้ละ 20 ตัว ให้อาหารสำเร็จรูป 2 ครั้งต่อวัน (เช้าและเย็น) จากนั้นเริ่มการทดลองโดยให้อาหารของแต่ละชุดการทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน อัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน จากนั้นเหนี่ยวนำปลานิลให้เกิดการติดเชื้อ *A. hydrophila* ที่ระดับความเข้มข้น 3x10⁸ CFU/ml ฉีดเข้าชั้นกล้ามเนื้อบริเวณลำตัวในปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร จากนั้นนำปลาลงเลี้ยงในตู้เป็นระยะเวลา 10 วัน นับจำนวนปลาตายเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตาย และนำอวัยวะไตส่วนหน้าของปลาที่ตายไปเพาะบนอาหาร nutrient agar (NA) medium เพื่อยืนยันการตายของปลาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ชักนำให้เกิดการติดเชื้อ

การศึกษาค่าอัตราการรอดสัมพัทธ์ (Relative Percent Survival: RPS)

นำเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยของปลานิลในแต่ละกลุ่มการทดลองไปหาค่าอัตราการรอดสัมพัทธ์โดยดัดแปลงวิธีของ Ellis (1988) ดังนี้

$$RPS(\%) = \left[1 - \frac{\text{อัตราการตายเฉลี่ยของปลาที่ได้รับอาหารผสมไบโอฟลอคหรือเบต้ากลูแคน}}{\text{อัตราการตายเฉลี่ยของปลาที่ไม่ได้รับอาหารผสมไบโอฟลอคหรือเบต้ากลูแคน}} \right] \times 100$$

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่าอัตราการตายและอัตราการรอดสัมพัทธ์ (RPS) มาเปรียบเทียบความแปรปรวนทางเดียว (One way ANOVA) ในแต่ละชุดการทดลอง และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาในตะกอนฟลอค

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาโดยวิธีประมาณ (Proximate analysis) ในตะกอนฟลอคตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (2000) พบว่าตะกอนฟลอคซึ่งเป็นตะกอนเหลือทิ้งที่ได้จากกระบวนการเลี้ยงปลานิลมีคุณค่าทางโภชนา ดังนี้

Table 2 Analysis of chemical composition of floc sediment from the cultured system

Sample	Moisture (%)	Ash (%)	Crude protein (%)	Ether extract (%)	Crude fiber (%)
Floc sediment	11.16	13.42	12.28	11.88	3.35

ประสิทธิภาพของตะกอนฟลอคในสูตรอาหารสำเร็จรูปปลานิลต่ออัตราการตายและอัตราการรอดตายสัมพัทธ์ (Relative Percent Survival: PRS) ในปลานิล

จากการทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของตะกอนไบโอฟลอคเพื่อตรวจสอบอัตราการตายและอัตราการรอดตายสัมพัทธ์ (%RPS) พบว่าอัตราการตายของปลานิลทั้ง 5 ชุดการทดลอง เท่ากับ 87.50 ± 7.5 , 85.00 ± 5.0 , 77.50 ± 7.5 , 60.00 ± 5.0 และ 72.50 ± 7.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอค 5 กรัม/กิโลกรัม ให้ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอค 0.5 กรัม/กิโลกรัม และชุดการทดลองกลุ่มควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่าง ($P > 0.005$) กับสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอค 1 กรัม/กิโลกรัม และอาหารที่มีส่วนผสมของเบต้ากลูแคน 0.5 กรัม/กิโลกรัม

ส่วนอัตราการรอดตายสัมพัทธ์ของปลานิลทั้ง 4 กลุ่มการทดลองโดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เท่ากับ 2.87 ± 1.4 , 11.42 ± 0.4 , 31.42 ± 2.85 และ 17.14 ± 8.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการทดลองพบว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่เสริมไบโอฟลอคหรือเบต้ากลูแคน มีอัตราการตาย เท่ากับ 87.50 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับกลุ่มที่มีการเสริมตะกอนไบโอฟลอคหรือเบต้ากลูแคนจะพบอัตราการตายลดน้อยลง และมีอัตราการรอดสัมพัทธ์สูงขึ้น ดัง Table 3 โดยเฉพาะอย่างยิ่งสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของตะกอนไบโอฟลอค 5 กรัมต่อกิโลกรัม พบอัตราการรอดสัมพัทธ์มากที่สุดเท่ากับ 31.42 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาณตะกอนฟลอคสูงขึ้น อาจลดอัตราการตายของปลา และเพิ่มอัตราการรอดสัมพัทธ์ เมื่อได้รับเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *A. hydrophila*

Table 3 The effect of supplement dried biofloc meal on relative percent survival of *A. hydrophila*-infected for tilapia

Treatment	Survival rate (%)	RPS (%)
1. Control (non-floc sediment: 0 g/kg)	87.50 ± 7.5^a	
2. 0.5 g/kg of floc Supplement in feed formula	85.00 ± 5.0^a	2.87 ± 1.4^c
3. 1 g/kg of floc Supplement in feed formula	77.50 ± 7.5^{ab}	11.42 ± 0.4^b
4. 5 g/kg of floc Supplement in feed formula	60.00 ± 5.0^b	31.42 ± 2.85^a
5. 0.5 g/kg of beta glucan in feed formula	72.50 ± 7.5^{ab}	17.14 ± 8.6^b

ประเทศไทยประสบปัญหาขาดแคลนน้ำในบางฤดูกาล ส่งผลให้เกษตรกรเลี้ยงปลาประสบปัญหาไม่สามารถเปลี่ยนถ่ายน้ำในระบบการเลี้ยงปลาได้ แนวคิดในการนำเทคโนโลยีไบโอฟลอค (biofloc technology) มาใช้ในระบบการเลี้ยงปลานิล เนื่องจากสามารถลดปริมาณแอมโมเนียที่เป็นพิษได้ (Direkbusarakom, 2015) โดยจุลินทรีย์ในกลุ่มของ Heterotrophic bacteria ซึ่งต้องการออกซิเจนในการสลายพลังงาน สามารถใช้คาร์บอนและไนโตรเจนเป็นแหล่งอาหาร แต่ต้องควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N ratio) ให้มีความเหมาะสม ซึ่งจะช่วยลดการเปลี่ยนถ่ายน้ำได้ และสามารถนำตะกอน ไบโอฟลอคเหลือทิ้งมาทดแทนปลาป่นซึ่งเป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารในการเลี้ยงปลานิล (Bureau of Agricultural Economics Research, 2012) มีรายการการนำตะกอนไบโอฟลอคมาใช้เป็นสูตรอาหารเลี้ยงปลานิลจันทบุรีเขต โดยการทดลองของ Sharma และคณะ (2018) ซึ่งใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน และใช้อาหารปลาสำเร็จรูป โปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตะกอนไบโอฟลอคมีปริมาณโปรตีน 34 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 12.6 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 31 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 15.2 เปอร์เซ็นต์ และในรายงานการวิจัยของ สิริพงษ์ และคณะ (2560) ใช้อาหารกุ้งเป็นแหล่งไนโตรเจน และแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่าปริมาณโปรตีนเท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน เท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ เื่อใย เท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า เท่ากับ 13 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้งหมดเป็นการผลิตไบโอฟลอคโดยไม่ได้มีการเลี้ยงปลาร่วม ส่วนในรายงานการทดลองครั้งนี้ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า ปริมาณโปรตีนต่ำเท่ากับ 12.28 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีการเลี้ยงปลานิลร่วมกับระบบไบโอฟลอคแล้วเก็บตะกอนไบโอฟลอคมาใช้ประโยชน์ ซึ่งน่าจะเกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายอินทรีย์ในน้ำของจุลินทรีย์ในขั้นต้น ซึ่งยังย่อยไม่สมบูรณ์

ประสิทธิภาพของตะกอนฟลอคในสูตรอาหารสำเร็จรูปสัตว์น้ำ มีรายงานการวิจัยของ Caldini และคณะ (2015) ทดลองใช้ตะกอนฟลอคคอบแห้งและตะกอนฟลอคไม่อบแห้งผสมกับในอาหารสำเร็จรูปในอัตราส่วนที่แตกต่างกันเลี้ยงปลานิล พบว่าการให้อาหารสำเร็จรูปผสมกับตะกอนฟลอคคอบแห้ง ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิลเมื่อเทียบกับการให้อาหารสำเร็จรูปผสมกับตะกอนฟลอคไม่อบแห้ง เมื่อพิจารณาอัตราการตายของแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีอัตราการรอดตายสูงถึง 87.8 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานการวิจัยของ Shyne และคณะ (2014) ทดลองสูตรอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยใช้ตะกอนไบโอฟลอคคอบแห้ง ในอัตราส่วน 0, 4, 8 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้จากตะกอนไบโอฟลอค เท่ากับ 24.30 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลอง พบว่าการเพิ่มปริมาณตะกอนฟลอคคอบแห้งในสูตรอาหารกุ้งกุลาดำในอัตราส่วน 8 เปอร์เซ็นต์ให้น้ำหนักสุดท้ายของกุ้งกุลาดำที่ดีที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าตะกอนฟลอคคอบแห้งสามารถนำมาเสริมในอาหารสำเร็จรูปเพื่อสร้างการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้เหมือนกับเบต้ากลูแคนและนิวคลีโอไทด์

โรคติดเชื้อจากจุลินทรีย์สร้างความเสียหายต่อการพัฒนาและส่งผลกระทบต่อความยั่งยืนของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วโลก ส่งผลให้ต้องมีการพัฒนาเครื่องมือที่เหมาะสมในการควบคุมการระบาดของโรคในสัตว์น้ำ ทางเลือกหนึ่งที่ใช้ทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะคือการใช้สารที่มีคุณสมบัติกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น β -glucans ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของ β -glucans ในปลาหลายชนิด ผ่านการตอบสนองภูมิคุ้มกันแบบกำเนิด ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิต และเกิดกลไกเฉพาะของการป้องกันแบบสารน้ำ ซึ่งแนวทางการให้ยากระตุ้นภูมิคุ้มกันเป็นสิ่งสำคัญและควรเป็นที่ยอมรับในด้านการใช้งาน และรวมถึงระดับการป้องกันที่อาจส่งผลต่อความเครียดของปลา ดังนั้นการแช่ และการผสมในอาหาร จึงเป็นแนวทางที่ดีที่สุดเพื่อให้ยาได้กระจายได้ทั่วถึงและไม่ส่งผลต่อความเครียดของปลา จากรายงานของ Sado และคณะ (2016) ในการศึกษาการบริหารยาของการให้ β -glucan (ทางปาก, การฉีด, การแช่) ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและโลหิตวิทยาของปลานิล โดยหลังจากการทดลองเป็นเวลา 15 วัน จะมีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อกำหนดพารามิเตอร์โลหิตวิทยาและภูมิคุ้มกันของปลา ผลการศึกษาพบว่าปลาที่ได้รับการฉีดด้วย β -glucan มีค่าความเข้มข้นของไลโซไซม์ในเลือดสูงกว่าการบริหารยาด้วยวิธีการอื่น ๆ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการให้ β -glucan ผ่านทางปากและการแช่ ไม่ส่งผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันสำหรับปลานิลขนาดเล็ก เหมือนกับการให้ผ่านทางฉีดเข้าช่องท้อง

สรุปผล

จากการทดลองการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของตะกอนไบโอฟลอคเพื่อตรวจสอบอัตราการตายและอัตราการรอดสัมพันธ์ (%RPS) พบว่าอาหารที่มีส่วนผสมของไบโอฟลอค 5 กรัม/กิโลกรัม สามารถเพิ่มอัตราการรอดสัมพันธ์ (%RPS) ได้มากที่สุด

ข้อเสนอแนะควรทำการศึกษาด้านระบบภูมิคุ้มกันในปลานิลในชุดการทดลอง และวิเคราะห์ จุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติกในตะกอนไบโอฟลอคด้วยเทคนิคจุลชีววิทยาเพื่อจะได้ข้อมูลสาเหตุที่แท้จริงที่เกี่ยวข้องกับผลการรอดตายของปลานิลเมื่อได้รับเชื้อแบคทีเรียก่อโรค และเพิ่มปริมาณของตะกอนไบโอฟลอคในสูตรอาหารสำเร็จรูปในสัดส่วนที่สูงขึ้น เพื่อประเมินปริมาณที่เหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนทุนวิจัยจากบงเงินอุดหนุนมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย เรื่อง การพัฒนาสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลานิลจาก Bio-flocs เหลือทิ้งจากระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่น ผู้วิจัยขอขอบคุณนางสาวฤดีรัตน์ ฉลาด และนางสาวอัญมณี ชูเกลี้ยง นักศึกษาผู้ช่วยวิจัยชั้นปีที่ 6 ที่พัฒนาระบบการเลี้ยงปลา การทดลองด้วยระบบการเลี้ยงแบบไบโอฟลอคตลอดจนการวิเคราะห์ข้อมูลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์. 2564. ปลานิลและผลิตภัณฑ์. เข้าถึงได้จาก: <https://api.dtn.go.th/files/v/3/614af620ef4140fe44141855/download> [15 เมษายน 2566].

ธนาภรณ์ จิตตपालพงศ์. 2557. การสร้างสูตรอาหารสัตว์น้ำและสูตรอาหารสัตว์น้ำเศรษฐกิจ. กรุงเทพฯ: กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สิริพงษ์ วงศ์พรประทีป ธรรมบุญ งานวิสุทธิพันธ์ และกรกฎ สันต์ตการ. 2560. การใช้ไบโอฟลอคคอบแห้งในการผลิตอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*). *Prawarun Agricultural Journal* 14(2): 231-237.

- ศุภณัฐ วัฒนิธรรม, ณัฐนิชา เมืองกาญจน์, ชีรวิฑูมิ เลิศสุททธิवाल, นีอร จิรพงศธรกุล และกิตติชนม์ อุเทนพะพันธ์. 2561. ผลของไบโอฟลอคที่ผลิตจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในปลาไนล์ (*Oreochromis niloticus*). วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 20(2): 1-13.
- Ahmad, H.I. Verma, A.K., Babitha Rani, A.M., Rathore, G., Saharan, N. and Gora, A.H. 2016. Growth, nonspecific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. *Aquaculture* 457: 61-67.
- AOAC. 2000. Official Method of Analysis of AOAC International. 17th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Virginia
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. *Aquaculture* 264: 140-147.
- Azim, M.E. and Little, D.C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283(1-4): 29-35.
- Binalshikh-Abubkr, T. and Mohd Hanafiah, M. 2021. Effect of freeze-dried biofloc as a dietary supplement on water quality and growth performance of red Tilapia (Hybrid). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 880: 1-11
- Bureau of Agricultural Economics Research. 2012. Study of economy, production, marketing of fishmeal. Office of Agricultural Economics, Ministry of Agriculture and Cooperatives Agricultural Economics Research. Thailand. Available from: http://www.oae.go.th/ewtadmin/ewt/oae_baer/download/article/article_20141013135447.pdf [20 April 2023]
- Caldini, N.N., de Holanda Cavalcante, D. Filho, P.R.N.R. and do Carmo e Sá, M.V. 2015. Feeding Nile tilapia with artificial diets and dried bioflocs biomass. *Acta Scientiarum Animal Sciences* 37 (10): 335-241.
- Cipriano, R.C. 2001. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. Washington, D.C.: U.S. Fish and Wildlife Service.
- Direkbusarakom, S. 2015. Aquaculture by flocculation. Available from: <http://www.coastalaqua.com/files/technology> [25 April 2023].
- Dong, H.T., Techatanakitarnan, C., Jindakittikul, P., Thaiprayoon, A., Taengphu, S., Charoensapsri, W., Khunrae, P., Rattanarojpong, T. and Senapin, S. 2017. *Aeromonas jandaei* and *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Fish Diseases* 40: 1395-1403.
- Ekasari, J., Azhar, M.H., Surawidjaja, E.H., Nuryati, S., De Schryver, P. and Bossier, P. 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish & Shellfish Immunology* 41(2): 332-339
- Ellis, A.E. 1988. *Fish Vaccination*. New York: Academic Press.
- Haygood, A.M. and Jha, R. 2016. Strategies to modulate the intestinal microbiota of Tilapia (*Oreochromis* sp.) in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture* 10(2): 1-14
- Kim, S.K., Pang, Z., Seo, H.C., Cho, Y.R. Samocha, T. and Janget, I.K. 2014. Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *Aquaculture Research* 45(2): 362-371.
- Lee, Y., Srisapoom, P., Unajak, S., Kannika, K. and Areechon, N. 2017. Innate and Adaptive Immunity Response of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.) to Dietary Supplementation of Vitamin C and β -glucan. *In* The 55th Kasetsart University Annual Conference, 31 Jan-3 Feb 2017.
- Sado, R.Y., Gimbo, R.Y. and Salles, F.B. 2016. Routes of β -glucan administration affect hematological and immune responses of *Oreochromis niloticus*. *Archivos de Zootecnia* 65 (252): 519-524.
- Sharma, A, Behrens, S.H., Chernoff, Y.O. and Bommarius, A.S. 2018. Modulation of the formation of A β - and Sup35NM-based amyloids by complex interplay of specific and nonspecific ion effects. *The Journal of Physical Chemistry B*. 122(19): 4972-4981

- Shyne, A.P.S, Kumar, S., Kohli, M.P.S., Sundaray, J.K., Sinha, A., Pailan, G.H. and Dam, R.S. 2014. Dietary biofloc supplementation in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*: effects on immunity, antioxidant and metabolic enzyme activities. *Aquaculture Research* 48: 4512–4523
- Yang Y., Zhou R., Chen B., Zhang T., Hu, L. and Zou S. 2018. Characterization of airborne antibiotic resistance genes from typical bioaerosol emission sources in the urban environment using metagenomic approach. *Chemosphere* 213: 463–471.

Effects of Ethanolic Vinasse Extract on Growth, Gene Expression, and Biofilm Formation of AHPND-Causing *Vibrio parahaemolyticus* (Vp_{AHPND}) Strain

Damayanti, A.F.¹, Chirapongsatunkul, N.¹ and U-taynapun, K^{1*}

¹ Aquatic Animal Health Management Research Unit (AAHMRU), Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat 80110, Thailand

* Corresponding author: kittichon.u@rmutsv.ac.th, e_aquatic1@hotmail.com

Abstract

The outbreaks of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) causes devastative losses of shrimp farming and production. The causative agent of AHPND is the specific strain of *Vibrio parahaemolyticus* (Vp_{AHPND}). Our previous study demonstrated that vinasse, a byproduct of bioethanol production, and vinasse extract using ethanol as a solvent are able to inhibit the growth of Vp_{AHPND} through anti-quorum sensing (QS) or quorum quenching (QQ) activity. Therefore, this study focused on the effects of ethanolic vinasse extract at various concentrations on growth, biofilm formation and expression of virulence-related genes of Vp_{AHPND} . The growth inhibitory effect was tested at 0.20%, 0.10%, 0.05% and 0.02% of the extract compared to that of the control (without the extract). The result showed that only 0.20% showed QQ activity while the lower amounts of the extract showed no effect. The concentrations of 0.20% and 0.02% were further evaluated for its effects on biofilm formation and the gene expression by using SEM and quantitative RT-PCR, respectively. Corresponding to the bacterial growth, 0.20% arrested the biofilm formation and significantly downregulated the Photorhabdus insect-related (Pir) A toxin, Pir B toxin compared to the control ($P < 0.05$). However, the expression level of membrane-associated transcriptional factor (ToxR) was induced in 0.20% vinasse extract. Time course expression of signal generator (LuxI) and signal receptor (LuxR) in QS were also measured. The expressions of QS-related genes in the treatments of vinasse extracts were lower than that detected in the control, however, it seemed not to correlated to the result of bacterial growth. In conclusion, the inhibitory effects against Vp_{AHPND} depended on the amount or concentration of ethanolic vinasse extract. High enough concentration could play a role as quorum quencher while too low concentration exhibited no effect.

Keywords: Quorum quenching, Biofilm, Vp_{AHPND} , Vinasse

Introduction

Vibrio spp. is known as the most common bacteria causing diseases in shrimp production. Recently, outbreaks of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) has served bad impact to shrimps farming industry. The agent that involve in AHPND has been reported as *V. parahaemolyticus* that carries Photorhabdus insect-related (Pir) like toxins encoded by *pirA*- and *pirB* genes (Han *et al.*, 2015).

Previous study has reported that The PirAB^{VP} toxins are the primary virulence factor of AHPND-causing bacteria, responsible for causing massive mortality in shrimp (Choi *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2019). The virulence factors of Vp_{AHPND} include extracellular toxin (metalloprotease, extracellular capsular polysaccharide, serine proteases, type III secretion), flagella motility, and haemolysin and their expression are controlled by QS (QS) (Natrah *et al.*, 2011). Pathogenicity of *Vibrio* spp. especially Vp_{AHPND} that infect shrimp is closely related to the release of factors regulated by QS. QS is bacteria communal behaviors are regulated by specialized cell-to-cell communication systems (Liu *et al.*, 2018). This communication happens through the production, release and detection of signal molecules, also known as autoinducers. It can induce or regulate the virulence factors, for

example, gene expression and biofilm formation. The disruption of QS mechanism is known as quorum quenching (QQ).

QQ can reduce the pathogenicity of pathogenic bacteria without killing them. Theoretically, it could result in a situation in which there is less selective pressure on bacteria to develop resistance to the QQ agent than the development of antibiotic resistance after antibiotic treatment (Allen *et al.*, 2014). Alternative substances including natural products from potent herbal plants and effective microorganisms responsible for the control of pathogenic bacteria have been interesting in order to replace antibiotics (Hai, 2015).

Several strategies have been proposed as QQ agent to prevent AHPND, such as the usage of plant-derived compounds, probiotic, phages, nanoparticles, and recombinant immune-related proteins with antibacterial effects (Kumar *et al.*, 2020). Recently, exploring substance derived from byproduct has chosen, one of the is byproduct vinasse. Vinasse is waste products from ethanol production and microorganisms that have potential produce compound to display QQ in pathogen. As yeast biomass production, vinasse that produce by cultured in industry could be valuable. The utilization of vinasse extract has been used as mixture feed additive that was tested in Nile tilapia (Chirapongsatongkul *et al.*, 2019). Previous study also reported that vinasse is able to inhibit the growth of *V. parahaemolyticus* and AHPND-causing *Vp_{AHPND}* in the aspect of QQ effect (Tep-ubon *et al.*, 2020; U-taynapun, 2022). It has demonstrated that ethanolic extract of vinasse is really effective to inhibit bacterial activity and showing QQ against *V. parahemolyticus*. Therefore, the effects of the extracted substance derived from vinasse on growth inhibition, gene expression, and biofilm formation of *Vp_{AHPND}* was observed.

Materials and Methods

Vinasse extraction

The vinasse, provided by the private company in Thailand, was extracted using ethanol as the extraction solvent following U-taynapun *et al.* (2022). Firstly, 100 g of vinasse biomass was mixed with ethanol with a ratio of 1:4 (w/v), stirred by using a magnetic mixer then kept in dark overnight. The mixture was filtered through a Whatman No. 1 filter paper with the aid of a vacuum. The supernatant was separated and ethanol was removed by evaporation. The obtained crude extract was dried, weighed and kept at -20°C until used. For further study, the ethanolic vinasse extract was prepared as stock (2.0%) by dissolving in 20% (v/v) ethanol then filtered through the membrane filter pore size 0.45 µm and kept at -20°C.

Vp_{AHPND} and growth condition

Vp_{AHPND} was isolated from the AHPND-diseased shrimp from the private farm in Nakhon Si Thammarat Province, Thailand. Pure culture of *Vp_{AHPND}* was performed and kept at -80°C followed the protocol previously described by Bunserm *et al.* (2022) in a house culture collection (Aquatic Animal Health Management Research Unit, Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat Campus). The bacterial cells were cultured in tryptic soy broth (TSB, Difco) containing 1.5% (w/v) NaCl (TSB+) with 150 rpm-shaking at 37°C for 18-24 h. Then it centrifuged 8,000 x g for 10 min and resuspended in sterile 1.5% (w/v) NaCl. The bacterial concentration was adjusted to concentration of approximately 10⁷ CFU/ml (OD₆₀₀ ~ 0.5) prior to be using for further experiments.

Observation of the growth of *Vp_{AHPND}*

The growth of *Vp_{AHPND}* was measured real-time according to the methods of U-taynapun *et al.* (2022). Firstly, the stock of *Vp_{AHPND}* was sub-cultured twice onto tryptic soy agar (TSA, Difco) containing 1.5% (w/v) NaCl

(TSA+), then transferred into the freshly prepared TSB+ and adjusted to a final concentration of 2×10^6 CFU/ml. The bacterial growth was measured in TSB+ medium containing the ethanolic vinasse extract at various final concentrations (0.20%, 0.10%, 0.05%, and 0.02%). The starter of *Vp*_{AHPND} was added to the final concentration of 10^5 CFU/ml while 1.5% NaCl was added to adjust the final volume of 10 ml for each tube and used replace the extract in the control treatment. The growth curve of *Vp*_{AHPND}, was recorded at 37°C for 24 h using RTS-1C Personal Bioreactor (Biosan). This experiment was performed in triplicate.

Analysis of bacterial cell and biofilm formation by scanning electron microscopy (SEM)

The morphology of *Vp*_{AHPND} cells and biofilm formation influenced by the vinasse extracts was determined through SEM images according to the method of Guo *et al.* (2019). The bacterial cells cultured in TSB+ at 37°C for 18-24 h were adjusted to OD₆₀₀ of 0.5 and transferred into the TSB+ containing the ethanolic vinasse extract at the final concentration of 0.02% and 0.2% while 1.5% NaCl replacing the extract was used as the control. The cells were incubated at 37°C for 24 h. Afterwards, 20 µl of the inoculated cell suspension was continued to nuclear pore polycarbonate membranes, and fixed in 2.5% glutaraldehyde at 4°C for 24 h. The process for bacterial cell dehydration was conducted by increasing serial concentrations of ethanol (from 30%, 50%, 70%, 80%, up to 100%). The dried cells were affixed onto stubs and coated with 40-60 nm of gold. The images of bacterial cells were observed by SEM (Zeiss/Merlin compact) and photographed.

Analysis of gene expression

To analyze the gene expression, total RNA was extracted from *Vp*_{AHPND} cells cultured in the medium containing vinasse extract at concentrations of 0.20%, 0.02% and control (without the extract) for 48 h in personal bioreactor system (RTS, Biosan) using Presto™ Mini RNA Bacteria Kit (Geneaid) following the manufacturer's instruction. The RNA was checked for the quantity and integrity by spectrophotometer (BioDrop) for further analysis. One µg of total RNA was used for cDNA synthesis using a High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) following the manufacturing instruction in the T100™ Thermal Cycler (BioRad). The relative mRNA expression level of 3 virulence genes; PirA, Pir B and ToxR, and 2 genes involved in QS system; signal generator (LuxI) and signal receptor (LuxR), was quantitatively analyzed through a qPCR technique by using 16S rRNA as a reference gene. Each qPCR reaction mixture (total 20 µl) contained cDNA, HOT FIREPol® EvaGreen® (Solis Biodyne), primers (the details were shown in Table 1) and the final volume was adjusted with DEPC-treated water. The reactions were performed in a CFX96 Touch™ Real-Time PCR (Bio-Rad) in triplicate in a 96-well plate. Cycling conditions were as follows: 95°C for 12 min followed by 40 cycles of 15 s at 95°C, 20 s at 58-65°C (depending on the primer pairs) and 20 s at 72°C. Melting curves were also analyzed for all amplification products. The fold change of the relative expression of all virulence genes was calculated by the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method (Livak and Schmittgen, 2001).

Statistical Analysis

The statistical difference of expression levels of virulence- and QS-related genes was analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) via the SPSS Statistics software version 16.0 (SPSS Inc.). The significant differences among treatments were analyzed using a multiple comparison by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

Table 1 Primer used for quantities RT-PCR (qRT-PCR) analysis of the gene expression

Primer name	Primer sequence	Target	References
PirA-1_F143	5'-GTGGGGAGCTTACCATTCAA3'	<i>Pir A toxin</i>	Pragthong <i>et al.</i> , 2020
PirA-1_R310	5'-CACGACTAGCGCCATTGTTA3'		
PirB-11_F514	5'-TACATGGCTTGTGGTCTGGA3'	<i>Pir B toxin</i>	Pragthong <i>et al.</i> , 2020
PirB-1_R715	5'-ACCAACTACGAGCACCCATC3'		
ToxR2VPF105	5'-AGGAAGCAACGAAAGCCGTA-3'	<i>membrane-associated transcriptional factor (ToxR)</i>	Pragthong <i>et al.</i> , 2020
ToxR2VP – R314	5'-TAGCCTCGTTTTGGAACGGT-3'		
LuxI-qrt-F	5'-AATGGTGCAAACCTGGTCGAT-3'	<i>LuxI</i>	Yu <i>et al.</i> , 2020
LuxI-qrt-R	5'-CTCGCGAAATGCCTCATCCT-3'		
LuxR-qrt-F	5'-CTTTGAGCTGTGCACTGGGA-3'	<i>LuxR</i>	Yu <i>et al.</i> , 2020
LuxR-qrt-R	5'-ATGACGGTTTTCGGTGCTGAT-3'		

Results

Effect of ethanolic vinasse extract on the growth of *Vp_{AHPND}*

The inhibitory activity of various concentrations of ethanolic extract was tested *in vitro* by observation of *Vp_{AHPND}* growth. The growth curve of the bacteria was obtained by real-time detection of the OD₈₅₀ every 10 min for 24 h (Figure 1). According to the results, various concentrations of the ethanolic extract showed diverse effects on *Vp_{AHPND}* antibacterial activity. At the concentration of 0.20% ethanolic vinasse extract showed QQ activity against *Vp_{AHPND}*. The kind of growth exhibiting QQ effect, short log phase and faster stationary phase, was detected in the 0.20% ethanolic extract while 0.10% of the extract slightly decreased the growth of bacteria but not effective to inhibit the growth. The control, 0.05% and 0.02% of extract showed no inhibitory activity.

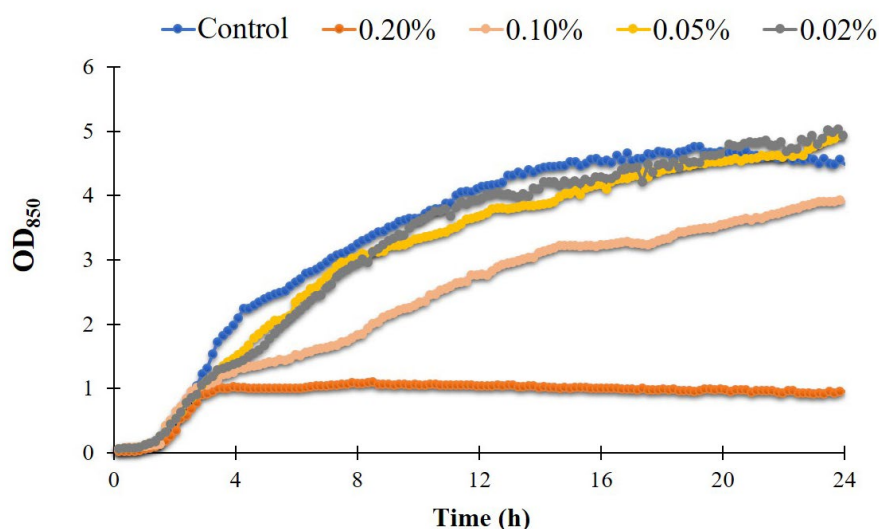


Figure 1 Growth curve of *Vp_{AHPND}* cultured in the media containing various concentrations of ethanolic vinasse extract (0.20%, 0.10%, 0.05%, and 0.02%) observed for 24 h.

Examination the biofilm formation of *Vp_{AHPND}*

Based on QQ inhibitory result, ethanolic vinasse concentration that used for biofilm formation analysis were control (0% of the extract), 0.02%, and 0.20% representing the concentration unable to inhibit and able to inhibit the growth. The morphology as well as biofilm formation of *Vp_{AHPND}* treated with the vinasse extracts was observed through SEM as present in Figure 2. The results of control and 0.02% revealed no negative effect

on bacterial cell and biofilm formation since dense biofilm was found. However, the cells in the treatment of 0.20% ethanolic vinasse were disrupted, in addition, the number of cells was visibly decreased compared with the control.

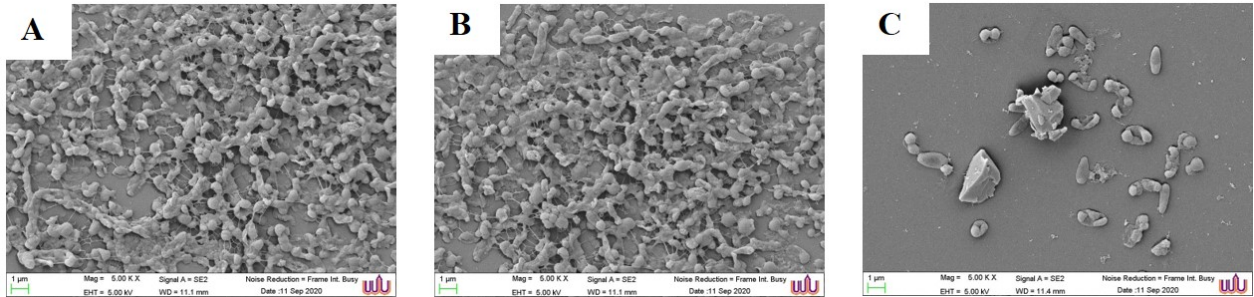


Figure 2 SEM images of *Vp_{AHPND}* treated with various concentrations of ethanolic vinasse extracts; (A) Control, (B) 0.02% and (C) 0.2% for 24 h.

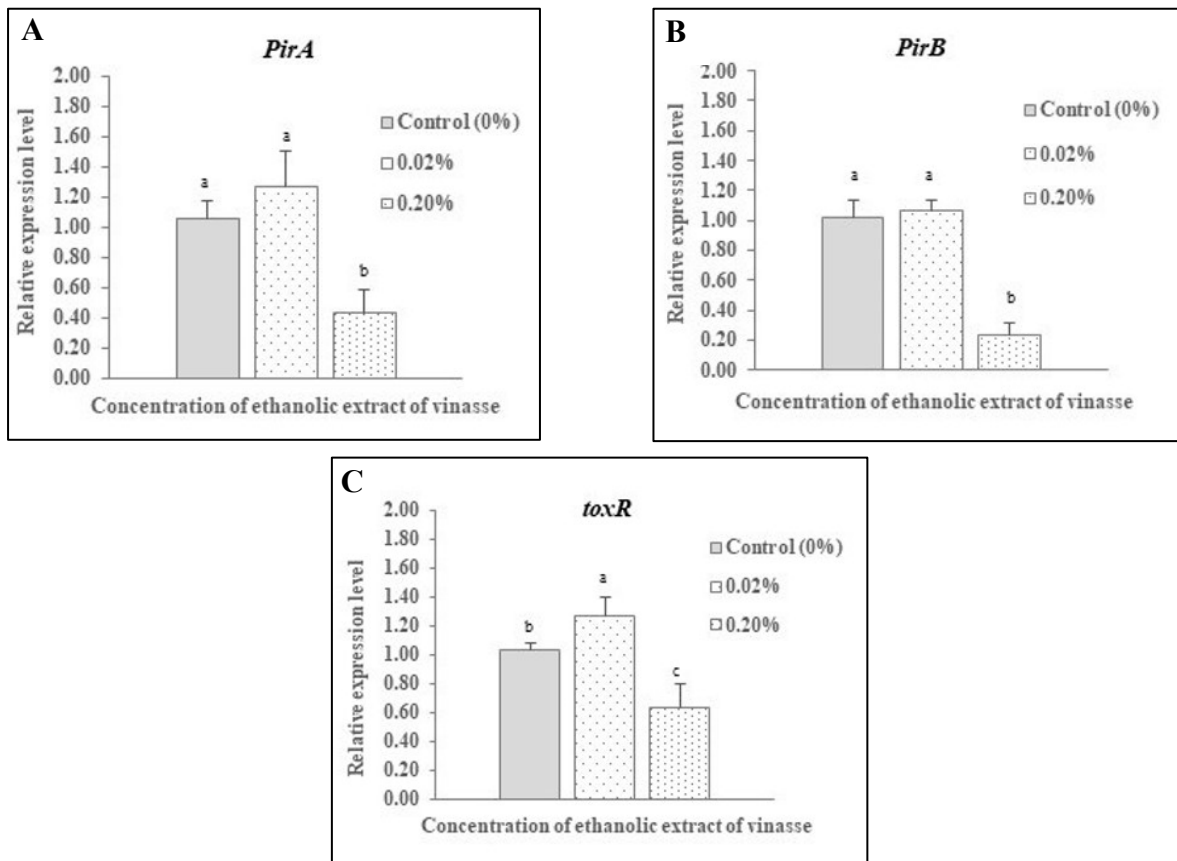


Figure 3 Expression of virulence-related genes of *Vp_{AHPND}* when cultured in medium containing ethanolic vinasse extract at concentrations of 0.20% and 0.02%. The results were expressed as the mean \pm SD. Bars and different letters stand for statistically significant differences ($P < 0.05$) between groups.

Expression of virulence- and QS-related genes of *Vp_{AHPND}*

The effect of vinasse extract on the gene expression of *Vp_{AHPND}* was revealed by qRT-PCR. The results showed that the levels of *PirA* were significantly higher ($P < 0.05$) in the bacteria treated with 0.20% extract

compared with control, meanwhile 0.02% were not different (Figure 3A). Similar pattern and statistical differences were obtained for the expression of PirB gene (Figure 3B). The expression level of ToxR was significantly induced in the bacteria grown under different concentration whereas 0.02% ethanol increased and 0.20% decreased (Figure 3C).

The expression level of genes associated with the QS was shown in Figure 4. The expressions of LuxI and LuxR that is responsible to protein catalyzes of N-acil-homoserine lactone (autoinducer) and bond to autoinducer to contribute on QS activity were measured. The expression of LuxI was increased in ethanolic vinasse and reached the highest level at 24 h. However, there was significantly differed in 0.02% treatment, compared with those observed in 0.20%. Similar with LuxI, the pattern of ethanolic vinasse showed LuxR increased the level expression at 24 h. However, treated with 0.20% extract showed the lowest expression at log phase or exponential compared with control.

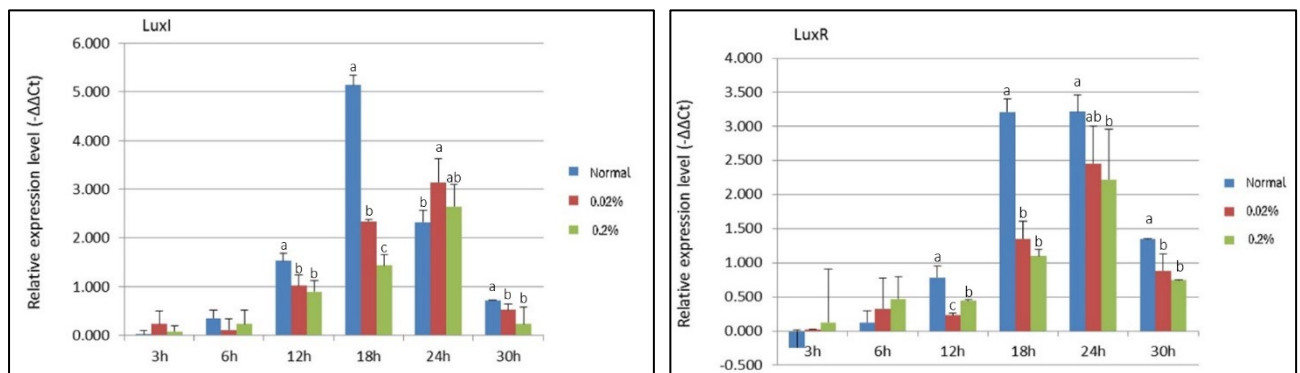


Figure 4 Expression of QS-related genes of *Vp_{AHPND}* when cultured in medium containing ethanolic vinasse extract at concentrations of 0.20% and 0.020% by time variation until 30 h.

Discussion

One of pathogen that usually being major concern for shrimp culture is particularly those belonging to the genus of *Vibrio*. The emergence of a bacterial disease called AHPND has led to a decline in shrimp production and severe economic losses is caused by *V. parahaemolyticus* strain *Vp_{AHPND}* (Hong *et al.*, 2016). Utilization of bioactive compounds as antibacterial activity against bacterial pathogen has been reported, recently. Our previous work has constructed that the crude extract product (Teb-Ubon *et al.*, 2020) and mixtures containing the vinasse and yeast extracted with organic solvent with fixed concentration, 2% (U-taynapun *et al.*, 2022) showed antibacterial activity against the Gram-negative bacteria, in the kind of QQ effect). By using organic solvent, it reported that vinasse substance under differential solvent polarity condition was showed ethanolic vinasse as the most effective solvent to inhibit *V. parahaemolyticus* growth and biofilm formation without killing them. Therefore, in this present work scenario we were focused to decrease the concentration of ethanol for long-term investment with same ability including can inhibit *Vp_{AHPND}* growth, biofilm formation and modulate the virulence-related genes by *In Vitro*, effectively.

Based on the result, ethanolic vinasse concentration 0.20% showed growth inhibition activity QQ because the log phase or exponential phase of the test *Vp_{AHPND}* cultured decrease and the stationary phase appeared earlier than the control and other treatment. At low cell density (LCD), when autoinducer concentration is low, QS promotes gene expression programs that benefit individual bacteria although at high cell density (HCD), when autoinducer concentration exceeds the threshold required for detection, it beneficial to the community (Jemielita *et al.*, 2018). Previous study has been reported that yeast extract has ability to

degraded N-acyl homoserine lactone (AHL) signaling molecules as QS signal was one of way to activated QQ (Ghani *et al.*, 2014; Wong *et al.*, 2013).

After 24 h, the bacterial number was decreased around 4.5-log in ethanolic vinasse 0.20% concentration compared to that measured in control. This finding was similar to the ethanolic vinasse extract at 2% in our previous study (U-taynapun *et al.*, 2022). These observations led us to know more whether morphological changes would be induced upon growth of *Vp_{AHPND}* grown using scanning electron microscopy by comparing specific concentration (control, 0.02%, and 0.20%).

One of the virulence factors produced by the pathogenic *Vibrio* spp. and causing the disease is biofilm formation. In addition, the morphological structures of the biofilm were obviously differed among the test concentrations. Mechanisms of QQ activity in controlling bacterial biofilm formation were: (1) inhibit AIs synthesis; (2) degrade or inactivate AIs by AHL-lactonases, oxidoreductases, antibodies, etc.; (3) interfere with the signal receptors using AI antagonists; (4) interfere with the response regulators thus disturbing signaling cascade; (5) reduce the extracellular AIs accumulation by inhibiting AIs efflux hence inhibited cell-to-cell signaling (Zhou *et al.*, 2020). The effectivity to inhibit biofilm formation was determined on this work whereas we found the most powerful anti-biofilm formation in *Vp_{AHPND}* referred to the ethanolic vinasse concentration at 0.20% measured by SEM. These circumstances were relatable with the growth inhibition of the vinasse extracts previously described.

The virulence of *Vp_{AHPND}* is conferred by the pVA1 plasmid that includes the operon encoding homologs genes *Photobacterium* insect-related (Pir) toxins that contribute at pore-forming including Pir toxin, PirA, and PirB (Lee *et al.*, 2015). Our results of gene expression of treatment at 0.20% compared with control showed downregulated of virulence-related genes including PirA, PirB, and ToxR significantly. Meanwhile, ToxR expresses level of 0.02% treatment were showed interesting case whereas the expression was upregulated. This condition was correlated with previous study about NaCl and pH comparison that reported not optimal condition can cause stress condition that prevents adaption to additional stresses that so ToxR upregulated (Whitaker *et al.*, 2010). The PirAB^{VP} and toxins are the primary virulence factors of AHPND-causing bacteria that mediates AHPND and mortality in shrimp. ToxR is the gene encoding protein that acts as the virulence regulator. Zhang *et al.* (2018) have reported that virulence factors of *V. parahaemolyticus* can be activated via direct repression of T3SS1 genes but activates *Vp*-PAI (T3SS2 and *tdh2*) genes where it binds to the multiple promoter-proximal DNA regions within the T3SS1 locus and biofilm formation also under the control ToxR,

QS in *Vibrio* spp. regulated by the production of virulence associated elements. *LuxI* and *LuxR* as autoinducer is really important on QS especially in *V. parahaemolyticus*. The utilization ethanolic vinasse extract gave an impact to *LuxI* and *LuxR* production. In signaling of *LuxI*, ethanolic vinasse demonstrated the highest expression at 24 h. Same case with ToxR, 0.02% significantly upregulated the level expression compared with control and 0.2% not significant. However, in our present work the level expression of *LuxR* actively upregulated at 24 h while ethanolic vinasse 0.20% showed significantly lower expression compared with control. *LuxI* protein is the AHL synthases as signal generator and produced signaling molecules (Dong *et al.*, 2017) while *LuxR* protein is a transcriptional regulator that binds the AHLs as a ligand or signal receptor (Ball *et al.*, 2017).

LuxI, the autoinducer synthase produced the AHL molecule that diffuses freely across the cell membrane and is accumulated with the increase of cell density. If AHLs reach a threshold concentration, they form a complexed with the *LuxR* receptor and activate the transcription of the downstream genes (*luxI* and *luxR* in this case) (Kong *et al.*, 2014). Group behaviors of biofilm formation, secretion, motility, metabolisms and cyclic di-GMP signalling (Ball *et al.*, 2017) and specific virulence genes (Ruwandeeepika *et al.*, 2010) are regulated

by *Vibrio* LuxR regulons. In summary, all the downregulated expression at 0.20% can supported QQ activity of *Vp_{AHPND}*. This data also supported production of ethanolic vinasse with lower concentration around ten times from 2% to 0.20%. It might be related to the investment of business whereas lower material will decrease the production cost.

Conclusion

In conclusion, ethanolic vinasse extract at the concentration of 0.20% can be QQ agents as the result of the present work that revealed in bacterial growth and biofilm formation of *V. parahaemolyticus* isolated from AHPND (*Vp_{AHPND}*). The substances also regulated and decreased the expression level of virulence factors, PirA, PirB, ToxR. Moreover, it could block signaling virulence genes via QS of bacteria since the QS-related genes, LuxR, and LuxI was reduced which involving in pathogenicity causing disease. Our results correlated with the strategies for the decrease of bacterial number and reduce the activity of virulence related genes. It has been proposed that the milder the bacterial control procedure the less pressure the bacterial resistance induction. Therefore, ethanolic vinasse extract at 0.20% shown here could be a good candidate for bacterial control towards environmental sustainability. However, the concern about the proper amount of substance used for inhibit the pathogenic bacteria was noticed, high enough concentration could serve the expected role of QS inhibitor or quorum quencher while too low concentration exhibited no effect.

Acknowledgements

This research was supported by National Research Council of Thailand (NRCT) and Rajamangala University of Technology Srivijaya (RUTS) through the project No. 50102. Special thank for the technical assistance in preparing specimens and SEM imaging form the Center for Scientific and Technological Equipment, Walailak University. The kindly help throughout this work from the ex- and present members of AquaBiot Lab, RUTS was also appreciated.

References

- Allen, C., Popat, R., Diggle, S.P. and Brown, S.P. 2014. Targeting virulence: can we make evolution-proof drugs? *Natural Review Microbiology* 12: 300-308.
- Ball, A.S., Chaparian, R.R. and van Kessel, J.C. 2017. Quorum-sensing gene regulation by LuxR/HapR master regulators in *Vibrios*. *Journal of Bacteriology* 199: 1-13.
- Bunserm, O., Choonut, A., U-taynapun, K. and Chirapongsatunkul, N. 2022. Antibacterial and anti-biofilm formation activities of high heat tolerant herbal extracts against white feces syndrome-associated *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Agricultural Technology* 18: 49-62.
- Chirapongsatunkul, N., Srichanun, M. and U-taynapun, K. 2019. The impact of a mixture of biofloc fermentation medium and vinasse on attractability, palatability, and antibacterial properties against multi-antibiotic resistant *Aeromonas veronii*. *International Journal of Agricultural Technology* 15: 845-858.
- Choi, M., Stevens, A.M., Smith, S.A., Taylor, D.P. and Kuhn, D.D. 2017. Strain and dose infectivity of *Vibrio parahaemolyticus*: the causative agent of early mortality syndrome in shrimp. *Aquaculture Research* 48:3719-3727.
- Dong S. H., Frane, N.D., Christensen, Q.H., Greenberg, E.P., Nagarajan, R. and Nair, S.K. 2017. Molecular basis for the substrate specificity of quorum signal synthases. *Proceeding of National Academy of Science United States of America* 114:9092-9097.

- Ghani, N.A., Sulaiman, J., Ismail, Z., Chan, X.-Y., Yin, W.-F. and Chan, K.-G., 2014. *Rhodotorula mucilaginosa*, a quorum quenching yeast exhibiting lactonase activity isolated from a tropical shoreline. *Sensors* 14: 6463-6473.
- Guo, D., Yang, Z., Zheng, X., Kang, S., Yang, Z. K., Xu, Y., Shi, C., Tian, H. and Xia, X. 2019. Thymoquinone inhibits biofilm formation and attachment-invasion in host cells of *Vibrio parahaemolyticus*. *Foodborne Pathogens and Disease* 16: 671-678.
- Hai, N.V. 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture* 446: 88-96.
- Han, J. E., Tang, K.F.J., Tran, L.H.T. and Lightner, D.V. 2015. Photorhabdus insect-related (Pir) toxin-like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp. *Diseases of Aquatic Organism* 113: 33-40.
- Hong, X., Lu, L. and Xu, D. 2016. Progress in research on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture International* 24: 577-593.
- Jemielita, M., Wingreen, N.S. and Bassler, B.N. 2018. Quorum sensing controls *Vibrio cholerae* multicellular aggregate formation. *Microbiology and Infectious Disease* 7: 1-25.
- Kong, W., Venhar, C., Liao, C., Hua, Q. and Lu, T. 2014. Programming the group behaviors of bacterial communities with synthetic cellular communication. *Bioresources and Bioprocessing* 1: 1-11.
- Kumar R., Ng T.H. and Wang H.C. 2020. Acute hepatopancreatic necrosis disease in penaeid shrimp. *Review Aquaculture* 12: 1867-1880.
- Kumar, V., Viet, D., Baruah, K. and Bossier, P. 2019. Probing the mechanism of VP AHPND extracellular proteins toxicity purified from *Vibrio parahaemolyticus* AHPND strain in germ-free *Artemia* test system. *Aquaculture* 504: 414-419.
- Lee, C.T., Chen, I.T., Yang, Y.T., Ko, T.P., Huang, Y.T., Huang, J.Y., Huang, M.F., Lin, S.J., Chen, C.Y. and Lin, S.S. 2015. The opportunistic marine pathogen *Vibrio parahaemolyticus* becomes virulent by acquiring a plasmid that expresses a deadly toxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences United State of America* 112: 10798-10803.
- Liu, J., Fu, K., Wu, C., Qin, K., Li, F. and Zhou, L. 2018. "In-group" communication in marine *Vibrio*: a review of N-acyl homoserine lactones-driven quorum sensing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8: 139.
- Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* 25:402-408.
- Natrah, F.M.I., Ruwandeepika, H.A.D., Pawar, S., Karunasagar, I., Sorgeloos, P., Bossier, P. and Defoirdt, T. 2011. Regulation of virulence factors by quorum sensing in *Vibrio harveyi*. *Veterinary Microbiology* 154: 124-129.
- Pragthong, P., Chirapongsatunkul, N. and U-taynapun, K. 2020. Temperature-dependent expression of virulence genes in *Vibrio parahaemolyticus* AHPND strain (*Vp_{AHPND}*). *International Journal of Agricultural Technology* 16: 1185-1198.
- Ruwandeepika, H.A.D., Defoirdt, T., Bhowmick, P.P., Karunasagar, I., Karunasagar, I., and Bossier, P. 2010. *In vitro* and *In vivo* expression of virulence genes in *Vibrio* isolates belonging to the Harveyi clade in relation to their virulence towards gnotobiotic brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Environmental Microbiology* 13: 506-517.
- Tep-Ubon, C., U-taynapun, K. and Chirapongsatunkul, N. 2020. Effect of *Bacillus* sp. AAHMRU15 antagonist in combination with yeast extract product (Beta-Sac Plus®) on the inhibition of AHPND-causing *Vibrio parahaemolyticus* (*Vp_{AHPND}*). *International Journal of Agricultural Technology* 16: 493-504.
- U-taynapun, K., Ratchapol, B. and Chirapongsatunkul. 2022. Antibacterial, quorum quenching and anti-biofilm formation activities of vinasse extracts against *Vibrio parahaemolyticus*. The 10th ICIST 2022, Thailand, 24-26 November 2022, pp 19.

- Whitaker W, B., Parent, M. A., Naughton, LM., Richards, G.P., Bluemerman, S.L., Boyd, E.F. 2010. Modulation of responses of *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 to pH and temperature stresses by growth at different salt concentrations. *Applied and Environmental Microbiology* 76:4720–4729.
- Wong, C.S., Koh, C.L., Sam, C.K., Chen, J.W., Chong, Y.M., Yin, W.F. and Chan, K.G. 2013. Degradation of bacterial quorum sensing signaling molecules by the microscopic yeast *Trichosporon loubieri* isolated from tropical wetland waters. *Sensors* 13: 12943-12957.
- Yu, Z., Hu, Z., Xu, Q., Zhang, M., Yuan, N., Liu, Q. and Yin, J. 2020. The LuxI/LuxR-type quorum sensing system regulates degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons via two mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 5548.
- Zhang, Y., Hu, L., Osei-Adjei, G., Zhang, Y., Yang, W., Yin, Z., Lu, R., Sheng, X., Yang, R., Huang, X., and Zhou, D. 2018. Autoregulation of ToxR and its regulatory actions on major virulence gene loci in *Vibrio parahaemolyticus*. *Frontiers Cellular and Infection Microbiology* 8: 291.
- Zhou, L., Zhang, Y., Ge, Y., Zhu, X., and Phan, J. 2020. Regulatory mechanisms and promising applications of quorum sensing-inhibiting agents in control of bacterial biofilm formation. *Frontiers in Microbiology* 11: 589640.

Screening and Characterization of Photosynthetic Bacteria (PSB) for Hydrogen Sulfide Removal

Chirapongsatongkul, N.^{1*}, U-taynapun, K.¹, Damayanti, A.F.¹, and Ratchapol, B.¹

¹Aquatic Animal Health Management Research Unit (AAHMRU), Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat 80110, Thailand

*Corresponding author: nion.c@rmutsv.ac.th, nim_nion@hotmail.com

Abstract

Hydrogen sulfide (H₂S) is considered as a toxic substance produced under anaerobic conditions in aquaculture systems. Its accumulation can cause negative effects on aquatic organisms. This research focused on the screening and characterization of photosynthetic bacteria (PSB) that is capable to remove hydrogen sulfide in the laboratory experiment. Five isolates of PSB; G1-O, G1-OBRI, GNew3-BO, RG-YB, and RS13-Y, collected from sludges and sediments of shrimp pond, waste canal and public canal in shrimp culture areas in Nakhon Si Thammarat province were tested for its ability of hydrogen sulfide removal. Colony morphology on an agar plate and Gram stain was examined. The test bacteria were grown photoautotrophically in a modified Ormerod medium containing sulfide equivalent to 13 mg/L and determined for the amount of sulfide, sulfite and sulfate. The results showed that only 2 isolates, GNew3-BO and RS13-Y, could reduce sulfide while increased sulfite and sulfate were detected in the media during their growth. Moreover, the existence of sulfur functional genes (*sqr*, *pdo*, *sor*, and *sox*) was investigated. Comparable to the hydrogen sulfide removal activity, these genes were detected in GNew3-BO and RS13-Y with a pattern profile of *sqr*⁺/*pdo*⁺/*sor*⁺/*sox*⁺ and *sqr*⁺/*pdo*⁺/*sor*⁺/*sox*⁻, respectively. Our findings provide a viable organism for environmentally friendly removal of hydrogen sulfide that can be applied to reduce pollutant accumulation in aquaculture system.

Keywords: hydrogen sulfide, photosynthetic bacteria (PSB), aquaculture, waste treatment

Introduction

Aquaculture effluents have been known to produce numerous amounts of waste materials containing high organic materials, nutrients, ammonia, nitrite, and other contaminants (Ghaly *et al.*, 2005). The produced waste matters lead to the deterioration of water quality and emerging diseases. The pollutants, for example ammonia (NH₃), nitrite (NO₂⁻), and hydrogen sulfide (H₂S), are considerably noticed to cause negative effects on aquatic organisms and environment. Hydrogen sulfide produced under anaerobic conditions in aquaculture systems with a specific odor of “rotten eggs” (Thulasi *et al.*, 2020). Its accumulation at elevated levels can affect not only the survival but also negatively impacts the physiological and immunological activities of aquatic organisms. There have been reported that hydrogen sulfide binds reversibly to cytochrome c oxidase (COX) in mitochondrial electron transport chain, resulting in the inhibition of oxidative phosphorylation and ATP production (Bagarinao, and Vetter, 1989; Cochrane *et al.*, 2019). The levels the animals tolerant are varied depending on species and exposure condition, however, toxicity of hydrogen sulfide has been rarely reported in aquaculture-reared species (Letelier-Gordo *et al.*, 2020). Smith and Oseid (1974) have reported LC₅₀ values of hydrogen sulfide in some fishes, for example, at 0.013 mg/L in 48 h for walleye (*Sander vitreus*), 0.025 mg/L at 72 h for goldfish (*Carassius auratus*), 0.030 mg/L at 72 h for bluegill (*Lepomis macrochirus*), 0.026 mg/L in 96 h for northern pike (*Esox Lucius*), and 0.031 mg/L in 96 h for brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Some researchers have reported that the level of hydrogen sulfide should be lower than 0.03 mg/L for shrimp culture while the higher level may lead to more pathogen susceptibility in shrimp (Andrew, 2007; Hsu and Chen, 2007). It is noted that around 10% of crop loss in shrimp culture is associated with sulfide production, and 4-million metric tons

of shrimp may have been lost as a result of sulfide outgassing (Thulasi *et al.*, 2020). Despite the lethal effect of sulfide is 100-time higher than that of nitrogenous compounds, it is not practically measured in aquaculture farms due to the difficulty and measure cost. In addition, the symptom caused by sulfide exposure is quite similar to that of hypoxia (Thulasi *et al.*, 2020).

Photosynthetic bacteria (PSB) are a diverse group of microorganisms that are capable of converting light energy into chemical energy through the process of photosynthesis. PSB generate chemical compounds by using light as energy driver and use various substrates; organic matters, nitrite, ammonia and sulfide (S^{2-} or $S_2O_3^-$) to metabolize via multiple pathways (Lu *et al.*, 2011). In addition, they release oxygen as a byproduct (Chen *et al.*, 2020). Based on its unique characteristics and potentials, PSB have been explored as a promising solution for waste treatment in several systems including aquaculture. Recently, several groups of PSB including anoxygenic purple phototrophic bacteria (PPB) and anoxygenic green sulfur bacteria (GSB) have been gained more attention for their ability to remove sulfide from wastewater and environment mainly to reduce the pollutant and odor control purposes (Egger *et al.*, 2020). These bacteria have been focused as a good candidate for biologically sulfide removal because of fewer resource requirement and the growth conditions of photoautotroph or chemolithotroph using sulfide as electron donor to reduce inorganic carbon for growth (Syed *et al.*, 2006).

This study aimed to screen and characterize the PSB from sludges and sediments of shrimp pond, waste canal and public canal in shrimp culture areas that exhibited the efficiency to reduce hydrogen sulfide in the synthetic medium. The existence of functional genes involved in sulfur oxidizing process was examined in these bacteria in order to discover the feasible connection between the gene encoding enzymes and products in sulfur oxidation pathway. The target genes included genes encoding sulfide:quinone oxidoreductase (*sqr*), persulfate dioxygenase (*pdo*), sulfur oxygenase reductase (*sor*), and sulfur oxidizing enzyme (*sox*).

Materials and Methods

Isolation of PSB

For isolation of the PSB feasible to remove hydrogen sulfide, sludge and sediment with malodor of rotten eggs were collected from 5 different collection habitats of shrimp reservoir, shrimp pond, waste canal in shrimp farm, sediment waste pond, and public canal in shrimp culture areas located in Nakhon Si Thammarat province, Thailand. Samples were isolated by dilution plate method onto Starkey medium and thiosulfate medium containing 1.5% NaCl followed the method of Vidyalakshmi and Sridar (2006) and Hidayat *et al.* (2017). After incubation at 37°C for 7 days, a single colony was transferred onto modified tryptic soy agar (TSA) with 1.5% NaCl or TSA⁺ and incubated for 7 days to get pure culture. All pure isolates were subsequently prepared for storage at -80°C as a bacterial collection stock in Aquatic Animal Health Management Research Unit (AAHMRU). Five isolates of PSB, 1 isolate from each collection habitat named, G1-O, G1-OBRI, GNew3-BO, RG-YB, and RS13-Y, were randomly selected from the stock for further study.

Observation of bacterial colony and cell morphology

The pure colony of bacteria grown on TSA⁺ after incubation at 37°C for 7 days was carried out for colony morphology by observation of the colony shape. Each pure isolate was Gram-staining followed by microscopic observation. Gram stain and cell shape were then recorded.

Screening of hydrogen sulfide removal and sulfur compounds detection

To determine the efficiency of the test bacteria on hydrogen sulfide removal, the *in vitro* test was performed following a modification of Egger *et al.* (2020) and Xin *et al.* (2020). A single colony of each PSB isolate was cultured in tryptic soy broth (TSB) with 1.5% NaCl (TSB⁺) and incubated at room temperature with shaking (200 rpm) for 7 days. The cells were collected by centrifugation (8,000 x g) for 5 min, resuspended in sterile saline solution, and then adjusted to an OD₆₀₀ of approximately 1.0. A modified Ormerod medium

(Ormerod *et al.*, 1961) with $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (equivalent to 13 mg-S/L) was prepared. To avoid the interference with sulfate measurement, all sulfate salts were replaced with chloride salts. The medium was collected for sulfide, sulfite and sulfate measurement as the sample at 0 day. Afterward, the medium was transferred to the 1-L Duran bottle. Fifty mL of the suspension was added into the bottle containing 750 mL of the modified Ormerod medium. All bacteria were cultured under 16/8-h light/dark cycle. The test was performed in triplicate.

The suspension sample was taken at 1, 3, 5, and 7 days for sulfur compound detection. The suspension was centrifuged at 10,000 x g for 5 min, then the supernatant was collected for detection. Sulfide, sulfite and sulfate were detected using kits and MD 600 multi-parameter photometer (Lovibond) according to manufacturer instructions for M365, M368 and M355, respectively. The detection limits of sulfide, sulfite and sulfate are 0.04-0.5 mg/L S^{2-} , 0.1-12 mg/L SO_3 and 5-100 mg/L SO_4^{2-} , respectively. The sample was diluted 100 times with deionized water prior to use for sulfide measurement.

DNA extraction and determination of sulfur functional genes

Five PSB isolates were analysed for the genes involved in sulfide removal. DNA were isolated and purified from 5-ml of bacterial culture by using Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit (Geneaid). The extraction procedure was carried out following the manufacturer's instructions with slight modification. The extracted DNA was measured spectrophotometrically using a BioDrop DUO UV/Vis spectrophotometer (BioDrop). The quality and quantity were determined through calculating the ratio of absorbance at 260 nm and at 230 nm (260/230) for guanidine contaminant. The ratio of absorbance at 260 nm and at 280 nm (260/280) was measured to detect the contaminated protein in the extracted DNA. The ratio in a range of 1.8–2.0 is accepted as good DNA quality. The obtained DNA were stored at -80°C until use.

The DNA of 5 PSB candidates was determined for the existence of the genes involved in the sulfide oxidizing process (*sqr*, *pdo*, *sor*, and *sox*) through a qPCR technique according to Chen *et al.* (2023) with slight modification. The specific primers used for qPCR analysis are shown in Table 1. Each qPCR reaction mixture (total 20 μl) contained the extracted DNA (fixed at 500 ng for each reaction), HOT FIREPol® EvaGreen® (Solis Biodyne), primers and the desired final volume was adjusted with DEPC-treated water. The reactions were performed in a CFX96 Touch™ Real-Time PCR (Bio-Rad) in triplicate. Cycling conditions were as follows: 95°C for 12 min followed by 45 cycles of 15 s at 95°C, 20 s at 50-55°C (depending on the primer pairs) and 20 s at 72°C. Negative control using DEPC-treated water replacing DNA template must be conducted for every detection. The Ct value of < 40 was interpreted as the positive result that referred to the existence of the target genes while the Ct of the negative control must be > 40.

Table 1 Primers used in this study.

Gene	Primer	Sequence (5'– 3')	Annealing temperature (°C)	Product size (bp)	References
<i>sqr</i>	<i>sqr</i> 145F	TGGACCCTGGTGGGCGSSGG	52	360	Pham <i>et al.</i> (2008)
	<i>Sqr</i> 490R	TTCWKCGGCGCGCCSSCGCA			
<i>pdo</i>	<i>pdo</i> 1F	CGACTTTACCGTCTCTATGT	50	155	Xin <i>et al.</i> (2020)
	<i>pdo</i> 1R	CACCTCAAGCCCGTTCTCC			
<i>sor</i>	<i>sor</i> C1F	GTIGGICCNAAARGTNTGY	50	230	Chen <i>et al.</i> (2007)
	<i>sor</i> H1R	RTGCATNTCYTCRTGRTC			
<i>sox</i>	<i>sox</i> B432F	GAYGGNGGNGAYACNTGG	55	239	Petri <i>et al.</i> (2001)
	<i>sox</i> B1446B	CATGTCNCCNCCRTGYTG			

Statistical analysis

The statistical difference of sulfur compound content was analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) via the SPSS Statistics software version 16.0 (SPSS Inc.). The significant differences among treatments were analyzed using a multiple comparison by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

Results

Isolation and characterization of the test PSB

The colony and cell morphological characterization of 5 PSB isolates is present in Table 2. Figure 1 and Figure 2 showed the colony grown on TSA⁺ for 7 days and Gram stain result of each isolate. Diverse colony morphologies were observed, in addition, all test PSB also showed different colors. These 5 PSB isolates were Gram-negative with 2 types of cell shape, coccus for G1-O and G1-OBRI and bacilli or rod shape for GNew3-BO, RG-YB and RS13-Y.

Table 2 Colony and cell morphology of 5 isolated PSB.

PSB isolate	Bacterial colony and cell morphology				
	Collection habitat	Colony morphology	Colony color	Gram	Cell shape
G1-O	Shrimp reservoir	Circular, flat	Light orange	Negative	Coccus
G1-OBRI	Shrimp pond	Circular, raised	Bright orange	Negative	Coccus
GNew3-BO	Waste canal in shrimp farm	Circular, flat	Orange	Negative	Bacilli/Rod
RG-YB	Sediment waste pond	Circular, raised	Yellow	Negative	Bacilli/Rod
RS13-Y	Pubic canal in shrimp culture area	Circular, flat	Yellow	Negative	Bacilli/Rod

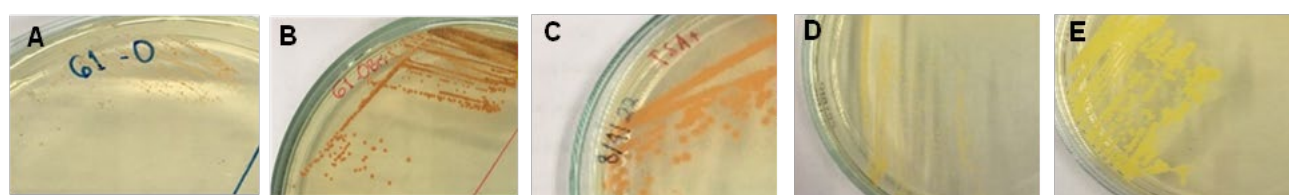


Figure 1 Colony characters of 5 PSB isolates on TSA plus 1.5% NaCl (TSA⁺) for 7 days; (A) G1-O, (B) G1-OBRI, (C) GNew3-BO, (D) RG-YB, and (E) RS13-Y.

Removal of sulfide and the concentration of sulfur compounds in PSB culture

The ability of the test PSB to remove hydrogen sulfide was determined by detection of the level of sulfur compounds associated in sulfur oxidation pathway including sulfide, sulfite and sulfate in the culture of PSB. Only 2 isolates, GNew3-BO and RS13-Y, could oxidize sulfide to sulfite and sulfate because the reduction of sulfide occurred simultaneously with the increase of sulfite and sulfate was observed during the experimental period (Figure 3). Sulfide levels were significantly decreased ($P < 0.05$) 1 day after inoculation of GNew3-BO and RS13-Y compared to that of the control. The concentration of sulfide was continually declined. Among the 2 PSB isolates exhibiting sulfide oxidizing activity, the significantly lower level of sulfide was detected in GNew3-BO ($P < 0.05$) (Figure 3A). Comparable results were obtained for sulfite and sulfate produced in GNew3-BO and

RS13-Y as shown in Figure 3B and 3C, respectively. Sulfite was statistically higher in RS13-Y. Conversely, the highest level of sulfate was detected in the culture of GNew3-BO.

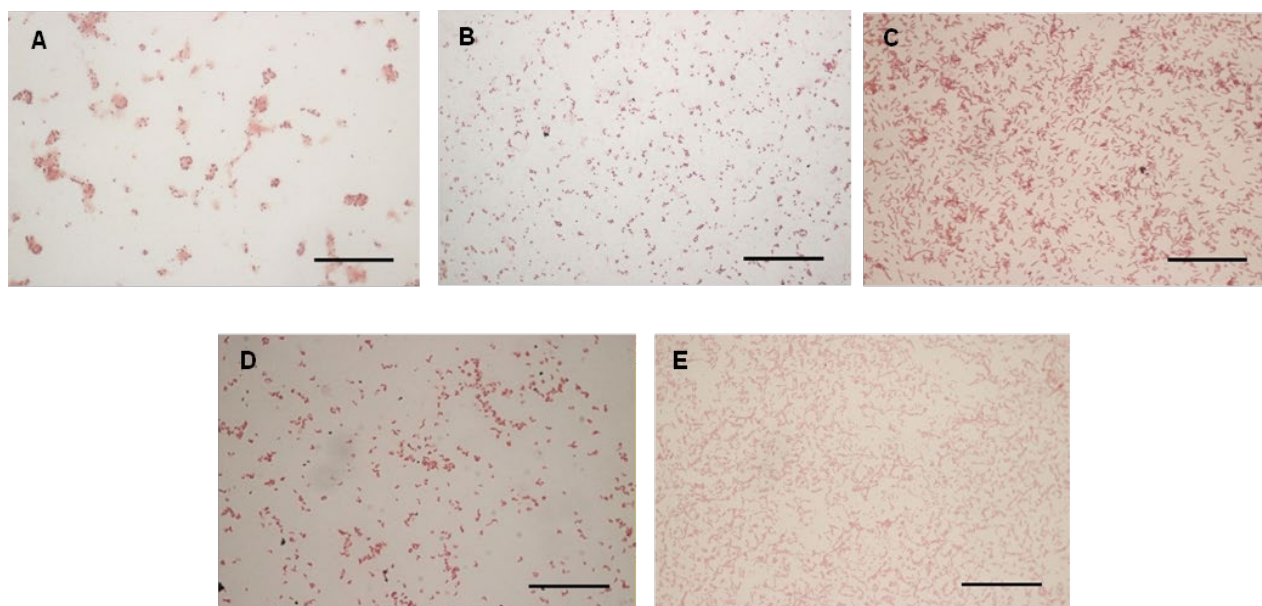


Figure 2 Gram staining result of 5 PSB isolates grown on TSA plus 1.5% (TSA⁺) for 7 days; (A) G1-O, (B) G1-OBRI, (C) GNew3-BO, (D) RG-YB, and (E) RS13-Y. Scale bar = 100 μ m.

The existence of sulfur functional genes in the test PSB

The appearance of genes encoding sulfur oxidation-related enzymes were studied in this work. Four target genes are distributed in different parts of sulfur oxidizing pathway. The qPCR results showed that the sulfur oxidizing genes were positively detected in GNew3-BO and RS13-Y while there was no examined gene in other 3 isolates (G1-O, G1-OBRI and RG-YB). However, the pattern of gene existence in 2 PSB isolates was different (Table 3). All 4 target genes were present in GNew3-BO while *sox* gene was not detected in RS13-Y. This result suggested the pattern profiles of the sulfur functional genes were *sqr*⁺/*pdo*⁺/*sor*⁺/*sox*⁺ and *sqr*⁺/*pdo*⁺/*sor*⁺/*sox*⁻, for GNew3-BO and RS13-Y, respectively.

Table 3 Distribution of gene putatively involved in oxidative sulfur metabolism.

PSB isolate	Functional genes involved in sulfur-oxidizing process*			
	<i>Sqr</i>	<i>pdo</i>	<i>sor</i>	<i>Sox</i>
G1-O	-	-	-	-
G1-OBRI	-	-	-	-
GNew3-BO	+	+	+	+
RG-YB	-	-	-	-
RS13-Y	+	+	+	-

* + indicates the presence of a gene (Ct value < 40); - indicates the absence of a gene (Ct value > 40).

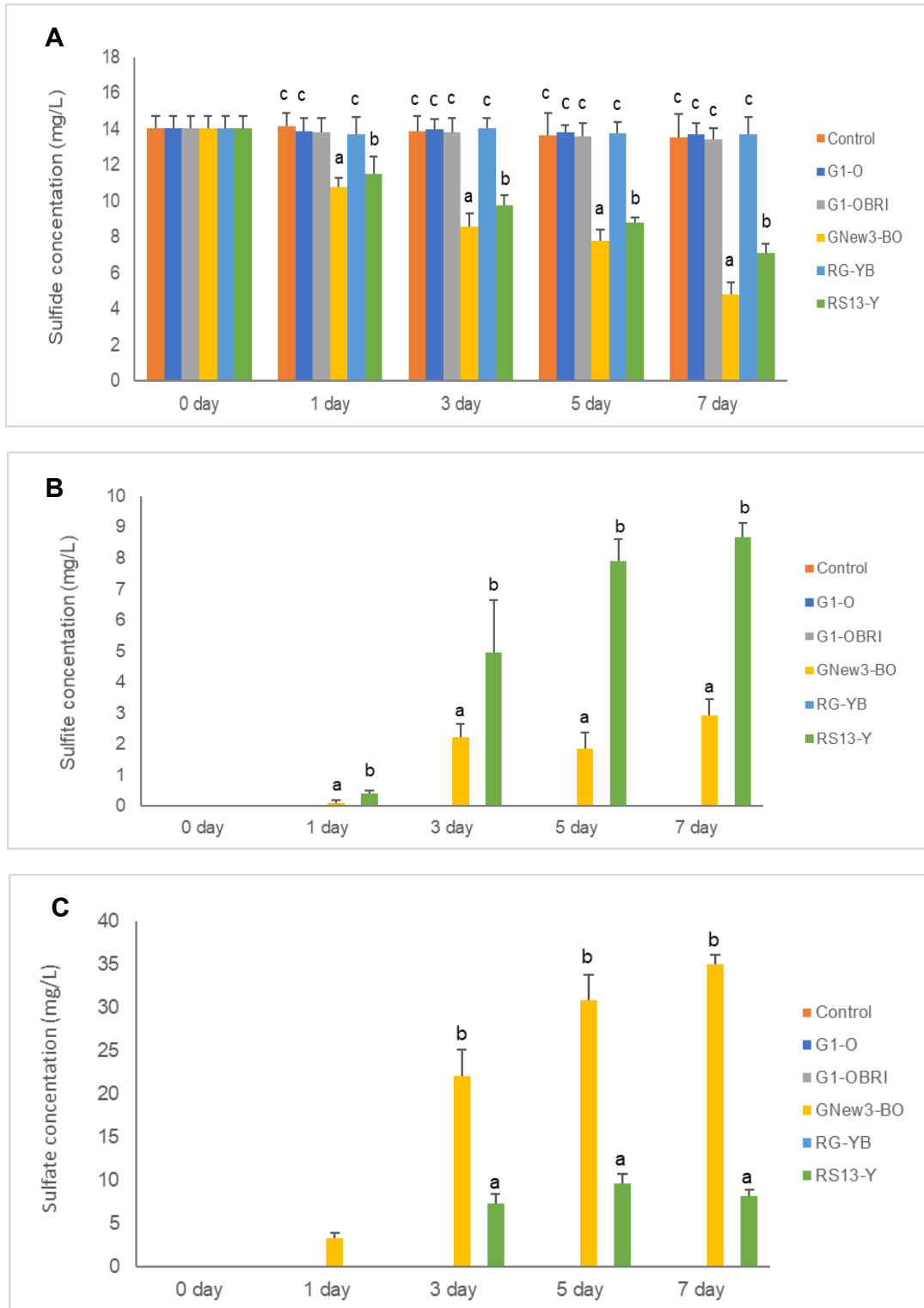


Figure 3 Sulfur compounds in culture media of 5 PSB isolates (G1-O, G1-OBRI, GNew3-BO, RG-YB, and RS13-Y); **(A)** Sulfide (S^{2-}), **(B)** Sulfite (SO_3), and **(C)** Sulfate (SO_4^{2-}). The results were expressed as the mean \pm SD. Bars and different letters stand for statistically significant differences ($P < 0.05$) between groups.

Discussion

In this present work, 5 isolates of PSB were screened to remove hydrogen sulfide. This substance is preferable removed because of its toxic and undesirable odor. The high level of sulfide has been demonstrated for its deleterious impacts on aquatic animals, for example, it interferes aerobic respiration, causes many

cytotoxic effects, disturbs the normal function of ATPase, and reacts with hemoglobin to form hematin which leads to respiratory pigment dysfunction (Vetter *et al.*, 1987; Vismann and Hagerman, 2008; Thulasi *et al.*, 2020). Biological means mainly of functional microorganisms have been more attractive for solving the sulfide in various circumstances because of their lower operation requirement and flexibility (Lin *et al.*, 2018). Sulfur-oxidizing bacteria (SOB) and sulfur-reducing bacteria (SRB) are 2 major groups of microorganisms involved in biological sulfur cycle. SOB used inorganic reduced sulfur species including sulfides (S^{2-} , HS^- , H_2S), polysulfides ($S-S_n-S$), elemental sulfur (S^0), sulfite (SO_3^{2-}) and thiosulfate ($S_2O_3^{2-}$) as energy sources obtained from sulfur oxidation process. SRB on the other hand uses oxidized sulfur compounds (SO_4^{2-} , SO_3^{2-} and S^0) as electron acceptors and produces sulfide while oxidizing organics for energy generation and cell growth (Muyzer and Stams, 2008; Hao *et al.*, 2014). Due to the products gained during the sulfur metabolisms, SOB seems to be more useful in aquaculture circumstance, particularly for the treatment of effluent wastes. Phototrophic SOB, for instance green sulfur bacteria (GSB) and purple phototrophic bacteria (PPB) have been discovered for versatile application in hydrogen sulfide removal process (Lin *et al.*, 2018; Egger *et al.*, 2020).

Our results showed that there were 2 isolates, GNew3-BO and RS13-Y, that were capable of reducing the amount of sulfide in laboratory scale. These PSB were obtained from malodor sludge and sediment samples from waste canal in shrimp farm and public canal in shrimp culture area. Based on the photoautotrophic condition of growth and the procedure for sulfide removal experiment which let some oxygen in bacteria culture condition, our interesting PSB might be favorable categorized in the group of SOB. Another evidence that supported the assumption was the dynamic change of sulfur compounds in this work. Sulfide in the form of Na_2S (in the modified Omerod medium) was transformed into sulfite and sulfate via oxidative process. Moreover, the functional genes encoding enzymes contributing in sulfur oxidizing pathway were found in the PSB isolate GNew3-BO and RS13-Y. Many researchers have described the functions of enzymes and putative genes in sulfur oxidizing pathway. The gene *sqr* encodes enzyme sulfide: quinone oxidoreductase which is the first enzyme action in the first step of oxidation process converting sulfide to elemental sulfur. Afterwards, the products obtained from the first step would be further oxidized to sulfite by persulfate dioxygenase enzyme encoded by *pdo* gene. Both sulfur oxygenase reductase and sulfur oxidizing enzymes encoded by *sor* and *sox*, respectively, are involved in the conversion of oxidizing sulfite to sulfate (Li *et al.*, 2019; Xin *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2023). The sulfur compounds detected in this work were consistent with the existence of the genes of enzymatic proteins contributing in sulfur oxidizing process described above. The level of sulfate in GNew3-BO culture was highest and significantly higher than that present in RS13-Y ($P < 0.05$). In contrast, the sulfite was greater in the PSB isolate RS13-Y. This may be due to the fact that GNew3-BO had all 4 functional genes mentioned above which gradually convert sulfite to sulfate by the action of enzymes encoded by *sor* and *sox* while RS13-Y lacked *sox*. The correlation between the expression of the functional genes responsive to the conversion of the sulfur compounds have been demonstrated (Xin *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2023). However, our present work determined the existence of the gene but not the gene expression, further work in the gene expression analysis in couple with measurement of the produced sulfur compounds is necessary to get more insight.

There has been reported that the habitats of SOB are diverse. This bacteria group can be found and isolated from mud oil, canal water, palm oil wastewater plant, solid waste landfills, sulfide polluted water (Vidyalakshmi and Sridar, 2006; Pudi *et al.*, 2022). Overmann (2008) has suggested that natural habitats for phototrophic SOB are usually aquatic environments because of the available reduced sulfur and penetrated light in the anoxic layers. Therefore, the matters collected from the accumulated sludge or effluent from aquaculture environments could be the good candidate for isolation and screening of phototrophic SOB which is one of a huge community of PSB. Moreover, the findings obtained in this work suggesting that detection of the appearance of functional genes of sulfur oxidizing process can be used as a biological marker for screening of the SOB.

Conclusions

In conclusion, 2 isolates of PSB, GNew3-BO and RS13-Y, were able to reduce sulfide and converted to sulfite and sulfate. These bacteria would be a good candidate for hydrogen sulfide removal since its growth condition was not complicated and no special elements required. However, identification and classification to gain more detail about these bacteria would be carried out. The mixed PSB should also be tested for the efficiency and feasibility of application in water treatment. In addition, evaluation of the bacterial biodiversity in the habitat and the influences that functional bacteria have on microbial community are crucial issue for sustainability approach.

Acknowledgements

This research was related to the project entitled “Learning Center: Communal Microbial Bank for Environment Friendly Aquaculture” supported by National Research Council of Thailand (NRCT) through the project No. 173184. Special thanks to the ex- and present members of AquaBiot Lab, RUTS for the kindly help.

References

- Andrew, L. 2007. Grow out pond and water quality management. Good aquaculture practices program. College Park, MD: University of Maryland.
- Bagarinao, T. and Vetter, R.D. 1989. Sulphide tolerance and detoxification in shallow-water marine fishes. *Marine Biology* 103: 291-302.
- Chen, J., Wei, J., Ma, C., Yang, Z., Li, Z., Yang, X., Wang, M., Zhang, H., Hu, J. and Zhang, C. 2020. Photosynthetic bacteria-based technology is a potential alternative to meet sustainable wastewater treatment requirement? *Environment International* 137: 105417.
- Chen, L., Li, W., Zhao, Y., Zhang, S. and Meng, L. 2023. Mechanism of sulfur-oxidizing inoculants and nitrate on regulating sulfur functional genes and bacterial community at the thermophilic compost stage. *Journal of Environmental Management* 15: 326 (Part A).
- Chen, Z.W., Liu, Y.Y., Wu, J.F., She, Q., Jiang, C.Y. and Liu, S.J. 2007. Novel bacterial sulfur oxygenase reductases from bioreactors treating gold-bearing concentrates. *Applied Microbiology and Biotechnology* 74: 688-698.
- Cochrane, P.V., Rossi, G.S., Tunnah, L., Jonz, M.G. and Wright, P.A. 2019. Hydrogen sulphide toxicity and the importance of amphibious behaviour in a mangrove fish inhabiting sulphide-rich habitats. *Journal of Comparative Physiology B* 189: 223-235.
- Egger, F., Hülsen, T., Tait, S. and Batstone, D.J. 2020. Autotrophic sulfide removal by mixed culture purple phototrophic bacteria. *Water Research* 182: 115896.
- Ghaly, A.E., Kamal, M. and Mahmoud, N.S. 2005. Phytoremediation of aquaculture wastewater for water recycling and production of fish feed. *Environment International* 31: 1-13.
- Hao, T., Xiang, P., Mackey, H.R., Chi, K., Lu, H., Chui, H., van Loosdrecht, M.C.M. and Chen, G. 2014. A review of biological sulfate conversions in wastewater treatment. *Water Research* 65, 1-21.
- Hidayat, M.Y., Saud, H.M. and Samsudin, A.A. 2017. Isolation and characterisation of sulphur oxidizing bacteria isolated from hot spring in Malaysia for biological deodorisation of hydrogen sulphide in chicken manure. *Media Peternakan* 40: 178-187.
- Hsu, S.W. and Chen, J.C. 2007. The immune response of white shrimp *Penaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under sulfide stress. *Aquaculture* 271: 61-69.
- Letelier-Gordo, C.O., Aalto, S.L., Suurnäkki, S. and Pedersen, P.B. 2020. Increased sulfate availability in saline water promotes hydrogen sulfide production in fish organic waste. *Aquacultural Engineering* 89: 102062.

- Li, X., Sun, Y., Wang, X., Dong, X., Zhang, T., Yang, Y. and Chen, S. 2019. Relationship between key environmental factors and profiling of volatile compounds during cucumber fruit development under protected cultivation. *Food Chemistry* 290: 308-315.
- Lin, S., Mackey, H.R., Hao, T., Guo, G., van Loosdrecht, M.C.M. and Chen, G. 2018. Biological sulfur oxidation in wastewater treatment: A review of emerging opportunities. *Water Research* 143: 399-415.
- Lu, H., Zhang, G., Wan, T. and Lu, Y. 2011. Influences of light and oxygen conditions on photosynthetic bacteria macromolecule degradation: different metabolic pathways. *Bioresource Technology* 102: 9503-9508.
- Muyzer, G. and Stams, A. 2008. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology* 6: 441-454.
- Ormerod, J.G., Ormerod, K.S. and Gest, H. 1961. Light-dependent utilization of organic compounds and photoproduction of molecular hydrogen by photosynthetic bacteria; relationships with nitrogen metabolism. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 94: 449-463.
- Overmann, J. 2008. Ecology of Phototrophic Sulfur Bacteria. In: Hell, R., Dahl, C., Knaff, D., Leustek, T. (eds) *Sulfur Metabolism in Phototrophic Organisms. Advances in Photosynthesis and Respiration*. 27. Springer, Dordrecht.
- Petri, P., Podgorsek, L. and Imhoff, J.F. 2001. Phylogeny and distribution of the *soxB* gene among thiosulfate-oxidizing bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 197: 171-178.
- Pham, V.H., Yong, J.J., Park, S.J., Yoon, D.N., Chung, W.H. and Rhee S.K. 2008. Molecular analysis of the diversity of the sulfide: quinone reductase (*sqr*) gene in sediment environments. *Microbiology* 154: 3112-3121.
- Pudi, A., Rezaei, M., Signorini, V., Anderson, M.P., Baschetti, M.G. and Mansouri, S.S. 2022. Hydrogen sulfide capture and removal technologies: A comprehensive review of recent developments and emerging trends. *Separation and Purification Technology* 298: 121448.
- Smith, L.L. and Oseid, D.M. 1974. Effect of hydrogen sulfide on development and survival of eight freshwater fish species. *The Early Life History of Fish*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 417-430.
- Syed, M., Soreanu, G., Falletta, P. and Beland, M. 2006. Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes- a review. *Canadian Biosystems Engineering* 48: 2.1-2.14.
- Thulasi, D., Muralidhar, M. and Saraswathy, R. 2020. Effect of sulphide in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* under varying oxygen and pH levels. *Aquaculture Research* 51: 2389-2399.
- Vetter, R.D., Wells, M.E., Kurtsman, A.L. and Somero, G.N. 1987. Sulfide detoxification by the hydrothermal vent crab *Bythograea thermydron* and other decapod crustaceans. *Physiological Zoology* 60: 121-137.
- Vidyalakshmi, R. and Sridar, R. 2006. Isolation and characterization of sulphur oxidizing bacteria. *Journal of Culture Collections* 5: 73-77.
- Vismann, B. and Hagerman, L. 2008. Recovery from hypoxia with and without sulfide in *Saduria entomon*: potassium, ATP and behavior COX reference. *Marine Biology Research* 4: 215-223.
- Xin, Y., Gao, R., Cui, F., Lü, C., Liu, H., Liu, H., Xia, Y. and Xun, L. 2020. The heterotrophic bacterium *Cupriavidus pinatubonensis* JMP134 oxidizes sulfide to sulfate with thiosulfate as a key Intermediate. *Applied and Environmental Microbiology* 86: e01835-20.

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาบทความ

1. ศาสตราจารย์ ดร.บัญชา	สมบูรณ์สุข
2. ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง	เตชะโต
3. รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี	นวลศรี
4. รองศาสตราจารย์ ดร.จำเป็น	อ่อนทอง
5. รองศาสตราจารย์ ดร.ไชยวรรณ	วัฒนจันทร์
6. รองศาสตราจารย์ ดร.ปิ่น	จันจุฬา
7. รองศาสตราจารย์ ดร.วันวิศาข์	งามผ่องใส
8. รองศาสตราจารย์ ดร.วัชรินทร์	ชื่นสุวรรณ
9. รองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย	หวังวโรตม
10. รองศาสตราจารย์ ดร.นริศ	ท้าวจันทร์
11. รองศาสตราจารย์ ดร.อนุรักษ์	สันป่าเป้า
12. รองศาสตราจารย์ ดร.ระวี	เจียรวิภา
13. รองศาสตราจารย์ ดร.วิโชติ	จรุงโรจน์
14. รองศาสตราจารย์ ดร.พจมาน	สุรนิลพงศ์
15. รองศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี	รามสูตร
16. รองศาสตราจารย์ ดร.จุฑามาศ	ร่มแก้ว
17. รองศาสตราจารย์ ดร.สรพงศ์	เบญจศรี
18. รองศาสตราจารย์ ดร.ศรีขุศล	หนูพรหม
19. รองศาสตราจารย์ ดร.ก่องกาญจน์	กิจรุ่งโรจน์
20. รองศาสตราจารย์ ดร.การุณ	ทองประจักษ์แก้ว
21. รองศาสตราจารย์ ดร.ประกายจันทร์	นิมกิงรัตน์
22. รองศาสตราจารย์ ดร.พรรณธิภา	ณ เชียงใหม่
23. รองศาสตราจารย์ ดร.ชุกีรี	หะยีสามแม
24. รองศาสตราจารย์ ดร.ร่วมจิตร	นกเขา
25. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกช	นาคคนอง
26. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรรัตน์	อโณทัย
27. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลดาวัลย์	เลิศเลอวงศ์
28. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรรัตน์	เย็นซ้อน
29. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา	ด้วงปาน
30. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีญาภรณ์	แก้วทวี
31. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นเรศ	ชวนยุค
32. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุทธพงษ์	สังข์น้อย
33. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ขวัญตา	ขาวมี
34. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรกฤษณ์	พูนภักดี
35. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุฑามาศ	แก้วมโน
36. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกาญจนา	ถาอินชุม
37. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนินันท์	พรสุริยา
38. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญชนก	ไชยรินทร์
39. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กอบชัย	วรพิมพ์ษ์

- | | |
|-------------------------------------|--------------|
| 40. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิไลวรรณ | ประพฤติ |
| 41. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิญา | รัตนไชย |
| 42. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนวดี | พรหมจันทร์ |
| 43. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย | ศรีช่วย |
| 44. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สกุลรัตน์ | หาญศึก |
| 45. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คมกฤษณ์ | แสงเงิน |
| 46. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุพาภรณ์ | วิริยานนท์ |
| 47. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต | แก้วกัญญา |
| 48. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ | ชุมทอง |
| 49. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทิยา | พนมจันทร์ |
| 50. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประภาช | กาวิชา |
| 51. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนทรียา | กาละวงศ์ |
| 52. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธากร | วรอัสนี |
| 53. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ล้อมพงศ์ | กลิ่นนาวิ |
| 54. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุदनัย | เครือหาลี |
| 55. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัตนรุจิ | พุ่มวิเศษ |
| 56. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิชญ์ | แก้วตะพาน |
| 57. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิมพ์พรรณ | พิมลรัตน์ |
| 58. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชามา | อินซอน |
| 59. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิถิ | เหมือนวอน |
| 60. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปริศนา | วงศ์ล้อม |
| 61. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรางคณา | กิจพิพิธ |
| 62. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กฤติกา | แก้วจ่านง |
| 63. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรพรรณ | แสนภูมิ |
| 64. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทราพร | ภูมรินทร์ |
| 65. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอุมา | เรืองวงษ์ |
| 66. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุขุมาล | หวานแก้ว |
| 67. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มนัสนันท์ | นพรัตน์ไมตรี |
| 68. ดร.พรพิมล | เชื่อดวงผุย |
| 69. ดร.นฤมล | พฤกษา |
| 70. ดร.อดิเรก | รักคง |
| 71. ดร.ธัญจิรา | เทพรัตน์ |
| 72. ดร.เอกรินทร์ | รอดเจริญ |
| 73. ดร.ปิณฑา | หนูแสน |
| 74. ดร.เทวี | มณีรัตน์ |
| 75. ดร.ปัทมาวดี | คุณวัลลี |
| 76. ดร.นุจิรา | ทักษิณานันต์ |
| 77. ดร.นัทท์ | นันทพงศ์ |
| 78. ดร. จิรพรรณ | สัจจรักษ์ |
| 79. ดร.สุรชาติ | เพชรแก้ว |
| 80. ดร.ปองเพชร | ธาราสุข |

- | | |
|---------------------------|-------------|
| 81. ดร.เจษฎา | โสภารัตน์ |
| 82. ดร.ศุภนนท์ | ตู่เนียม |
| 83. ดร.ทัศน์ี | ขาวเนียม |
| 84. ดร.รุ่งรัตน์ | แซ่หยาง |
| 85. ดร.วราภรณ์ | หิตฉิม |
| 86. ดร.ศักดิ์อนันต์ | แซ่ลิ้ม |
| 87. ดร.ชเนรินทร์ | ฟ้าแลบ |
| 88. ดร.ธเนศ | คอมเพ็ชร |
| 89. ดร.ภาณุมาศ | โคตรพงศ์ |
| 90. ดร.ทิวาพร | ผดุง |
| 91. ดร.มนต์สรวง | เรื่องขนาบ |
| 92. ดร.สุจิตรา | พรหมเชื้อ |
| 93. ดร.ปัทมา | หาญนอก |
| 94. ดร.สุวรรรณา | ชูเชิด |
| 95. ดร.ธิดารัตน์ | พ่วงไพโรจน์ |
| 96. ดร.รุจิรา | สุขโหด |
| 97. ดร.นุชรัฐ | บาลลา |
| 98. ดร.ธิดารัตน์ | แก้วคำ |
| 99. ดร.จำเริญศรี | ถาวรสุวรรณ |
| 100. นายสัตวแพทย์ธีรวิทย์ | บัวมา |
| 101. อ.คณินนิตย์ | ลิ้มจิระจร |
| 102. อ.อานนท์ | อุปลัลลังก์ |
| 103. อ.จักรพงศ์ | จิระแพทย์ |
| 104. คุณมนตรี | แก้วดวง |

รายนามผู้สนับสนุนงบประมาณจัดประชุม



มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



สมาคมศิษย์เก่าคณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
NR ALUMNI ASSOCIATION

สมาคมศิษย์เก่าคณะทรัพยากรธรรมชาติ



สมาคมศิษย์เก่าวาริชศาสตร์



สมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย



บริษัท โคโค อะกรีคัลเจอร์ จำกัด



บริษัท พิวเจอร์คروฟ มาร์เก็ตติ้ง จำกัด



บริษัท ไทยคณา อินเตอร์ฟู้ดส์ จำกัด



บริษัท วาริชฟู้ดส์ จำกัด



บริษัท เน็พ ไบโอเทค จำกัด



บริษัท เกาะแก้วฟู้ดส์ จำกัด



บริษัท ไฮโดรไทย จำกัด



บริษัท พี.โอ.พี. เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด



ร้านพงษ์เกษตรภัณฑ์



เอกเขนก ราชบุรี



บริษัท เออีซี คอนซัลต์ติงกรุ๊ป จำกัด



บริษัท ปัญญาวัสดุก่อสร้าง จำกัด



บจก.อาร์ดี เกษตรพัฒนา



สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ



บริษัท เอส.เค.โพลีเมอร์ จำกัด



บริษัท เอเชียเอ็น เอ็นเนอร์ยี จำกัด

บริษัท อินโน กรีน เทคโนโลยี จำกัด

คุณอาจิดน ชุมเป็ย

บริษัท เคไอซีพี จำกัด

รายนามคณะกรรมการจัดประชุมวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 2

ฝ่ายกรรมการอำนวยการจัดงาน

1. คณบดีคณะทรัพยากรธรรมชาติ	ที่ปรึกษา
2. รองคณบดีฝ่ายวิจัย นวัตกรรมและพันธกิจเพื่อสังคม	ประธานคณะกรรมการ
3. รองคณบดีฝ่ายบริหาร	กรรมการ
4. รองคณบดีฝ่ายวิชาการและพัฒนานักศึกษา	กรรมการ
5. ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายบริหารจัดการงานวิจัยและบริการวิชาการ	กรรมการ
6. ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายวิชาการและประกันคุณภาพหลักสูตร	กรรมการ
7. ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายพัฒนานักศึกษาและศิษย์เก่าสัมพันธ์	กรรมการ
8. ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายกิจการนานาชาติ	กรรมการ
9. หัวหน้าสาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ	กรรมการ
10. หัวหน้าสาขาวิชาวิชานวัตกรรมการผลิตสัตว์และการจัดการ	กรรมการ
11. หัวหน้าสาขาวิชาวาริชศาสตร์และนวัตกรรมจัดการ	กรรมการ
12. นายกสมาคมศิษย์เก่าคณะทรัพยากรธรรมชาติ	กรรมการ
13. นายกสมาคมศิษย์เก่าวาริชศาสตร์	กรรมการ
14. หัวหน้าศูนย์บริการวิชาการทางการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ	กรรมการและเลขานุการ

ฝ่ายวิชาการและประสานงาน

1. ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง	เตชะโต	ประธานคณะอนุกรรมการ
2. ศาสตราจารย์ ดร.บัญชา	สมบุญสุข	อนุกรรมการ
3. รองศาสตราจารย์ ดร.กังสดาลย์	บุญปราบ	อนุกรรมการ
4. รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี	นวลศรี	อนุกรรมการ
5. รองศาสตราจารย์ ดร.จำเป็น	อ่อนทอง	อนุกรรมการ
6. รองศาสตราจารย์ ดร.นริศ	ท้าวจันทร์	อนุกรรมการ
7. รองศาสตราจารย์ ดร.ปิ่น	จันทูหา	อนุกรรมการ
8. รองศาสตราจารย์ ดร.ระวี	เจียรวิภา	อนุกรรมการ
9. รองศาสตราจารย์ ดร.วัชรินทร์	ซันสุวรรณ	อนุกรรมการ
10. รองศาสตราจารย์ ดร.วันวิศาข์	งามผ่องใส	อนุกรรมการ
11. รองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย	หวังวิโรตม	อนุกรรมการ
12. รองศาสตราจารย์ ดร.วิโชติ	จรุงโรจน์	อนุกรรมการ
13. รองศาสตราจารย์ ดร.อนุรักษ์	สันป่าเป้า	อนุกรรมการ
14. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกช	นาคคนอง	อนุกรรมการ
15. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กฤษฎา	ถาอินชุม	อนุกรรมการ
16. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ขวัญตา	ขวามี	อนุกรรมการ
17. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรกฤษณ์	พูนภักดี	อนุกรรมการ
18. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรรัตน์	โอโณทัย	อนุกรรมการ
19. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุฑามาศ	แก้วมโน	อนุกรรมการ
20. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนินันท์	พรสุริยา	อนุกรรมการ

21. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนัญชนก	ไชยรินทร์	อนุกรรมการ
22. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นเรศ	ชวนยุค	อนุกรรมการ
23. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พีไลวรรณ	ประพฤติ	อนุกรรมการ
24. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยุทธพงษ์	สังข์น้อย	อนุกรรมการ
25. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลดาวัลย์	เลิศเลอวงศ์	อนุกรรมการ
26. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศราวุธ	เจ๊ะโสะ	อนุกรรมการ
27. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุริรัตน์	เย็นช้อน	อนุกรรมการ
28. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา	ด้วงปาน	อนุกรรมการ
29. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิญา	รัตนไชย	อนุกรรมการ
30. ดร.เจษฎา	โสภารัตน์	อนุกรรมการ
31. ดร.เทวี	มณีรัตน์	อนุกรรมการ
32. ดร.ธัญจิรา	เทพรัตน์	อนุกรรมการ
33. ดร.นฤมล	พฤษภา	อนุกรรมการ
34. ดร.นุจิรา	ทักษิณานันต์	อนุกรรมการ
35. ดร.นัทธ์	นันทพงศ์	อนุกรรมการ
36. ดร.ปัทมาวดี	คุณวัลลี	อนุกรรมการ
37. ดร.ปิตุนาถ	หนูเสน	อนุกรรมการ
38. ดร.ปองเพชร	ธราสุข	อนุกรรมการ
39. ดร.ไพรัตน์	ศรีชนะ	อนุกรรมการ
40. ดร.รุ่งรัตน์	แช่หยาง	อนุกรรมการ
41. ดร.วิศรา	ไชยสาลี	อนุกรรมการ
42. ดร.ศุภนันท	ตู๋นิม	อนุกรรมการ
43. ดร.สุรชาติ	เพชรแก้ว	อนุกรรมการ
44. ดร.อดิเรก	รักคง	อนุกรรมการ
45. นางสาวภริสฐิญา	แช่จิว	อนุกรรมการ
46. นางสาวภัททิรา	เกียรติขวัญบุตร	อนุกรรมการ
47. นางศิริพร	พรหมพัฒน์	อนุกรรมการ
48. นางสาวโสภิตา	ชี่ทอง	อนุกรรมการ
49. นางสาววราภรณ์	หิตฉิม	อนุกรรมการ
50. นางสาวชัชชาริยา	นิหะ	อนุกรรมการ
51. นางสาวพรรณนิภา	พรมรักษ์	อนุกรรมการ
52. นายธีรศักดิ์	สุชาติ	อนุกรรมการ
53. ดร. ทศนี	ขานเนียม	อนุกรรมการและเลขานุการ
54. นางอมรรัตน์	จันทนาอรพินท์	อนุกรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

ฝ่ายนิทรรศการ

1. รองศาสตราจารย์ ดร.อนุรักษ์	สันป่าเป้า	ประธานคณะอนุกรรมการ
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ขวัญตา	ขวามี	อนุกรรมการ
3. ดร.ปิตุนาถ	หนูเสน	อนุกรรมการ

4. ดร.เทวี	มณีรัตน์	อนุกรรมการ
5. ดร.ปัทมาวดี	คุณวัลลี	อนุกรรมการ
6. ดร. เอกนรินทร์	รอดเจริญ	อนุกรรมการ
7. นายสัตวแพทย์ธีรวิทย์	บัวมา	อนุกรรมการ
8. นางสาวเยาวลักษณ์	ชัยพลเดช	อนุกรรมการ
9. นางอมรรัตน์	จันทนาอรพินท์	อนุกรรมการ
10. นางสาวชมพูนุท	บัวเพื่อน	อนุกรรมการและเลขานุการ

ฝ่ายประชาสัมพันธ์

1. นางสาวยุวภา	โสมกิตติกุล	ประธานคณะอนุกรรมการ
2. นางสาวศรินรา	แมะเร้าะ	อนุกรรมการ
3. นายเทอดพงษ์	วิริยะสมบัติ	อนุกรรมการ
4. นางสาวศศิธร	ลิมจู้	อนุกรรมการและเลขานุการ

ฝ่ายสถานที่และยานพาหนะ

1. นายโสธร	เดชนครินทร์	ประธานคณะอนุกรรมการ
2. นายสิน	พรหมเทพ	อนุกรรมการ
3. นายกมล	แก้วมณี	อนุกรรมการ
4. นายทวีผล	เกษรเกศรา	อนุกรรมการ
5. นายจิราวุฒิ	ขุนนัย	อนุกรรมการ
6. นายวัชรพล	รักษ์วงศ์	อนุกรรมการ
7. นายอำนาจ	ยอดมณี	อนุกรรมการ
8. นายประทีป	คำดี	อนุกรรมการ
9. นายชาญชาติ	ยิ้มเกื้อ	อนุกรรมการ
10. นางสาววรรณิณี	ทะสระระ	อนุกรรมการ
11. นางจุฑารัตน์	แดงทอง	อนุกรรมการ
12. นางพรทิพย์	คำหงษา	อนุกรรมการ
13. นางสาวกรรณิการ์	แก้วนพรัตน์	อนุกรรมการ
14. นางสุพรรณิณี	แน่นหนา	อนุกรรมการ
15. นางนวลเพ็ญ	ไชยโรจน์	อนุกรรมการ
16. นายสมชาย	รัตน์ะ	อนุกรรมการ
17. นายโกศล	หนูอุไร	อนุกรรมการ
18. นายจำลอง	พินคง	อนุกรรมการ
19. นายนพเก้า	โลหะประเสริฐ	อนุกรรมการ
20. นายแอ๊ด	อินทมะโน	อนุกรรมการ
21. นายเอกสิทธิ์	จันทร์ทอง	อนุกรรมการ
22. นายसानิตย์	ฉิมโร	อนุกรรมการ
23. นายอนุคม	จันทร์ตัน	อนุกรรมการ
25. นายพรทวี	จันทร์สีทอง	อนุกรรมการ

26. นายชนะชัย	ตั้งจิตร์	อนุกรรมการ
27. นายสมคิด	บัวทอง	อนุกรรมการ
28. นายทรงศิลป์	ไชยสงคราม	อนุกรรมการ
29. นายศิลา	ณ มณี	อนุกรรมการ
30. นายพรพรพต	กองสวัสดิ์	อนุกรรมการ
31. นายประเสริฐ	พงษ์นุรักษ์	อนุกรรมการ
32. นายอภิชาล	เพ็ชรบูรณ์	อนุกรรมการ
33. นายสายันต์	สุระสังวาลย์	อนุกรรมการ
34. นายวิศณุ	เพ็ชรสุวรรณ	อนุกรรมการ
35. นายฐิติพงศ์	ชินผา	อนุกรรมการ
36. นางสาวธีรนิത്യ	ฉวีสุวรรณแก้ว	อนุกรรมการ

ฝ่ายอาหารและเครื่องดื่ม

1. นางจิราภรณ์	คงสุข	ประธานคณะอนุกรรมการ
2. นางนิศมา	สุวรรณโณ	อนุกรรมการ
3. นางสิขเรศ	แสงขำ	อนุกรรมการ
4. นางสาวมัสนิน	พรหมยา	อนุกรรมการ
5. นางสาวธัญญรัตน์	สุวรรณโณ	อนุกรรมการและเลขานุการ

ฝ่ายพิธีการ

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา	ดวงปาน	ประธานคณะอนุกรรมการ
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุษผงษ์	สังข์น้อย	อนุกรรมการ
3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.ชนินันท์	พรสุริยา	อนุกรรมการ
4. นางสาวภัททิรา	เกียรติขวัญบุตร	อนุกรรมการ
5. นางสาวธัญญรัตน์	สุวรรณโณ	อนุกรรมการ
6. นางสาวกมลวรรณ	เอียดชูทอง	อนุกรรมการ
7. นางสาวฐาปนี	เพชรขวัญ	อนุกรรมการ
8. นางนุรดา	ฮุสเซน	อนุกรรมการ
9. นางสาวเขมินี	ทองมา	อนุกรรมการ
10. นางสาวศิริวรรณ	แจวงค์สวัสดิ์	อนุกรรมการ
11. นางจิราภรณ์	คงสุข	อนุกรรมการและเลขานุการ

ฝ่ายประเมินผล

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรรัตน์	เย็นซ้อน	ประธานคณะอนุกรรมการ
2. ดร.ทัศนีย์	ขานเนียม	อนุกรรมการ
3. นายเทอดพงษ์	วิริยะสมบัติ	อนุกรรมการ

4. นางสาวยุวภา
5. นางสาวนุรมา
6. นางสาวศศิธร

โฆสิตติกุล
มาสาเกี
ลิมจู้

อนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการและเลขานุการ

ฝ่ายการเงินและลงทะเบียน

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญชนก
2. นางสาววันดี
3. นางจารี
4. นางนันทิตา
5. นางสาวอนุสรรา
6. นางสาวทรงลักษณ์

ไชยรินทร์
สุขสะโร
ทองสกุล
อินทส์โร
มารอด
กัลป์คง

ประธานคณะอนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการ
อนุกรรมการและเลขานุการ