

12 - 14 June 2025
Faculty of Science, NU



► Proceeding

งานประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 17

THE 17TH BOTANICAL CONFERENCE OF THAILAND

*Green for Sustainability
and Community*



Organized by



Sponsors





สารบัญ

สารบัญ	3
คณะผู้จัดงาน	5
ผู้สนับสนุน	7

Conference proceeding

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน <i>rbcL</i> และ <i>matK</i> มลิวรรณ นาคขุนทด, ศัตตวุฒิ ชุมภูอินทร์, วรวิษ สุขตระกูล และ สุนิษา ล่วงลือ	10
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชผักพื้นบ้านภาคใต้ของไทย คณิศร นวลเต็ม, สรัญญา วัชรโรทัย และ สุดสวาสดี ดวงศรีไสย์	19
ผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ลาวัลย์ ป้ากระโทก, มาศุทธ สัญพิง, ณัฐวดี จินตโกวิท, สุพิน แสงสุข, รัฐ พิษยางกูร และ ศุภจิตรา ชัชวาลย์	33
การพัฒนาสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตเพื่อยืดอายุความสดของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สำหรับธุรกิจการส่งออก ปวิวิติ จรรยาศรี, อรุณลักษณ์ พุทธปฏิโมภักษ์, ณัฐภัสสร เหล่าเนตร์ และ มลิวรรณ นาคขุนทด	40
พลาสติกชีวภาพจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่สารมีสกัดจากเมล็ดสะเดาเพื่อกำจัดเพลี้ยจากฝรั่ง ทักษพร ผาสกมโน, วรณิดา พรหมสัมพันธ์, ศุภัตรา ประทุมชาติ และ วิภา อาสิงสมานนท์	49
ความแปรปรวนของลักษณะปากใบที่สัมพันธ์กับการทนแล้งในอ้อย เทวัญ มาศจรัส, กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ และ นวลกมล อำนวยสิน	54
พืชพื้นล่างในป่าชุมชนหุบใหญ่ อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครราชสีมา เทียมมัทย์ ชูพันธ์	61
การศึกษาเบื้องต้นของสาหร่ายขนาดเล็กในลำไส้ของลูกนํ้ายุงลายบ้านที่เก็บมาจากจังหวัดนครศรีธรรมราช ประเทศไทย จิรัฐดา พรหมเพรา, ณัฏฐา เสนีवास, เอกพันธ์ ไกรจักร, เสาวลักษณ์ แก้วมี, เจมิชา ดุดฮัต, อัญชิษฐา รุจิโรบุญ, กนก พงษ์วิทย์, เปร็จ สิริยะเสถียร และ นริศรา จริยะพันธุ์	70
การสำรวจเบื้องต้นของทรัพยากรพืชท้องถิ่นของชนเผ่ากะเหรี่ยงหมู่บ้านโละโคะ ตำบลโกสัมพีน อำเภอกอสัมพีนคร จังหวัดกำแพงเพชร อรัญญา สมหวัง, ชลธิชา ภูแก้ว, อาทิตยา ใจเที่ยง, หนึ่งฤทัย จักรศรี, ปราณี นางงาม และ ธนากร วงษศา	75
ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกของต้นรัก นาริลักษณ์ นาแก้ว, ภัทรสุดา เรืองเดช, มานินี ธรรมชาติ, ชนาทนต์ ชัยลอม และ สุภาวดี พาหิระ	84

สารบัญ (ต่อ)

Conference proceeding

ผลของสารเร่งเชิงชีวภาพจากไคตินหมักต่อการเติบโตของกล้าข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ในสภาพปลอดเชื้อ	90
สรวิชญ์ วงศ์วรชาติ, อิติ สุทธิยุทธ์ และ ศุภจิตรา ชัชวาลย์	
ผลของวิธีการต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้หว้าจิมฟันควายในสภาพปลอดเชื้อ	98
เครือวัลย์ พิพัฒน์สวัสดิกุล, ธนากร วงษ์ศา, สุภินันท์ ศิรินันท์ และ อนุพันธ์ กงบังเกิด	

คณะผู้จัดงานประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทยครั้งที่ 17



สมาคมพฤกษศาสตร์
ในพระบรมราชูปถัมภ์



มหาวิทยาลัยนเรศวร

<https://www.nu.ac.th>



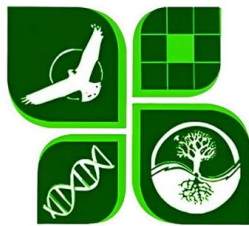
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<https://www.chula.ac.th>



มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

<https://www.ku.ac.th/th>



ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยนเรศวร



Center of Excellence in Agricultural
Biotechnology
Naresuan University



Center of Excellence for Biodiversity
Naresuan University



Center of Excellence for Innovation
and Technology for Detection and
Advanced Materials

ผู้สนับสนุนงานประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทยครั้งที่ 17



MGI



DNBSEQ-G400



DNBSEQ-E25



DNBSEQ-G99

HAMILTON



Hamilton MicroLab Prep

Hamilton MicroLab VANTAGE Liquid Handling System
Hamilton MicroLab STARV

iontorrent
by Thermo Fisher Scientific



Ion GeneStudio™ S5 Systems



Ion Torrent™ Genexus™ System

qualitytype

GenoProof Suite

Your professional all-in-one solution for special DNA analysis



appliedbiosystems
by Thermo Fisher Scientific
for HUMAN IDENTIFICATION



RapidHiT™ ID System



SeqStudio™ Genetic Analyzer



QuantStudio™ 5
Real-Time PCR System



SeqStudio Flex Genetic Analyzer

azure biosystems



AZURE CIELO™
REAL-TIME PCR

RainSure
SCIENTIFIC



Cartridge Scanner



Sample Prep Station

DNA Sequencing and
Fragment Analysis
by Capillary Electrophoresis



IDT
INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES

- NGS
- CRISPR
- Functional Genomics
- Synthetic Biology
- PCR & qPCR
- Custom Oligos
- Contract Manufacturing

Yourgene Health



Yourgene's LightBench with Ranger Technology provides and automated high throughput gel electrophoresis platform for DNA size selection.

FOR PREGNANT WOMEN

the IONA test
non-invasive prenatal screen, safe, fast, accurate



TRUPCR®

ALL PCR Panel Kit

for detection of
DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC
markers of acute lymphoblastic
leukemia (ALL)



PSI, spol. s r.o. – Photon Systems Instruments
Professional Instruments for Plant Analysis, Bioimaging, and Agriculture
Czech Republic, www.psi.cz



**PlantScreen™ Conveyor
and Robotic System**
High Throughput Plant Phenotyping



GENE PLUS CO., LTD.

TEL. 02 274 1291 - 5, 02 692 9330

www.gene-plus.com info@gene-plus.com

Line: @geneplus FB: geneplusdotcom

GENEPLUS is a professional distributor company in biotechnology. We are exclusive distributor for Applied Biosystems™ which is a global leader in providing innovative instrument systems to accelerate academic and clinical research, drug discovery and development, pathogen detection, environmental analysis, and forensic DNA analysis.

Conference proceeding

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *rbcL* และ *matK*

Evaluation of genetic relationship and identification in *Calanthe* using nucleotide sequences of *rbcL* and *matK* gene

มลิวรรณ นาคขุนทด¹, ศัตตวุฒิ ชุมภูอินทร์¹, วรวิษ สุขตระกูล¹, สุนิษา ล่วงลือ^{1,*}
Maliwan Nakkuntod¹, Sattawat Chumpooin¹, Worawit Suktrakul¹, Sunisa Luanglue^{1*}

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok 65000

Correspondence: sunisaluanglue@gmail.com

บทคัดย่อ: กล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันเป็นกล้วยไม้ดินหรือกล้วยไม้อิงอาศัยที่การกระจายพันธุ์ในประเทศไทย มีลักษณะของดอกที่สวยงาม แต่มีลักษณะสันฐานวิทยาของดอกและลำต้นที่คล้ายกัน ดังนั้น ในการจำแนกกล้วยไม้กลุ่มนี้ต้องอาศัยความชำนาญและประสบการณ์สูง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกในระดับชนิดของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และยีน *matK* และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ 8 ชนิด ประกอบด้วย 17 ตัวอย่างกับ outgroup 3 ชนิด ด้วยวิธี maximum likelihood จากผลการศึกษพบว่า ยีน *matK* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่ายีน *rbcL* เมื่อนำมาสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรมแบ่งกล้วยไม้เอื้องน้ำตันออกเป็น 3 กลุ่ม สามารถจำแนกกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันได้ 5 ชนิด คือ *C. vestita*, *C. pulchra*, *C. clavata*, *C. densiflora* และ *C. triplicata* แต่ไม่สามารถจำแนกอีก 3 ชนิด (*C. cardioglossa*, *C. rubens* และ *C. succedanea*) ได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่ายีน *matK* มีประสิทธิภาพในการจำแนกในระดับชนิดได้ดีกว่ายีน *rbcL* เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจำแนกอาจวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์และในนิวเคลียสตำแหน่งอื่น ๆ เพิ่มเติม

คำสำคัญ: กล้วยไม้ดิน, กล้วยไม้อิงอาศัย, คลอโรพลาสต์

Abstract: The genus *Calanthe* R.Br. is terrestrial or lithophytic orchid, which are widespread in Thailand. They have beautiful flowers, however their flowers and pseudobulb characteristics are similar. Therefore, a high level of expertise and experience for identification were required. The aimed of this study is to analyze the genetic diversity of *Calanthe* using the nucleotide sequence of the *rbcL* and *matK*. Phylogenetic relationships among eight species including seventeen samples with three outgroup species were analyzed using maximum likelihood. The results revealed that the nucleotide sequences of the *matK* have higher genetic variation than the *rbcL*. From the maximum likelihood tree, the *Calanthe* species were divided into three clades by *matK*. *matK* can distinguished five species of *Calanthe*, namely *C. vestita*, *C. pulchra*, *C. clavata*, *C. densiflora* and *C. triplicata* of *Calanthe* genus. Nevertheless, *matK* sequences from three species (*C. cardioglossa*, *C. rubens* and *C. succedanea*) had no informative characters to distinguish each species. These finding indicated that a single *matK* is more efficiency than *rbcL* gene. Other plastid and nuclear regions were suggested to improve the potential classification.

Keywords: terrestrial orchid, lithophytic orchid, chloroplast

1. บทนำ

กล้วยไม้กลุ่มเอื้องน้ำตันจัดอยู่ในวงศ์ย่อย Epidendroideae ประกอบด้วย 3 สกุล ได้แก่ สกุลเอื้องน้ำตัน (*Calanthe* R.Br.) สกุลเอื้องพร้าว (*Phaius* Lour.) และสกุลเอื้องกลีบเกลียว (*Cephalantheropsis* Guillaumin) กล้วยไม้กลุ่มนี้เป็นกลุ่มของกล้วยไม้ดิน และกล้วยไม้อิงอาศัยที่มีการเจริญเติบโตทางยอดหรือทางด้านข้าง ซึ่งมีลักษณะที่สำคัญคือ มีใบแบบพับจีบ ดอกมีลักษณะเป็นช่อดอกแบบกระจจะ กลีบเลี้ยงและกลีบดอก มีลักษณะคล้ายกัน ปลายกลีบปากแยกออกเป็นแฉก มีเรณู 8 อัน แยกออกเป็น 2 กลุ่ม มีการกระจายพันธุ์หลักส่วนใหญ่อยู่ในเอเชีย โดยกล้วยไม้สกุล *Calanthe* R.Br. หรือ เอื้องน้ำตัน เป็นสกุลที่มีขนาดใหญ่ มีสมาชิกทั้งหมด 216 ชนิด [1] ส่วนใหญ่พบใน เอเชีย ออสเตรเลียเหนือ หมู่เกาะแปซิฟิก โอเชียแลนด์ แอฟริกา และอเมริกากลาง ในปี 2014 มีรายงานในหนังสือ Flora of Thailand พบกล้วยไม้สกุลนี้ในประเทศไทย 23 ชนิด กล้วยไม้สกุลนี้มีลักษณะเด่น คือ ลำต้นมีลักษณะอวบน้ำเป็นแบบ ลำลูกกล้วย (pseudobulb) บางชนิดจะมีลำต้นสั้นและมีใบคลุม ใบมีขนาดยาว สีเขียว และมีรอยพับจีบ ดอกมีขนาดกลางไปจนถึงดอกขนาดใหญ่ เมื่อดอกมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเงิน เส้นเชื่อมกับโคนกลีบดอก มักเจริญเติบโตในป่าผลัดใบหรือป่าดิบเขา ส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้ดิน กล้วยไม้ที่ขึ้นบนหิน บางชนิดเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ดังนั้น หลายชนิดจึงมีการกระจายพันธุ์ในหลายจังหวัด เช่น *C. cardios glossa* พบการกระจายพันธุ์ในจังหวัด แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ น่าน อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เลย ขอนแก่น ชัยภูมิ อุบลราชธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี นครนายก ระนอง สุราษฎร์ธานี และพังงา แต่บางชนิดก็พบการกระจายพันธุ์น้อย เช่น *C. densiflora* พบการกระจายพันธุ์เพียง 3 จังหวัด คือ พิษณุโลก เพชรบูรณ์ และเลย เท่านั้น [2]

การจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ราก ลำต้น และใบ ในพืชวงศ์กล้วยไม้ มักพบปัญหาที่คล้ายกัน คือ มีบางลักษณะของสัณฐานวิทยาที่ปรากฏร่วมกัน และบางลักษณะที่คล้ายกันมาก [3] กล้วยไม้มีกาคายสัณฐานวิทยาของดอกมาใช้ในการจำแนก แต่บางสกุลออกดอกเฉพาะฤดูกาลเท่านั้น การจำแนกอาจต้องใช้ระยะเวลา [4] บางชนิดมีสรรพคุณทางยา หากไม่ชำนาญอาจเกิดข้อผิดพลาดในการนำไปใช้งานได้ ดังนั้นการใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมที่จำเพาะของกล้วยไม้มาช่วยในการจำแนกจะทำให้ได้ผลที่ถูกต้องยิ่งขึ้น [5] จึงมีการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณนิวเคลียสร่วมกับคลอโรพลาสต์สามารถแบ่ง *Calanthe* แบ่งออกเป็น 3 สกุลย่อย กล้วยไม้สกุลนี้ส่วนใหญ่อยู่ใน *Calanthe* รองลงมาคือ *Styloglossum* มีบางชนิดแยกออกมาอยู่ใน *Preptanthe* [3] รวมถึงสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย sequence-related amplified polymorphism หรือ SRAP สามารถแบ่งกล้วยไม้สกุล *Calanthe* ออกเป็น 3 สกุลย่อย เช่นเดียวกัน แต่มีบางชนิด *C. rubens* Ridl. กับ *C. rubens* Ridl. var. *alba* ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ไม่ชัดเจน เนื่องจากเป็นกล้วยไม้ชนิดเดียวกันถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับกล้วยไม้ชนิดอื่นในสกุลเดียวกันมากกว่า [6] จะเห็นได้ว่าการจำแนกหรือระบุชนิดโดยใช้สัณฐานวิทยาอย่างเดียวต้องอาศัยความชำนาญและประสบการณ์ด้านการจำแนกอย่างมาก

ในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ชนิดต่าง ๆ เหมาะสำหรับพืชที่ยังไม่มีการศึกษาแต่มีข้อจำกัดคือ ไพรเมอร์บางชนิดเมื่อทำซ้ำให้ผลไม่คงเดิม หรือต้องคัดเลือกไพรเมอร์จำนวนมากให้เหมาะสมกับพืชที่ศึกษา ดังนั้นการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่งเฉพาะมาเป็นมาตรฐานในการระบุสิ่งมีชีวิตในระดับชนิด เรียกว่า ดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA barcode) ซึ่งเป็นเทคนิคที่เร็วและถูกต้อง มาใช้ระบุชนิดในสิ่งมีชีวิต สำหรับการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาตรฐานที่ใช้ในพืช มีการนำดีเอ็นเอทั้งจากนิวเคลียสและคลอโรพลาสต์หลายบริเวณมาวิเคราะห์เพื่อหาบริเวณที่เหมาะสม เช่น internal transcribed spacer (ITS), *ribulose biphosphohate carboxylase large chain (rbcL)*, *maturase K (matK)*, *psbA-trnH* intergenic spacer, *NADH dehydrogenase F (ndhF)*, *ycf1*, *rpoC1* และ *atpF-atpH* intergenic spacer [5,7-12] โดย Consortium for the Barcode of Life plant working group เสนอการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* กับ *matK* ร่วมกัน [13] ซึ่งทั้งสองยีนเป็นยีนที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอและเป็นยีนที่มีขนาดใหญ่ โดยมีขนาดมากกว่า 1,000 คู่เบส วงศ์กล้วยไม้เป็นวงศ์ที่มีความหลากหลายสูง มีสมาชิกจำนวนมากและมีการกระจายพันธุ์ทั่วโลก ทำให้เมื่อศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดแล้วพบว่าแต่ละสกุลก็มีความแตกต่างกัน การจำแนกกล้วยไม้สกุล *Coelogyne* ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* มีประสิทธิภาพดีกว่ายีน *matK* [14] ซึ่งกล้วยไม้บางสกุลที่เจริญเติบโตในพื้นที่แตกต่างกัน ประสิทธิภาพของยีนจะมีความแตกต่างกันด้วย เช่น สกุล *Paphiopedilum* ยีน *rbcL* สามารถระบุและจัดจำแนกได้ดีกว่ายีน *matK* [15] ในขณะที่สกุล *Paphiopedilum* จากประเทศโปแลนด์ ยีน *matK* สามารถระบุกล้วยไม้ในสกุลนี้ได้ดีกว่ายีน *rbcL* และบริเวณระหว่างยีนอื่น ๆ (ITS2, *atpF-atpH* และ *trnH-psbA*) [16] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันในประเทศไทย โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ในคลอโรพลาสต์ 2 บริเวณ คือ ยีน *rbcL* และยีน *matK*

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1. ตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย

เก็บตัวอย่างใบกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน 8 ชนิด ประกอบด้วย 17 ตัวอย่าง จาก สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่ (MR), สวนพฤกษศาสตร์บ้านร่มเกล้าพิษณุโลกในพระราชดำริ จังหวัดพิษณุโลก (RK), อุทยานแห่งชาติ จังหวัดพิษณุโลก (PH), อำเภอกูเรือ จังหวัดเลย (PR) และอำเภอน้ำหนาว จังหวัดเพชรบูรณ์ (NN)

ตาราง 1 ชนิดของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันและอักษรย่อที่ใช้ในงานวิจัย

ลำดับที่	ชื่อสามัญ (ชื่อวิทยาศาสตร์)	สถานที่เก็บ	อักษรย่อ
1	<i>Calanthe cardioglossa</i> Schltr.	MR	CCA_MR
2	<i>C. cardioglossa</i> Schltr.	RK	CCA_RK
3	<i>C. clavata</i> Lindl.	PR	CCL_PR1
4	<i>C. clavata</i> Lindl.	PR	CCL_PR2
5	<i>C. densiflora</i> Lindl.	RK	CDE_RK
6	<i>C. densiflora</i> Lindl.	PH	CDE_PH
7	<i>C. pulchra</i> (Blume) Lindl.	MR	CPU_MR
8	<i>C. rubens</i> Ridl.	RK	CRU_RK
9	<i>C. rubens</i> Ridl.	MR	CRU_MR
10	<i>C. rubens</i> Ridl.	PR	CRU_PR
11	<i>C. rubens</i> var. <i>alba</i>	RK	CRUA_RK
12	<i>C. succedanea</i> Gagnep.	MR	CSU_MR
13	<i>C. triplicata</i> (Willemet) Ames	MR	CTR_MR
14	<i>C. triplicata</i> (Willemet) Ames	PR	CTR_PR
15	<i>C. triplicata</i> (Willemet) Ames	NN	CTR>NN
16	<i>C. vestita</i> Wall. ex Lindl.	MR	CVE_MR1
17	<i>C. vestita</i> Wall. ex Lindl.	MR	CVE_MR2

2.2. การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอกล้วยไม้จากใบด้วยวิธี CTAB method ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle [17] มีขั้นตอนดังนี้ ชั่งใบสดประมาณ 0.5 กรัม มาบดในไนโตรเจนเหลวให้เป็นผง จากนั้นย้ายในลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มี 1X CTAB buffer (2% CTAB, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร และ beta-mercaptoethanol ปริมาตร 10 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมา แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมา ทุก ๆ 10 นาที หลังจากนั้นเติม chloroform:isoamy alcohol (24:1) ปริมาตร 1 เท่า กลับหลอดไปมาเบา ๆ นำปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ย้ายสารละลายด้านบนใส่หลอดใหม่ เติม 10 mg/ml RNase A ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แยกโปรตีนอีกครั้งด้วย Phenol: chloroform:isoamy alcohol (25:24:1) และ chloroform:isoamy alcohol (24:1) จากนั้นตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย 3M sodium acetate ปริมาตร 1/10 เท่า และ absolute ethanol ปริมาตร 2 เท่า นำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนด้วย 70% ethanol นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ตากตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนด้วย TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA) หลังจากนั้นตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล 0.8 เปอร์เซ็นต์ ใน 1X TAE จากนั้นส่องภายใต้แสงยูวีแล้วบันทึกผล และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร

2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน *rbcl* และ *matK* ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

นำดีเอ็นเอที่ได้มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยยีน *rbcl* ใช้คู่ไพรเมอร์ *rbcl*1F (5'-ATGTCACCACAAACAGAACTAAA GC-3') และ *rbcl*724R (5'-CATGTACCTGCAGTAGC-3') [18] ยีน *matK* ใช้คู่ไพรเมอร์ *matK*KUf (5'-ATATCCGCTACTCCTTCAGGAG-3') และ *matK*KUr (5'-CGAGCCAAAGTTCTAGCACACG-3') [19] โดยมีสารเคมีในปฏิกิริยา ดังนี้ 1X PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 1 mM dNTPs, 0.2 µM forward primer, 0.2 µM reverse primer, 1.5U Taq DNA polymerase (RBC, Taiwan), 50-100 ng DNA template และ distilled water จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องพีซีอาร์ มีอุณหภูมิและเวลาดังนี้ pre-denaturation 94 องศาเซลเซียส 5 นาที denaturation 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที annealing 50-60 องศาเซลเซียส 30 วินาที extension 72 องศาเซลเซียส 1 นาที ทั้งหมด 35 รอบ และ final extension 72 องศาเซลเซียส 10 นาที หลังจากนั้นตรวจสอบผลผลิตได้ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ใน 1X TAE จากนั้นส่องภายใต้แสงยูวีแล้วบันทึกผล

2.4 การทำให้บริสุทธิ์และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลผลิตที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยน้ำยาสำเร็จรูป PCR Clean-UP & Gel Extraction kit (PureDirex, Taiwan) ตรวจสอบผลผลิตหลังจากทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ ใน 1X TAE จากนั้นส่องภายใต้แสงยูวีแล้วบันทึกผล จากนั้นเตรียมตัวอย่างสำหรับหาลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยย้ายสารละลายใส่หลอดไมโครเซนตริฟิวส์ขนาด 0.2 มิลลิลิตร แล้วส่งสารละลายไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท MacroGen Inc. ประเทศเกาหลีใต้

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อได้ลำดับนิวคลีโอไทด์นำมาจัดเรียง (alignment) ด้วยโปรแกรม GeneDoc version 2.6.002 [20] และ ClustalX [21] ตรวจสอบนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Chromas (Technelysium Pty. Ltd., Helensvale, Queensland, Australia) จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน ในบริเวณยีน *rbcl* และ *matK* ด้วยโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 7.0.26 [22] โดยใช้ phylogenetic tree ด้วยเงื่อนไข maximum likelihood ที่มีกล้วยไม้ชนิดอื่นในวงศ์ย่อย Epidendroideae จากฐานข้อมูล National Center for Biotechnology Information (NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) เป็น outgroup ดังนี้ ยีน *rbcl* ประกอบด้วย *Mischobulbum papuanum* (AF264169.1), *Collabium chinense* (KF235082.1) และ *Tainia dunnii* (KF235099.1) และยีน *matK* ประกอบด้วย *Mischobulbum papuanum* (AF263672.1), *Collabium chinense* (KF673830.1) และ *Tainia dunnii* (KF852708.1)

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

3.1. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน *rbcl* และ *matK*

ดีเอ็นเอบริเวณยีน *rbcl* และ *matK* ที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ มีขนาดประมาณ 700 คู่เบส และประมาณ 1,400 คู่เบส ตามลำดับ

3.2. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* และ *matK* ในกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน

3.2.1 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* ในกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน

ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *rbcl* ของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันทั้ง 8 ชนิด รวมทั้งหมด 17 ตัวอย่าง มีความยาว 543 คู่เบส เริ่มตั้งแต่ตำแหน่งที่ 122 ถึง 664 ประกอบด้วยบริเวณอนุรักษ์ (conserved region) 529 ตำแหน่ง (97.4 เปอร์เซ็นต์) variable sites 14 ตำแหน่ง (2.6 เปอร์เซ็นต์) แบ่งเป็น parsimony-informative sites 5 ตำแหน่ง (1 เปอร์เซ็นต์) และ singleton sites 9 ตำแหน่ง (1.6 เปอร์เซ็นต์) เกิดความผันแปรทางพันธุกรรมระดับยีนแบบการแทนที่ของคู่เบส (base substitution) 14 ตำแหน่ง (2.6 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งการแทนที่เบสพบ 2 รูปแบบ ได้แก่ การแทนที่แบบทรานซิชัน (transition) พบ 9 ตำแหน่ง (1.6 เปอร์เซ็นต์) และทรานสเวอร์ชัน (transversion) พบ 5 ตำแหน่ง (1 เปอร์เซ็นต์) เมื่อแปลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* เป็นกรดอะมิโน พบว่า สามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนได้ 180 ตัว กรดอะมิโนตัวแรกเป็นกรดอะมิโนตัวที่ 42 และตัวสุดท้ายเป็นกรดอะมิโนตัวที่ 221 โดยตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่มีการกลายพันธุ์อยู่ในตำแหน่งของโคดอนที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งการกลายพันธุ์ในโคดอนที่ 1 และ 2 ส่งผลให้เปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนแตกต่างกัน ในขณะที่การกลายพันธุ์ของโคดอนที่ 3 จะเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนเหมือนกัน ยกเว้นนิวคลีโอไทด์ตำแหน่งที่ 624 ที่เป็นโคดอนที่ 3 มีการเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน (ตาราง 2)

ตาราง 2 ตำแหน่งและชนิดของการกลายพันธุ์แบบการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *rbcl*

รูปแบบการกลายพันธุ์	ตำแหน่งบนลำดับนิวคลีโอไทด์ (ตำแหน่งของโคดอน)
การแทนที่แบบทรานซิชัน	237, 240, 411, 444, 465, 489, 581, 583, 606
การแทนที่แบบทรานสเวอร์ชัน	252, 579, 602, 624, 638
การเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไป	ไม่พบ

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* เป็นบริเวณที่นิยมนำมาศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและใช้ในการจำแนกกระบุงชนิดในกล้วยไม้หลายสกุล สำหรับกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันในประเทศไทย ยีน *rbcl* พบความแปรผันทางพันธุกรรมแบบการแทนที่ของคู่เบสเพียง 2.6 เปอร์เซ็นต์ โดยยีน *rbcl* เป็นยีนที่มีอัตราการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ต่ำกว่ายีนอื่น ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ เนื่องจากยีนนี้สร้างเอนไซม์รูบิสโกที่ใช้ในกระบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นยีน *rbcl* จึงมีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นบริเวณอนุรักษ์สูง ส่งผลให้พบความแปรผันทางพันธุกรรมได้น้อยกว่าลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณอื่น ๆ [7,14,23] แต่ยีนนี้มีข้อดีคือสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ได้ง่ายด้วย universal primer และมีอัตราความสำเร็จในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์สูง การศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในกล้วยไม้สกุล *Paphiopedilum* ยีน *rbcl* มีความแปรผันทางพันธุกรรมต่ำที่สุด แต่ประสบความสำเร็จในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์และมีคุณภาพในระดับดี 100 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าบริเวณระหว่างยีน *trnH-psbA* และ ITS ที่มีคุณภาพในระดับดีเพียง 94.12 และ 89.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ [7] นอกจากนี้สกุล *Coelogyne* ยังพบว่าแปรผันทางพันธุกรรมต่ำที่สุด เมื่อ

เทียบกับ *matK* อีกด้วย [14] แต่อย่างไรก็ตามยีน *rbcl* ยังคงถูกเสนอเป็นอีกทางเลือกหรือเป็นส่วนเสริมในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและการจำแนกกล้วยไม้ [11] เนื่องจากยีนนี้ยังคงมีประสิทธิภาพการจำแนกในระดับ Order หรือ Family [5,7]

3.2.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *matK* ในกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน

ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *matK* ของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันทั้ง 8 ชนิด รวมทั้งหมด 17 ตัวอย่าง มีความยาว 667-679 คู่เบส โดย *C. densiflora* มีความยาว 667 คู่เบส *C. clavata* มีความยาว 668 คู่เบส *C. pulchra* มีความยาว 673 คู่เบส *C. cardioglossa*, *C. rubens*, *C. rubens* var. *alba*, *C. succedanea*, *C. triplicata* และ *C. vestita* มีความยาว 679 คู่เบส ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *matK* ประกอบด้วยบริเวณอนุรักษ์ (conserved region) 648 ตำแหน่ง (94.9 เปอร์เซ็นต์) variable sites 35 ตำแหน่ง (5.1 เปอร์เซ็นต์) แบ่งเป็น parsimony-informative sites 25 ตำแหน่ง (3.7 เปอร์เซ็นต์) และ singleton sites 10 ตำแหน่ง (1.4 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ *matK* ของ *C. cardioglossa* จากฐานข้อมูล NCBI พบว่า นิวคลีโอไทด์เริ่มตั้งแต่ตำแหน่งที่ 142 ถึง 820 โดยนิวคลีโอไทด์ที่เกิดความผันแปรทางพันธุกรรมระดับยีนแบบการแทนที่ของคู่เบส (base substitution) ทั้งหมด 41 ตำแหน่ง บางตำแหน่งเป็นการกลายที่จำเพาะในระดับชนิด 12 ตำแหน่ง นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้น (insertion) หรือการขาดหายไป (deletion) ของคู่เบส ทั้งหมด 19 ตำแหน่ง (ตาราง 3)

ตาราง 3 ตำแหน่งและชนิดของการกลายพันธุ์ของนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *matK*

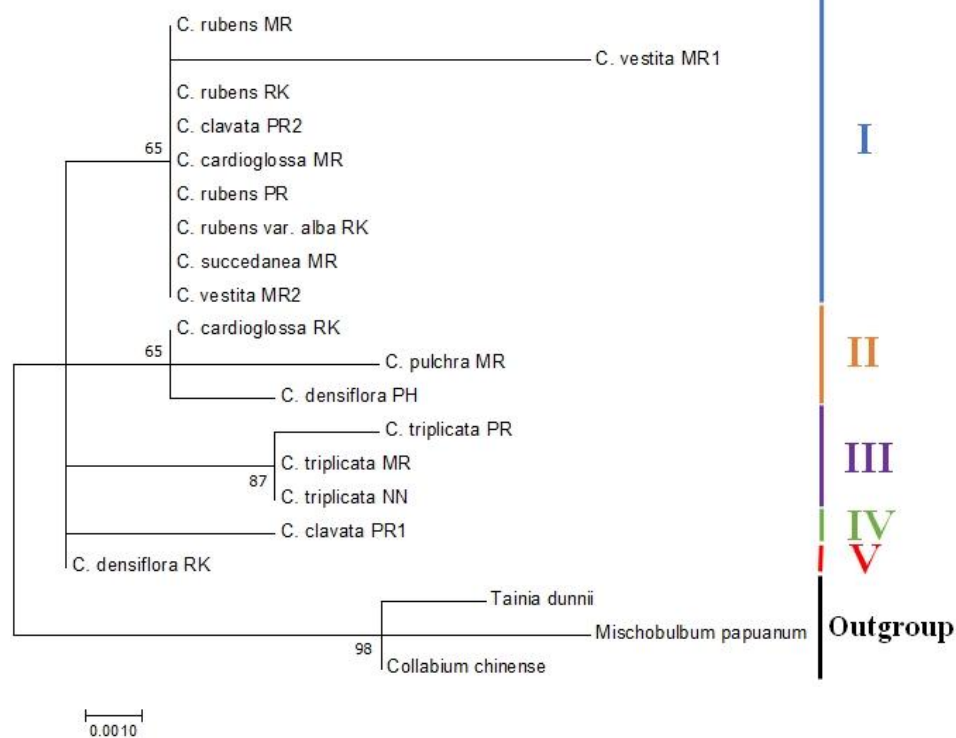
รูปแบบการกลายพันธุ์	ตำแหน่งบนลำดับนิวคลีโอไทด์
การแทนที่แบบทรานซิชัน	162, 214, 245, 292, 315, 343, 445, 499, 502, 508, 554, 574, 590, 625, 640, 651, 713, 763, 814
การแทนที่แบบทรานเวอร์ชัน	160, 174, 240, 308, 318, 324, 346, 402, 411, 413, 415, 452, 471, 580, 617, 707, 780, 803, 807
การเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไป	257-265, 270-275, 279-281

ยีน *matK* เป็นอีกบริเวณหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืชวงศ์กล้วยไม้ เนื่องจากมีอัตราการความแปรผันทางพันธุกรรมสูง และยังพบอีกว่ายีนนี้มีการแปรผันทางพันธุกรรมแบบการเพิ่มขึ้นและขาดหายไปของคู่เบสในหลายตำแหน่งอีกด้วย โดยกล้วยไม้สกุลน้ำตันพบทั้งการแทนที่แบบทรานซิชัน การแทนที่แบบทรานส์เวอร์ชัน รวมถึงการเพิ่มขึ้นหรือขาดหายไปของลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งในกล้วยไม้สกุลอื่นๆ ยีนนี้ยังพบความแปรผันที่สูงเช่นเดียวกัน อาจเนื่องมาจากเป็นยีนที่มีอัตราการวิวัฒนาการที่สูงกว่ายีนอื่น ๆ [23-25] ลำดับนิวคลีโอไทด์จึงมีประสิทธิภาพในการจำแนกและเพียงพอที่จะนำไปใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด เช่น กล้วยไม้ที่เจริญเติบโตในป่าดิบเขามีประสิทธิภาพในการจำแนกในระดับชนิดเท่ากับ 63 เปอร์เซ็นต์ และระดับสกุล 78 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* ในการจำแนกในระดับชนิดเท่ากับ 29 เปอร์เซ็นต์ และระดับสกุล 36 เปอร์เซ็นต์ [26] เช่นเดียวกับกล้วยไม้ใกล้สกุล *Paphiopedilum* ยีน *matK* สามารถจำแนกในระดับชนิด 64 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ายีน *rbcl* (9 เปอร์เซ็นต์), ITS (55 เปอร์เซ็นต์), *atpF-atpH* และ *trnH-psbA* (25 เปอร์เซ็นต์) [16] ดังนั้น *matK* จึงยังถูกนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์และการจำแนกในระดับชนิด รวมถึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดอีกด้วย

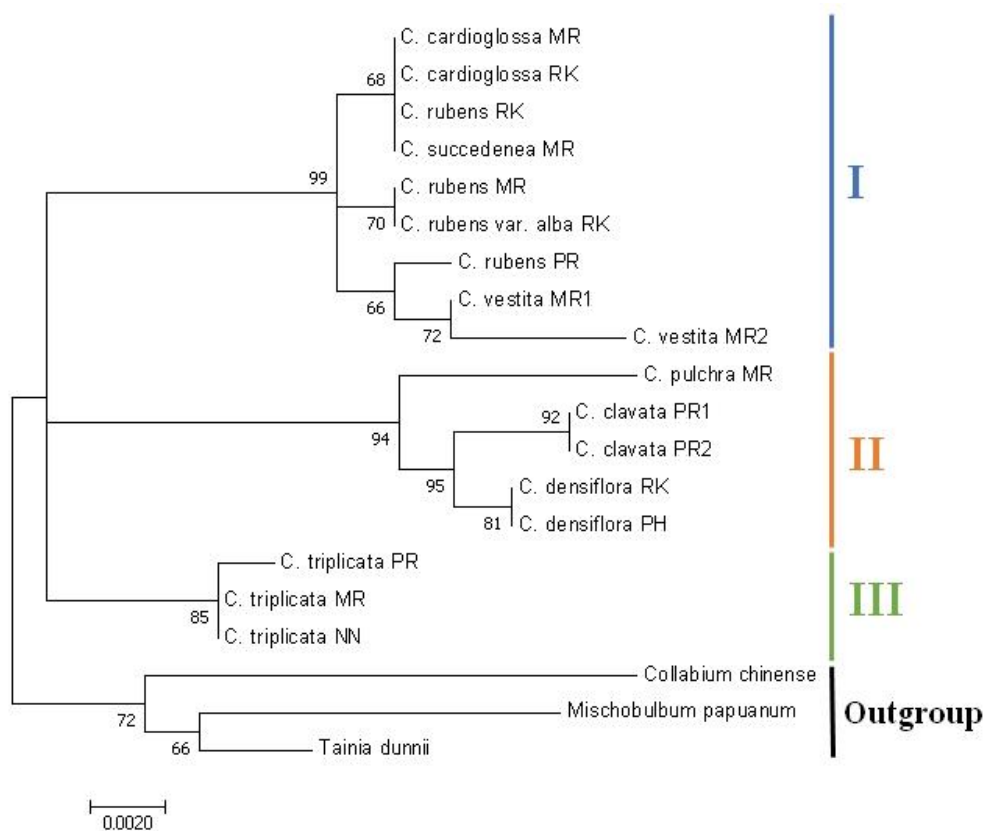
3.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน

เมื่อพิจารณาแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน *rbcl* และ *matK* ในกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันทั้ง 17 ชนิด ด้วยเงื่อนไข maximum likelihood พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* สามารถแบ่งกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันออกเป็น 5 กลุ่ม มีเพียง 1 ชนิด ที่สามารถแยกออกจากกล้วยไม้ในสกุลเอื้องน้ำตันได้ คือ *C. triplicata* ประกอบด้วย 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างที่เก็บจากอำเภอภูเรือ จังหวัดเลย (PR), สวนพฤกษศาสตร์ จังหวัดเชียงใหม่ (MR) และอำเภอห้วยนาหวา จังหวัดเพชรบูรณ์ (NN) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวและแยกออกจากชนิดอื่นอย่างชัดเจน ในขณะที่อีก 7 ชนิด ทั้งหมด 13 ตัวอย่าง ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ในระดับชนิด โดยถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 1, 2, 4 และ 5 (ภาพ 2)

ในขณะที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน *matK* สามารถแบ่งกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตันออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 ชนิด แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย โดยกลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วย *C. cardioglossa* (MR และ RK), *C. rubens* RK และ *C. succedanea* MR กลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วย *C. rubens* MR และ *C. rubens* var. *alba* RK และกลุ่มย่อยที่ 3 ประกอบด้วย *C. rubens* PR และ *C. vestita* (MR1 และ MR2) กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 3 ชนิด คือ *C. pulchra* (MR), *C. clavata* (PR1 และ PR2) และ *C. densiflora* (PH และ RK) และกลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มของ *C. triplicata* (PR, MR และ NN) (ภาพ 3)



ภาพ 2 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* มาจัดกลุ่มแบบ Maximum likelihood



ภาพ 3 แผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำตัน โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *matK*

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำต้นด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และ *matK* พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *matK* สามารถแยกกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำต้นออกเป็น 3 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากงานวิจัยของ Zhai และคณะ กล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำต้นกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 คือ *Preptanthe*, *Styloglossum* และ *Calanthe* ตามลำดับ โดยกล้วยไม้ในกลุ่ม *Preptanthe* มีลักษณะเด่น คือ จะทิ้งใบในฤดูแล้ง ลำลูกกล้วยมีลักษณะอวบและมีขนาดใหญ่ ส่วนกล้วยไม้ในกลุ่ม *Styloglossum* มีลักษณะที่คล้ายกัน คือ floral bract ไม่ติดทนนาน กลีบดอกและกลีบเลี้ยงบานออกเล็กน้อย และมีช่อดอกที่เกิดบริเวณด้านบนของลำลูกกล้วย และสำหรับกล้วยไม้กลุ่ม *Calanthe* มีลักษณะแตกต่างจากอีกสองกลุ่ม คือ floral bract ติดทน [3] นอกจากนี้ยังพบว่ากล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำต้น 3 ชนิด คือ *C. cardioglossa*, *C. rubens*, *C. rubens* var. *alba*, *C. succedanea* และ *C. vestita* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมาก จากลักษณะสัณฐานวิทยาของทั้ง 4 ชนิด จัดอยู่ในสกุลย่อย *Preptanthe* มีลักษณะเด่น คือ ลำต้นมีลักษณะเป็นแบบลำลูกกล้วย (pseudobulb) อวบน้ำ มีขนาดใหญ่ เป็นรูปไข่หรือทรงกรวย ผลัดใบในฤดูแล้ง กลีบเลี้ยงมีขนนุ่ม และมีลักษณะ column wing ไม่เชื่อมกับกลีบปาก [3,27] ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลทางพันธุกรรมจากบริเวณในนิวเคลียสและคลอโรพลาสต์ที่จัด *C. cardioglossa* และ *C. rubens* อยู่ในสกุลย่อยเดียวกัน [3] นอกจากนี้การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคเอสอาร์เอฟจีจี *C. rubens* และ *C. succedanea* อยู่ด้วยกัน แต่ *C. cardioglossa* ถูกแยกออกจากทั้งสองชนิด [6] อาจเนื่องมาจากข้อมูลของเทคนิคเอสอาร์เอฟจีจีส่วนใหญ่มาจากดีเอ็นเอในนิวเคลียส จึงให้ผลที่แตกต่างจากข้อมูลสัณฐานวิทยาและข้อมูลการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ในนิวเคลียสร่วมกับคลอโรพลาสต์ [6,28] ส่วน *C. vestita*, *C. pulchra*, *C. densiflora*, *C. clavata* และ *C. triplicata* สามารถจำแนกได้ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *matK* ซึ่งแตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ที่จำแนกได้เฉพาะ *C. triplicata* เท่านั้น ในการจำแนกระดับชนิดข้อมูลที่ใช้รวมมีความแปรผันทางพันธุกรรมภายในชนิดต่ำและมีความแปรผันในระดับชนิดสูง [5,7,29] การใช้ยีน *matK* ร่วมกับยีน *rbcL* ที่ถูกเสนอเป็น core barcode สำหรับพืช [13] อาจไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำต้นเนื่องจากยีน *matK* มีประสิทธิภาพในการจำแนกได้ต่ำกว่ายีน *rbcL* เมื่อนำมาใช้ร่วมกันอาจลดประสิทธิภาพการจำแนกลง ในกล้วยไม้บางสกุลส่งผลให้ประสิทธิภาพในการจำแนกลดลงถึง 9 เปอร์เซ็นต์ [16] ดังนั้นยีน *matK* จึงมีประสิทธิภาพเป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดได้ดีกว่าการใช้ร่วมกับยีน *rbcL* หรือยีน *rbcL* เพียงยีนเดียว

จากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และ *matK* ยังไม่เพียงพอที่จะจำแนก *C. cardioglossa*, *C. rubens*, *C. rubens* var. *alba* และ *C. succedanea* ได้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการจำแนกในระดับชนิดอาจวิเคราะห์บริเวณอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ในนิวเคลียสและเป็นบริเวณระหว่างยีน มีอัตราการแทนที่ของเบสสูง [15,30,31,33] ส่งผลให้ความแปรผันทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง มีประสิทธิภาพการจำแนกกล้วยไม้ในหลายสกุล [15,32] ดังตัวอย่างเช่น Chen และคณะ [12] ศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด 4 บริเวณ (ITS, *matK*, *rbcL* และ *trnH-psbA*) ในกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* บริเวณระหว่างยีน ITS มีความแปรผันทางพันธุกรรมสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 11.2 เปอร์เซ็นต์ หรือในสกุล *Vanda* เป็นอีกสกุลหนึ่งที่มีความแปรผันทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS สูง โดยสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ยีน *matK* และ *rbcL* มีความแปรผันทางพันธุกรรมเพียง 2 เปอร์เซ็นต์ [33] หรือในสกุล *Dendrobium* ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS มีประสิทธิภาพในการจำแนกได้ต่ำกว่าบริเวณอื่น ๆ [10] หรือในสกุล *Coelogyne* ที่ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS มีประสิทธิภาพในการจำแนกกล้วยไม้ 17 ชนิด ได้ดีกว่ายีน *matK*, *rbcL* และ *rpoC1* [14] นอกจากนี้การศึกษาการจำแนกชนิดของกล้วยไม้บนภูเขาในประเทศกรีซ และกล้วยไม้ที่มีสรรพคุณทางยา ยังแนะนำให้ใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ร่วมกับยีน *matK* อีกด้วย [8,34]

4. สรุปผลการทดลอง

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* และ *matK* ในกล้วยไม้สกุลเอื้องน้ำต้นในประเทศไทย ทั้งหมด 8 ชนิด จำนวน 17 ตัวอย่าง พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *matK* มีความแปรผันทางพันธุกรรมและรูปแบบการกลายที่สูงกว่ายีน *rbcL* โดยพบทั้งความแปรผันทางพันธุกรรมแบบการแทนที่และการเพิ่มขึ้นและการขาดหายไปของลำดับนิวคลีโอไทด์ เมื่อนำมาสร้างแผนภูมิทางพันธุกรรมสามารถแยกกล้วยไม้ในสกุลย่อย *Preptanthe* ออกจากสกุลย่อย *Calanthe* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่ายีน *matK* สามารถจำแนกกล้วยไม้ได้ 5 ชนิด ส่วนกล้วยไม้อีก 3 ชนิด การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณอื่น ๆ เพิ่มเติม อาจช่วยเพิ่มข้อมูลความแปรผันทางพันธุกรรมเพื่อนำมาใช้ในการจำแนกได้

กิตติกรรมประกาศ: ขอขอบพระคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้การเอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย และงานวิจัยนี้สำเร็จล่วงไปได้ด้วยดีต้องขอขอบคุณ คุณสุรินทร์ ปิยะโชคณากุล คุณอนุพันธ์ กงบังเกิด และคุณทัศนัย ปัญจันสิงห์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างและข้อมูลประกอบการทำงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Christenhusz MJ, Fay MF, Chase MW (2017) Plants of the World: An Illustrated Encyclopedia of Vascular Plants. University of Chicago Press, Chicago, USA.
2. Pedersen H, Kurzweil H, Suddee S, Vogel EF, Cribb P, Chantanaorrapimt S, Watthana S, Gale S, Seelanan T, Suwanphakdee C (2014) Flora of Thailand: Orchidaceae 2 (Epidendroideae P.P: Neottieae, Tropideae, Nervilieae, Gastrodieae, Thaieae, Calypsoeae, Arethuseae, Collabieae, Cymbidieae), Vol 12, Part 2, Forest Herbarium, Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. Bangkok, Thailand.
3. Zhai J-W, Zhang G-Q, Li L, Wang M, Chen L-J, Chung S-W, Rodríguez FJ, Francisco-Ortega J, Lan S-R, Xing F-W, Liu Z-J (2014) A new phylogenetic analysis sheds new light on the relationships in the *Calanthe alliance* (Orchidaceae) in China. *Mol Phylogenet Evol* 77:216-222.
4. Guo Y-Y, Huang L-Q, Liu Z-J, Wang X-Q (2016) Promise and Challenge of DNA Barcoding in Venus Slipper (*Paphiopedilum*). *PLOS ONE* 11(1):1-13.
5. Ho VT, Tran TKP, Vu TTT, Widiarsih S (2021) Comparison of *matK* and *rbcl* DNA barcodes for genetic classification of jewel orchid accessions in Vietnam. *J Genet Eng & Biotechnol* 19(93):1-8.
6. Nutthapornnitchakul S, Peyachoknagul S, Sangin P, Kongbungkerd A, Punjansing T, Nakkuntod M (2019) Genetic relationship of orchids in the *Calanthe* group based on sequence-related amplified polymorphism markers and development of sequence-characterized amplified regions markers for some genus/species identification. *Agr Nat Resour* 53:340-347.
7. Rajaram MC, Yong CSY, Gansau JA, Go R (2019) DNA Barcoding of Endangered *Paphiopedilum* species (Orchidaceae) of Peninsular Malaysia. *Phytotaxa* 387(2):94-104.
8. Raskoti BB, Ale R (2021) DNA barcoding of medicinal orchids in Asia. *Sci Rep* 11:1-11.
9. Li H, Xiao W, Tong T, Li Y, Zhang M, Lin X, Zou X, Wu Q, Guo X (2021) The specific DNA barcodes based on chloroplast genes for species identification of Orchidaceae plants. *Sci Rep* 11:1-15.
10. Mahadani P, Chakrabarti S, Pal R, Jain SK, Sevanthi AM (2022) Application of DNA barcoding tool for authentication of traditionally important medicinal *Dendrobium* (Orchidaceae) species from Sikkim Himalaya. *S Afr J Bot* 146:905-911.
11. Cahyaningsih R, Compton LJ, Rahayu S, Magos Brehm J, Maxted N (2022) DNA Barcoding Medicinal Plant Species from Indonesia. *Plants* 11:2-22.
12. Chen Z, Gao L, Wang H, Feng S (2024) Molecular identification and phylogenetic analysis of *Cymbidium* species (Orchidaceae) based on the potential DNA barcodes *matK*, *rbcl*, *psbA-trnH*, and internal transcribed spacer. *J Agron* 14:1-16.
13. Hollingsworth PM, Forrest LL, Spouge JL, Hajibabaei M, Ratnasingham S, van der Bank M, Chase MW, Cowan RS, Erickson DL, Fazekas AJ, Graham SW, James KE, Kim K-J, Kress WJ, Schneider H, van AlphenStahl J, Barrett SCH, van den Berg C, Bogarin D, Burgess KS, Cameron KM, Carine M, Chacón J, Clark A, Clarkson JJ, Conrad F, Devey DS, Ford CS, Hedderson TAJ, Hollingsworth ML, Husband BC, Kelly LJ, Kesanakurti PR, Kim JS, Kim Y-D, Lahaye R, Lee H-L, Long DG, Madriñán S, Maurin O, Meusnier I, Newmaster SG, Park C-W, Percy DM, Petersen G, Richardson JE, Salazar GA, Savolainen V, Seberg O, Wilkinson MJ, Yi D-K, Little DP (2009) A DNA barcode for land plants, pp. 12794-12797. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*.
14. Pratiwi A, Kinasih A, Meidianing MI, Kurniawan FY, Semiarti E (2023) In Silico Approach for DNA Barcoding using Phylogenetic Analysis of *Coelogyne* spp. based on the *matK*, *rpoC1*, *rbcl* and nrDNA Markers. *J Trop Biodivers Biotechnol* 8(3):1-14.
15. Srivastava D, Manjunath K (2020) DNA Barcoding of Endemic and Endangered Orchids of India: A Molecular Method of Species Identification. *Pharmacogn Mag* 16:S290-S299.
16. Karbarz M, Szlachikowska D, Zapał A, Lesko A (2024) Unlocking the Genetic Identity of Endangered Paphiopedilum Orchids: A DNA Barcoding Approach. *Genes* 15:1-13.
17. Doyle J, Doyle J (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19:11-15.
18. Fay MF, Swensen SM, Chase MW (1997) Taxonomic Affinities of *Medusagyne oppositifolia* (Medusagynaceae). *Kew Bull* 52(1):111-120.
19. Srikulnath K, Sawasdichai S, Jantapanon T, Pongtongkam P, Peyachoknagul S (2015) Phylogenetic relationship of *Dendrobium* species in Thailand inferred from chloroplast *matK* gene and nuclear rDNA ITS region. *J Hortic* 84(3):243-252.
20. Nicholas KB, Nicholas HB, Deerfield II DW (1997) GeneDoc: analysis and visualization of genetic variation. *EMBNET news* 4:1-4.
21. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997) The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res Spec Publ* 25(24):4876-4882.
22. Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 33(7):1870-1874.
23. Vu THT, Le TL, Nguyen TK, Tran DD, Tran HD (2017) Review of molecular markers for identification of orchids. *Vietnam J Sci Technol* 59:62-75.
24. Parveen I, Singh HK, Malik S, Raghuvanshi S, Babbar SB (2017) Evaluating five different loci (*rbcl*, *rpoB*, *rpoC1*, *matK*, and ITS) for DNA barcoding of Indian orchids. *Genome* 60:665-671.
25. Amandita F, Rembold K, Vornam B, Rahayu S, Siregar IZ, Kreft H, Finkeldey R (2019) DNA barcoding of flowering plants in Sumatra, Indonesia. *Ecol Evol* 9:1858-1868.
26. Worthy SJ, Bucalo K, Perry E, Reynolds A, Cruse-Sanders J, Pérez AJ, Burgess SK (2022) Ability of *rbcl* and *matK* DNA barcodes to discriminate between montane forest orchids. *Plant Syst Evol* 308:1-9.
27. Kurzweil H (2010) A precursory study of the *Calanthe* group (Orchidaceae) in Thailand. *Adansonia* 32(1):57-107.
28. Li G, Quiros CF (2001) Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: Its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theor Appl Genet* 103:455-461.
29. Chapple DG, Ritchie PA (2013) A retrospective approach to testing the DNA barcoding method. *PloS One* 8(11):1-12.

30. Xu S, Li D, Li J, Xiang X, Jin W, Huang W, Jin X, Huang L (2015) Evaluation of the DNA Barcodes in *Dendrobium* (Orchidaceae) from Mainland Asia. PLoS One 10(1):1-12
31. Zhang D, Jiang B, Duan L, Zhou N (2016) Internal transcribed spacer (ITS), an ideal DNA barcode for species discrimination in *Crawfordia* wall. (Gentianaceae). Afr J Tradit Complement Altern Med 13:101-6.
32. Chattopadhyay P, Banerjee G, Banerjee N (2017) Distinguishing orchid species by DNA barcoding: increasing the resolution of population studies in plant biology. Int J Integr Biol 21:711–720.
33. Almontero CC, Lalusin AG, Diaz MGQ, Ocampo ETM, Gentallan Jr RP, Rojas SM (2024) DNA Barcoding of 11 Endemic *Vanda* Species of the Philippines Based on *rbcL*, *matK*, and ITS Sequences. Philipp J Sci 153(5):1783-1800.
34. Tsaballa A, Kelesidis G, Kringas N, Sarropoulou V, Bagatzounis P, Grigoriadou K (2023) Taxonomic Identification and Molecular DNA Barcoding of Collected Wild-Growing Orchids Used Traditionally for Salep Production. Plants 12:2-14.

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชผักพื้นบ้านภาคใต้ของไทย

Bioactivity screening of Southern Thai indigenous vegetables

คณิศร นวลเต็ม¹, สรัญญา วัชรโรทัย¹, สุตสาวิณี ดวงศรีไสย์^{1,*}

Kanison Nualtem¹, Srunya Vajrodaya¹, Sutsawat Duangsrisai^{1,*}

¹ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

¹ Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University

*Correspondence: fscissw@ku.ac.th

บทคัดย่อ: ภาคใต้ของประเทศไทยมีการบริโภคพืชผักพื้นบ้านที่อุดมไปด้วยคุณประโยชน์อย่างแพร่หลาย แต่ยังคงขาดการศึกษาที่ยืนยันสรรพคุณของพืชผักเหล่านี้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH FRAP และ ABTS ฤทธิ์ต้านเบาหวานโดยการยับยั้งเอนไซม์ α -glucosidase และ α -amylase รวมถึงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในพืชผักพื้นบ้านภาคใต้ของไทยจำนวน 14 ชนิด พบว่าพืชที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ กระโดน มะม่วงหิมพานต์ มันปู ตำมั่ง หมุยและเนียง พืชที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระปานกลาง ได้แก่ ขี้เหล็ก เสม็ดชุน ดาหลาและผักกาดนกเขา ส่วนพืชที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ ได้แก่ มะเขือพวง สะตอ บอนคูณและเหริ่ง ในขณะที่พืชที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวานสูง ได้แก่ กระโดน มะม่วงหิมพานต์ ดาหลาและตำมั่ง พืชที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวานปานกลาง ได้แก่ มันปู เสม็ดชุน ขี้เหล็ก หมุยและผักกาดนกเขา ส่วนพืชที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวานต่ำ ได้แก่ มะเขือพวง สะตอ บอนคูณ เนียงและเหริ่ง ซึ่งจะใช้เป็นข้อมูลยืนยันสรรพคุณและใช้ประโยชน์พืชผักพื้นบ้านภาคใต้ของไทยในด้านอื่น ๆ ต่อไป

คำสำคัญ: พืชผักพื้นบ้าน, สารต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านเบาหวาน,

Abstract: The southern region of Thailand has a widespread consumption of indigenous vegetables that are rich in benefits, but there is a lack of studies to confirm the properties of these vegetables. Therefore, the objective of this research is to focus on studying the antioxidant activity using DPPH, FRAP, and ABTS assays, antidiabetic activity through the inhibition of α -glucosidase and α -amylase enzymes, in addition to evaluating the total phenolic and total flavonoid content of 14 species of indigenous vegetables from southern Thailand. The study found that plants with high antioxidant activity included *Careya arborea*, *Anacardium occidentale*, *Phyllanthus littoralis*, *Litsea elliptica*, *Bergera koenigii*, and *Archidendron jiringa*. Plants with moderate antioxidant activity included *Senna siamea*, *Syzygium antisepticum*, *Etlingera elatior*, and *Emilia sonchifolia*. Plants with low antioxidant activity were *Solanum torvum*, *Parkia speciosa*, *Leucocasia gigantea*, and *Parkia timoriana*. For antidiabetic activity, plants with high potential included *C. arborea*, *A. occidentale*, *E. Elatior*, and *L. elliptica*. Those with moderate activity included *P. littoralis*, *S. antisepticum*, *S. siamea*, *B. koenigii*, and *E. sonchifolia*. Plants with low antidiabetic activity were *S. torvum*, *P. speciosa*, *L. gigantea*, *A. jiringa*, and *P. timoriana*. This information confirms their properties and expands the use of local southern Thai vegetables for various purposes.

Keywords: local vegetable, antioxidant, antidiabetic

1. Introduction

Thailand is located in a tropical region with high annual rainfall and humidity, especially in the southern part of the country. This climate contributes to a great diversity of plant species, many of which are consumed as food, either cooked or fresh, and used as traditional medicine to treat various diseases such as diabetes, skin diseases, and hypertension [1]. Studies have shown that southern Thai indigenous vegetables are a rich source of phytochemicals with promising properties, including antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities [2,3]. Therefore, consuming these vegetables may serve as an alternative approach to preventing and reducing the risk of diseases and other health disorders.

Diabetes mellitus is a widespread non-communicable disease affecting over 830 million people globally, with cases continually rising. It results from disruptions in insulin production, secretion, or function, leading to hyperglycemia [4,5]. This condition generates excessive free radicals, particularly reactive oxygen species (ROS) [6], which intensify oxidative stress, causing vascular complications such as retinopathy, nephropathy, and cardiovascular diseases. Oxidative stress also impairs beta-cell function and promotes insulin resistance [7,8], worsening the progression of diabetes. Current treatments include oral hypoglycemic drugs like acarbose, miglitol, and voglibose, which inhibit carbohydrate-digesting enzymes to reduce postprandial hyperglycemia [9]. However, these drugs often cause side effects like flatulence, diarrhea, and abdominal discomfort, and some patients develop resistance [10]. Thus, the search for natural enzyme inhibitors and antioxidants remains crucial for developing safer and more effective diabetes treatments. Since previous reports have indicated that various plants possess blood sugar-lowering and antioxidant properties, this has led to the rationale for conducting the present study.

This research aims to investigate the bioactive compounds, antioxidant activities, and enzyme inhibitory effects related to diabetes in 14 selected indigenous vegetables from southern Thailand. These include *Leucocasia gigantea*, *Anacardium occidentale*, *Phyllanthus littoralis*, *Litsea elliptica*, *Careya arborea*, *Syzygium antisepticum*, *Emilia sonchifolia*, *Bergera koenigii*, *Senna siamea*, *Archidendron jiringa*, *Parkia speciosa*, *Parkia timoriana*, *Solanum torvum*, and *Etlingera elatior*. The findings will help validate the health benefits of these vegetables, promote their consumption, and provide a foundation data for further applications in disease prevention, treatment, or product development.

2. Material and Methods

2.1. Collection of plant material

Fourteen types of popular Southern Thai indigenous vegetables were collected from the same location in Phatthalung Province, Thailand, in June 2023. The plant was identified to the species level by morphological characters. All samples were cleaned and trimmed to retain only the edible portions before extraction. The description, scientific names, Thai common names, and parts used of these vegetables are provided in Figure 1.

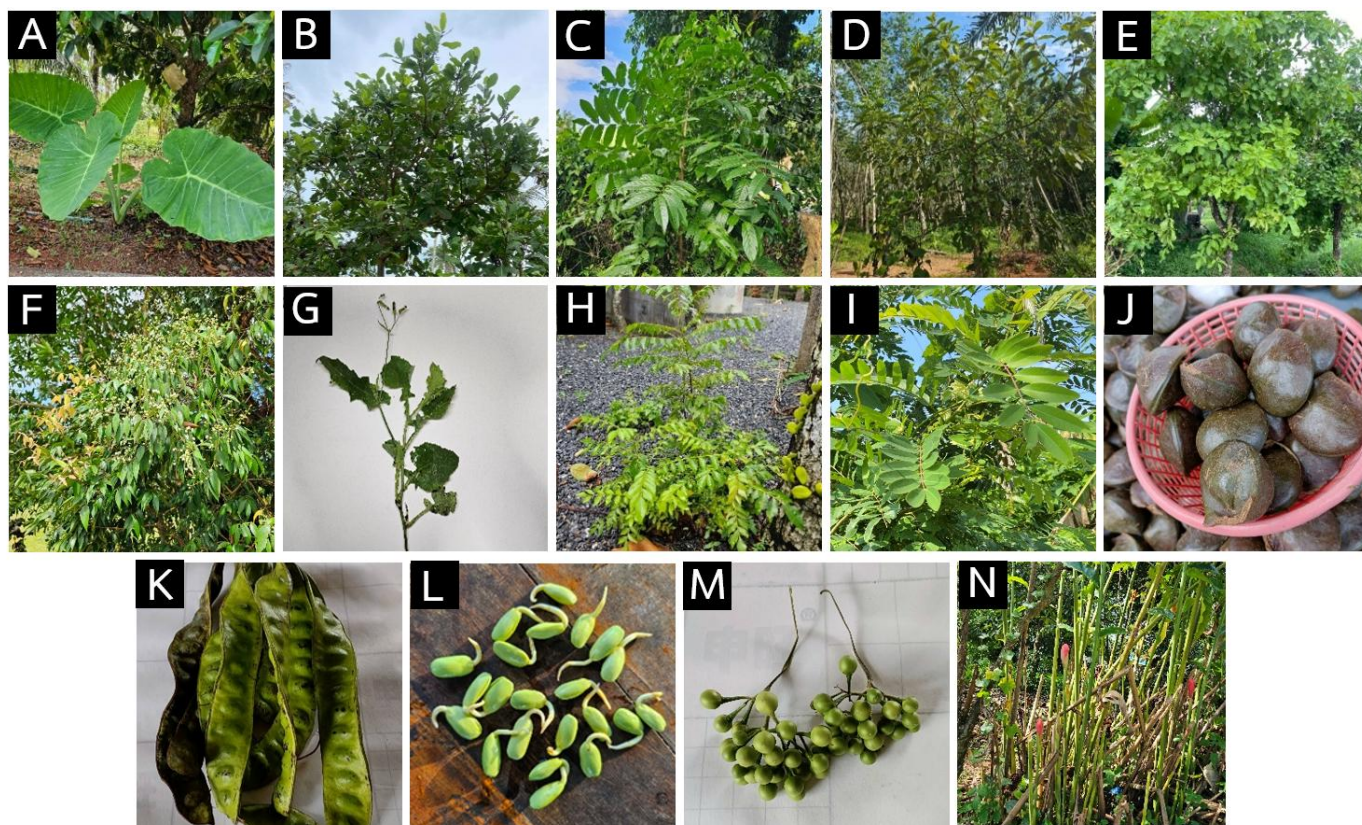


Figure 1 Description of fourteen plant material; (A) *Leucocasia gigantea* (Bonkoon, Petiole), (B) *Anacardium occidentale* (Mamuang Himapan; Leaves), (C) *Phyllanthus littoralis* (Manpu; Leaves), (D) *Litsea elliptica* (Tammang; Leaves), (E) *Careya arborea* (Kradon; Leaves), (F) *Syzygium antisepticum* (Samet Chun; Leaves), (G) *Emilia sonchifolia* (Phakkad Nok Khao; Leaves), (H) *Bergera koenigii* (Mui; Leaves), (I) *Senna siamea* (Khelek; Leaves), (J) *Archidendron jiringa* (Nieng; Seed), (K) *Parkia speciosa* (Sato; Seed), (L) *Parkia timoriana* (Rieng; Seed), (M) *Solanum torvum* (Makhuea Phuang; Fruit), and (N) *Etlingera elatior* (Dahla; Flower).

2.2. Preparation of crude extract

All plant samples were dried at room temperature until completely dry. Then, they were ground into powder using a mechanical grinder and macerated with ethanol at a ratio of 1:10 at room temperature for 7 days. The extracts were filtered through Whatman No. 1 filter paper, evaporated at 45 °C using a rotary evaporator model R-300 (Büchi Rotavapor®, India), and stored at -20 °C in the dark.

2.3. Evaluation of phenolic and flavonoid compounds

Total phenolic content

The total phenolic content (TPC) was determined using the Folin-Ciocalteu's method, modified from Blainski et al. Briefly, 25 µL of each extract was mixed with 125 µL of 0.2 N Folin-Ciocalteu's reagent in a 96-well plate and incubated for 5 minutes. Subsequently, 100 µL of 10% sodium carbonate was added to the mixture. The reaction was then incubated in the dark at 25°C for 60 minutes, and the absorbance was measured at 765 nm using a microplate reader. The results were expressed as milligrams of gallic acid equivalents per gram of sample (mg GAE/g).

Total flavonoid content

The total flavonoid content (TFC) was determined using a modified aluminum chloride colorimetric method based on Molole et al. In summary, 100 µL of the extract was mixed with 100 µL of a 2% aluminum chloride solution in a 96-well plate. The mixture was then incubated for 15 minutes at room temperature, and the absorbance was measured at 415 nm using a microplate reader. The results were presented as milligrams of quercetin equivalents per gram of sample (mg QE/g).

2.4. Determination of antioxidant activity

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

The 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay was assessed with modifications based on Gen et al. In brief, 90 µL of the extract was combined with 150 µL of 0.1 mM methanolic DPPH solution and 150 µL of the extract in a 96-well plate. The control reaction consisted of 150 µL of methanol mixed with 150 µL of methanolic DPPH solution in a 96-well plate. The mixtures were then incubated in the dark at room temperature for 30 minutes, and the absorbance was measured at a wavelength of 520 nm using a microplate reader. The inhibition percentage is calculated based on the absorbance using the following equation.

$$\%inhibition = \frac{(Absorbance_{control} - (Absorbance_{sample}))}{Absorbance_{control}} * 100 \quad \text{Equation 1}$$

The result was reported as the concentration of the extract that scavenges 50% of the oxidant, or IC₅₀. The IC₅₀ value was calculated by plotting the inhibition percentage against the plant sample concentration.

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay was determined following Iqbal et al. The FRAP reagent was prepared by mixing a solution of 10 mM TPTZ in 40 mM HCl, acetate buffer (300 mM, pH 3.6), and 20 mM FeCl₃ in a volume ratio of 10:1:1 (v/v/v). For the reaction, 285 µL of the FRAP reagent was combined with 15 µL of the extracts. Trolox served as a standard. This mixture was then incubated in the dark at room temperature for 30 minutes. The absorbance was measured at 593 nm using a microplate reader, and the results were expressed as milligrams of Trolox equivalents per gram of sample (mg TE/g).

2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging assay

2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay was estimated with a slight modification from Thaipong et al. To prepare the ABTS radical, mixed 2.45 mM potassium persulfate (K₂S₂O₈) with 7 mM ABTS in a 1:1 (v/v) ratio and incubated the mixture at 25°C in the dark for 16 hours. For the samples, 20 µL of the extract and 180 µL of the ABTS radical were added to 96-well plates. The control was prepared by adding 20 µL of methanol and 180 µL of the ABTS radical to 96-well plates. The mixtures were incubated for 15 minutes at room temperature, after which the absorbance was measured at 734 nm using a microplate reader. The result was reported as the concentration of the extract that scavenges 50% of the oxidant, or IC₅₀.

2.5. Determination of antidiabetic activity

α-glucosidase activity

The inhibition of α-glucosidase was evaluated using Figueiredo-González et al. To prepare the assay, 100 µL of potassium phosphate buffer (10 mM, pH 6.8), 20 µL of α-glucosidase (1 U/mL), and 40 µL of the extract were mixed in a 96-well plate. The mixture was incubated for 15 minutes at 37 °C. After this incubation, 40 µL of 2 mM pNPG was added, and the mixture was incubated for an additional 15 minutes at 37 °C. Following the second incubation, 100 µL of 0.1 M

Na₂CO₃ was added to stop the reaction, and the absorbance was measured at 405 nm. A control was prepared by using the mixture without the extract. The inhibition of α -glucosidase was determined using Equation 1, and the results of the antidiabetic activity by the α -glucosidase inhibition assay were reported as the concentration of the extract that inhibits α -glucosidase by 50%, or IC₅₀.

α - amylase activity

The inhibition of α - amylase was estimated based on Figueiredo-González et al. 200 μ L of the extract and 200 μ L of a 1% starch solution were added to a microcentrifuge tube and incubated for 10 minutes at 25°C. Then, 200 μ L of α -amylase solution (0.5 mg/mL) was added, and the mixture was incubated for an additional 10 minutes at 25°C. Following this, 400 μ L of DNS reagent was added and incubated for 5 minutes at 100°C. The reactants were then cooled to 0°C for 5 minutes. Next, 50 μ L of the reactant solution and 200 μ L of deionized (DI) water were transferred to a 96-well plate. The absorbance was measured at 540 nm using a microplate reader. A control was prepared using the mixture without the extract. The inhibition of α - amylase was determined using Equation 1, and the results of the antidiabetic activity by α -amylase inhibition assay were expressed in the form of the concentration of the extract that inhibits α - amylase by 50% or IC₅₀.

2.6. Statistical analysis

All experimental data were measured in triplicates (n=3) and the results were reported as the mean value $\pm$ standard deviation (SD). Post-hoc comparisons between the extracts were conducted using Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test. P-values < 0.05 were considered statistically significant. The statistical analyses were calculated using RStudio Version 1.4.1564. (Posit PBC, USA).

3. Results and Discussion

3.1. Evaluation of phenolic and flavonoid compounds

Total phenolic contents, measured using the Folin-Ciocalteu's method and expressed as milligrams of gallic acid equivalent per gram of sample (mg GAE/g), are presented in Figure 2. *C. arborea* had the highest total phenolic content at 238.38 ± 15.04 mg GAE/g, followed by *P. littoralis* (103.08 ± 11.61 mg GAE/g) and *S. siamea* (100.61 ± 9.71 mg GAE/g). Previous studies have reported that *C. arborea* contains various phytochemicals, particularly phenolic compounds such as quercetin, ellagic acid, and tannins [18,19].

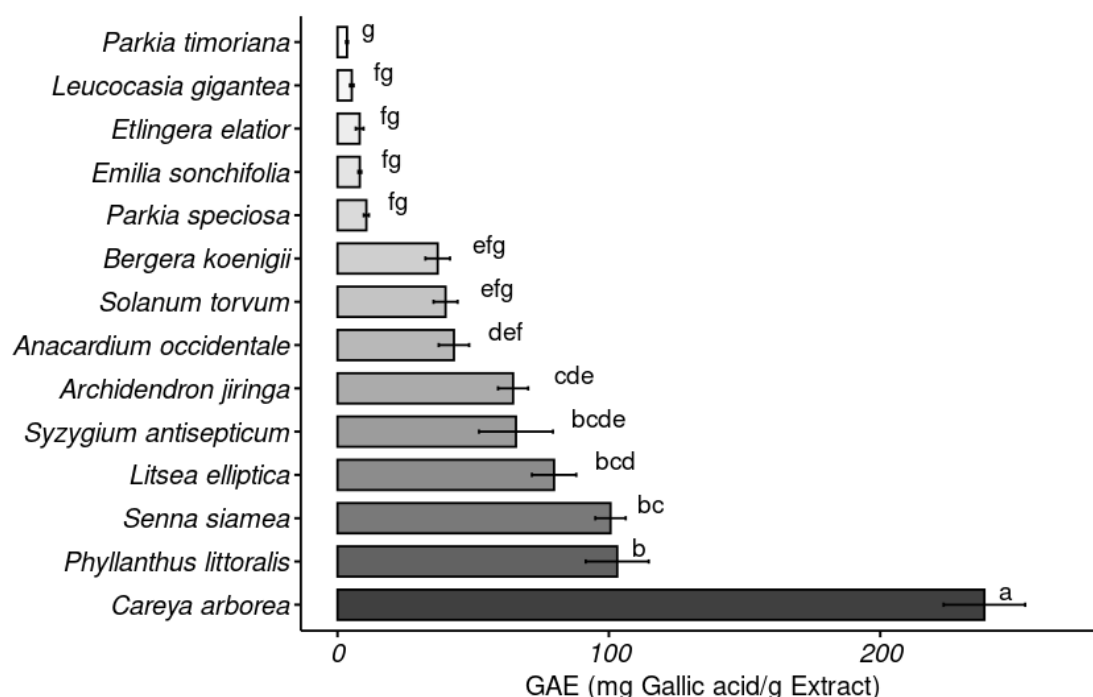


Figure 2 Total phenolic content of fourteen Southern Thai indigenous vegetables are presented as mean $\pm$ standard deviation from triplicate measurements, and superscript letters (a-g) indicate statistically significant differences as determined by the Tukey's Honestly Significant Difference test ($p < 0.05$).

Terms of total flavonoid contents were determined using the aluminum chloride method and were expressed in milligrams of quercetin equivalents per gram of sample (mg QE/g). According to Figure 3, *A. occidentale* exhibited the highest level at 23.08 ± 4.60 mg QE/g, followed by *E. sonchifolia* (14.50 ± 1.23 QE mg/g) and *S. antisepticum* (11.20 ± 1.01 QE mg/g). *P. timoriana* had the lowest total phenolic content (3.50 ± 0.36 mg GAE/g) and total flavonoid contents (0.07 ± 0.01 QE mg/g). Previous studies have shown that *A. occidentale* contains a variety of phytochemicals, particularly flavonoids such as quercetin, quercetin-3-O-rhamnoside, quercetin-3-O-rutinoside, myricetin, myricetin-3-O-rhamnoside, amentoflavone, and agathisflavone [20].

Phenolic and flavonoids are powerful antioxidants. Phenolics can neutralize free radicals, quench oxygen, and chelate metals due to their strong redox properties. Flavonoids, as polyphenolic compounds, are excellent hydrogen and electron donors, with their radicals being stable due to electron delocalization and intramolecular hydrogen bonding [21,22]. Additionally, several phenolic and flavonoid compounds have been reported to possess excellent antidiabetic

properties, such as gallic acid and kaempferol, which are commonly found in vegetables. These compounds can bind to the active site of enzymes, and their compact structure prevents substrate binding, thereby inhibiting enzyme activity [23,24].

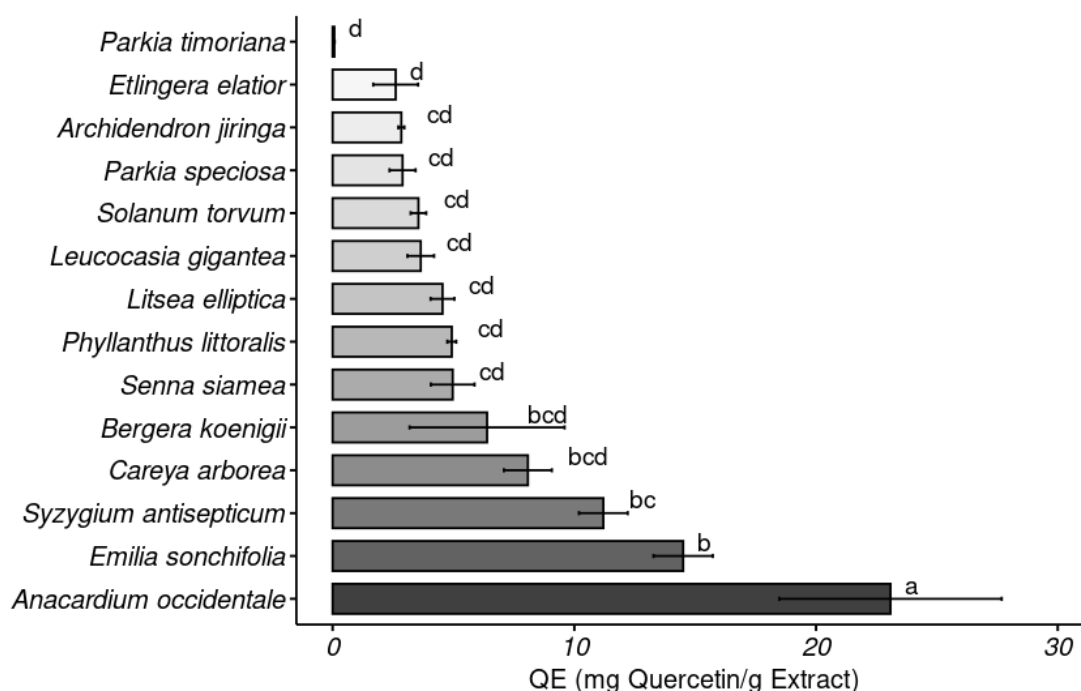


Figure 3 Total flavonoid content of fourteen Southern Thai indigenous vegetables are presented as mean $\pm$ standard deviation from triplicate measurements, and superscript letters (a-d) indicate statistically significant differences as determined by the Tukey's Honestly Significant Difference test ($p < 0.05$).

3.2. Determination of antioxidant activity

This study on the antioxidant activities of 14 selected indigenous vegetables from southern Thailand employed three different assays. Each method provides complementary information on antioxidant capacity. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay measures the ability of antioxidants to reduce ferric ions (Fe^{3+}) to ferrous ions (Fe^{2+}) under acidic conditions, producing a blue-colored complex. The results were expressed as milligrams of Trolox equivalents per gram of sample (mg TE/g), as presented in Figure 4. It was found that *C. arborea* had the highest antioxidant potential at 337.48 ± 25.48 mg TE/g, followed by *B. koenigii* (160.31 ± 12.12 mg TE/g) and *L. elliptica* (155.15 ± 28.46 mg TE/g).

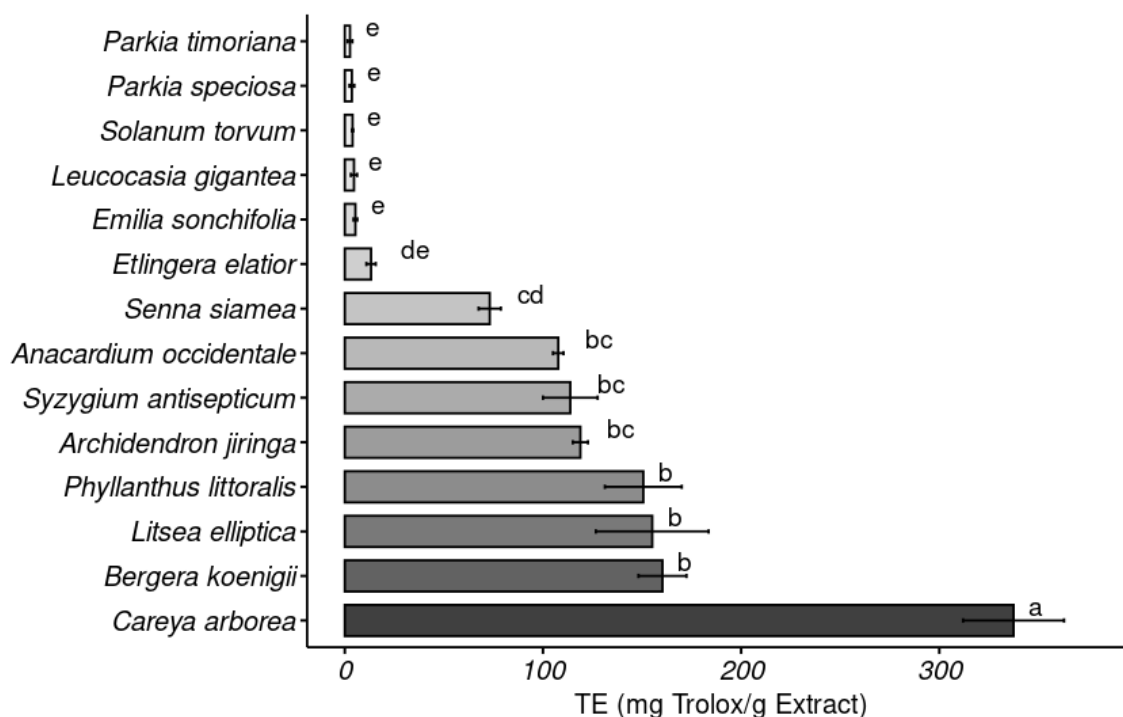


Figure 4 Antioxidant activity by FRAP assay of fourteen Southern Thai indigenous vegetables are presented as mean $\pm$ standard deviation from triplicate measurements, and superscript letters (a-e) indicate statistically significant differences as determined by the Tukey's Honestly Significant Difference test ($p < 0.05$).

The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay measures the ability of antioxidants to donate electrons or hydrogen atoms to stabilize the DPPH radical, resulting in a color change from deep violet to yellow. The result was reported as an IC_{50} value, a lower IC_{50} value demonstrates a higher antioxidant efficiency of the plant, as shown in Figure 5. It was found the highest antioxidants ability in *A. occidentale* ($IC_{50} = 0.17 \pm 0.01$ mg/ml), subsequently by *P. littoralis* ($IC_{50} = 0.19 \pm 0.02$ mg/ml) and *C. arborea* ($IC_{50} = 0.20 \pm 0.02$ mg/ml).

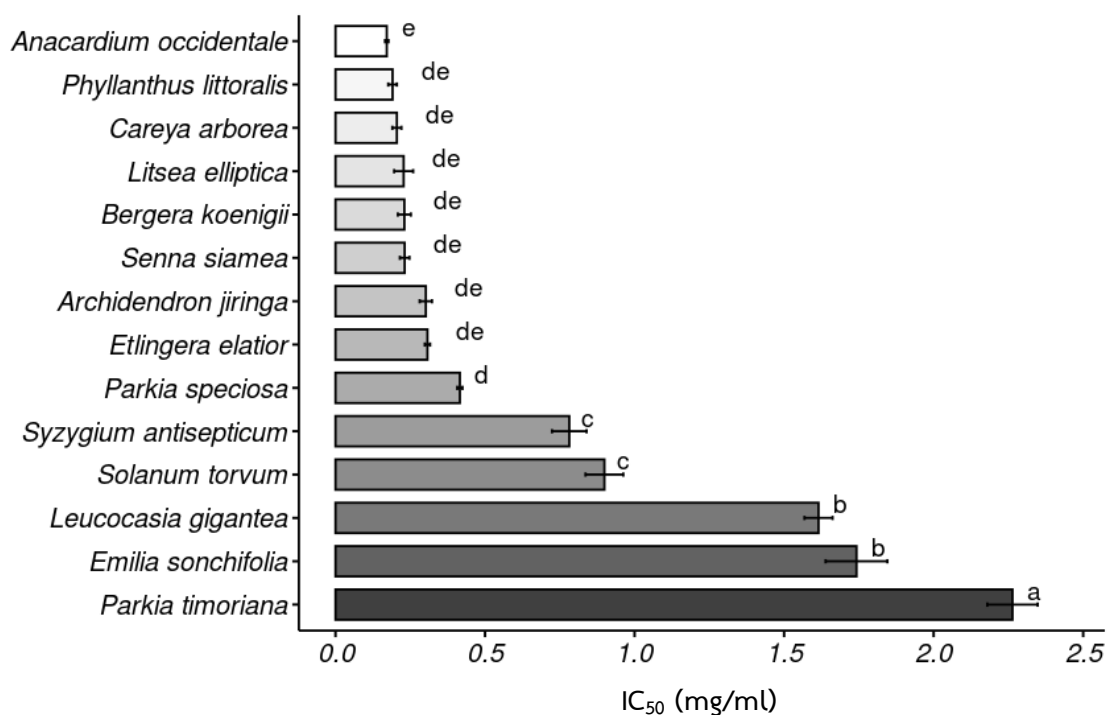


Figure 5 Antioxidant activity by DPPH assay of fourteen Southern Thai indigenous vegetables are presented as mean $\pm$ standard deviation from triplicate measurements, and superscript letters (a-e) indicate statistically significant differences as determined by the Tukey's Honestly Significant Difference test ($p < 0.05$).

The 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging assay is based on the reaction of antioxidants with the $ABTS\cdot^+$ radical, causing a color change from blue-green to colorless [25,26]. The result was expressed as an IC_{50} value, a lower IC_{50} value implies a higher antioxidant capacity of the plant, as presented in Figure 6. *C. arborea* had the highest antioxidant capacity at $IC_{50} = 0.03 \pm 0.00$ mg/ml, followed by *A. jiringa* ($IC_{50} = 0.12 \pm 0.01$ mg/ml) and *A. occidentale* ($IC_{50} = 0.14 \pm 0.01$ mg/ml).

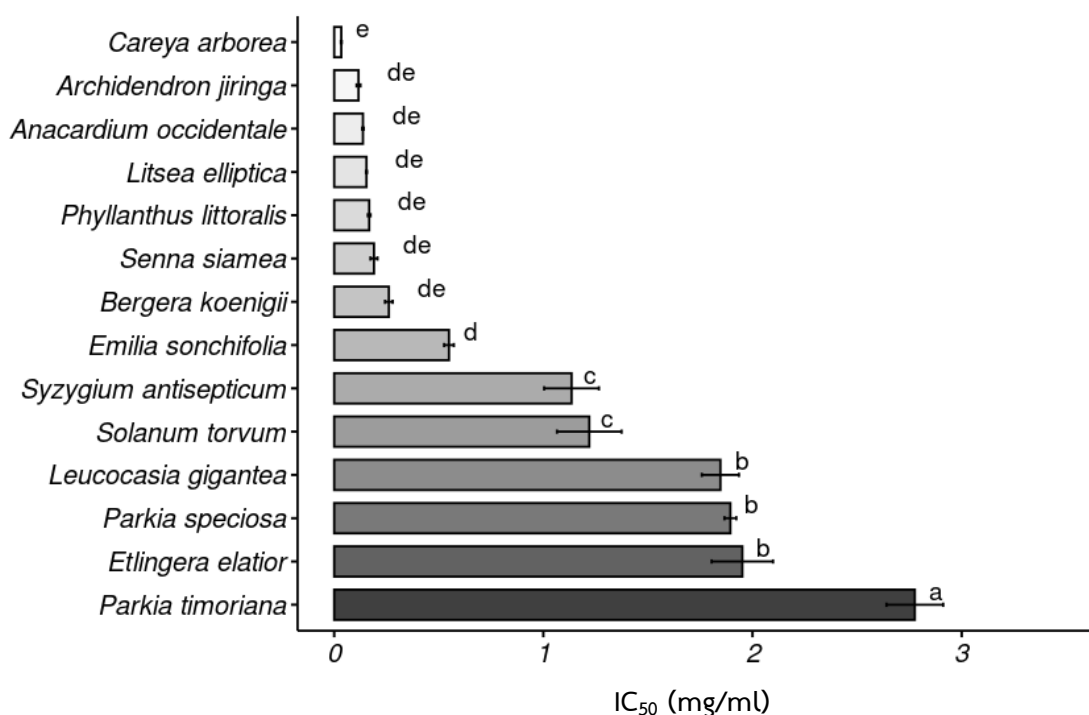


Figure 6 Antioxidant activity by ABTS assay of fourteen Southern Thai indigenous vegetables are presented as mean $\pm$ standard deviation from triplicate measurements, and superscript letters (a-e) indicate statistically significant differences as determined by the Tukey's Honestly Significant Difference test ($p < 0.05$).

This study found that several southern Thai indigenous vegetables are rich sources of phytochemicals and possess antioxidant properties, particularly Kradon (*C. arborea*), which ranked first in total phenolic content, as well as in antioxidant activity measured by the FRAP and ABTS assays, and third in antioxidant activity measured by the DPPH assay. The strong antioxidant activities in *C. arborea* may be attributed to the presence of its active compounds. *C. arborea* has been reported to contain several bioactive compounds, including ellagic acid, n-hexacosanol, taraxerol acetate, quercetin, β -sitosterol [18], hesperidin, kempferol-7-glucoside, and maslinic acid [19]. Many of these compounds have been reported to possess antioxidant activity. When compared to studies on the antioxidant activity in commonly consumed plants, *C. arborea* has shown greater antioxidant capacity than many other vegetables, such as *Brassica oleracea* (cabbage; DPPH IC₅₀ = 1.79 ± 0.06 mg/ml), *Lactuca sativa* (lettuce; DPPH IC₅₀ = 0.22 ± 0.00 mg/ml), *Cucumis sativus* (cucumber; DPPH IC₅₀ = 7.21 ± 0.24 mg/ml), and *Allium cepa* (onion; ABTS IC₅₀ = 1.14 ± 0.16 (mg/ml) [27].

3.3. Determination of antidiabetic activity

The antidiabetic activity of 14 southern Thai indigenous vegetables was studied using two popular assays, namely α -glucosidase inhibition, and α -amylase inhibition. These enzymes play a role in breaking down carbohydrates into simpler sugars, which is an essential step in the digestion and absorption of carbohydrates. Inhibiting these enzymes can help regulate blood sugar levels [28], which is beneficial in managing diabetes. The results of the antidiabetic activity by α -glucosidase inhibition assay and α -amylase inhibition assay were reported in the form of the concentration of the extract that inhibits the enzyme by 50%, or IC₅₀. A lower IC₅₀ value indicates a higher antidiabetic effect of the plant. For the α -glucosidase inhibition assay shown in Figure 7. it was found that *C. arborea* exhibited the strongest antidiabetic effect, with an IC₅₀ value of 0.70 ± 0.12 mg/ml. This was followed by *E. elatior* (IC₅₀ = 0.91 ± 0.16 mg/ml) and *A. occidentale* (IC₅₀ =

1.81±0.19 mg/ml). Similarly, in the α -amylase inhibition assay, as presented in Figure 8. *C. arborea* (IC_{50} = 0.42±0.10 mg/ml) also showed the strongest antidiabetic effect among all the plants, followed by *A. occidentale* (IC_{50} = 0.65±0.06 mg/ml) and *L. elliptica* (IC_{50} = 3.53±1.64 mg/ml).

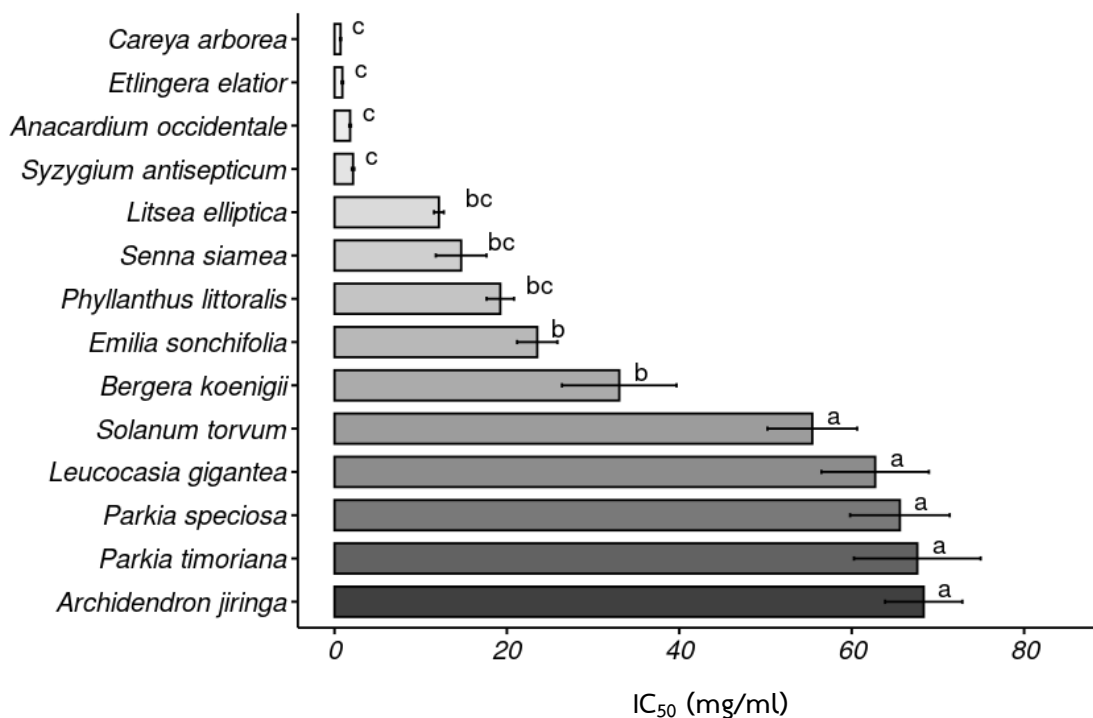


Figure 7 Antidiabetic activity by α -glucosidase inhibition assay of fourteen Southern Thai indigenous vegetables are presented as mean $\pm$ standard deviation from triplicate measurements, and superscript letters (a-c) indicate statistically significant differences as determined by the Tukey's Honestly Significant Difference test ($p < 0.05$).

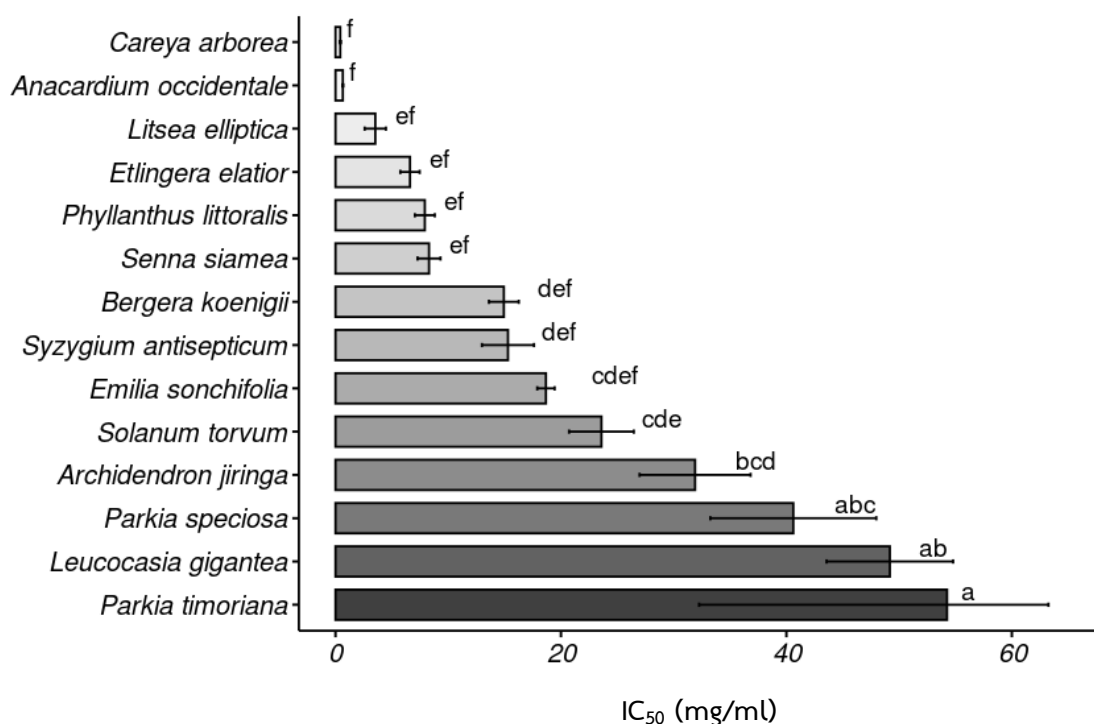


Figure 8 Antidiabetic activity by α -amylase inhibition assay of fourteen Southern Thai indigenous vegetables are presented as mean $\pm$ standard deviation from triplicate measurements, and superscript letters (a-f) indicate statistically significant differences as determined by the Tukey's Honestly Significant Difference test ($p < 0.05$).

When comparing the antidiabetic activity of Kadon (*C. arborea*) with popular consumed vegetables, it was found that *C. arborea* exhibited higher antidiabetic activity than many other plants, for instance *Brassica oleracea* (red cabbage; α -glucosidase inhibition $IC_{50} = 3.87 \pm 0.12$ mg/ml) [29], *Allium cepa* (onion; α -glucosidase inhibition $IC_{50} = 1.27$ (mg/ml) [30], and *Solanum melongena* (Bell pepper; α -amylase $IC_{50} = 2.02$ mg/ml) [31]. Previous studies indicate that hesperidin and kaempferol 7-O-glucoside, which are secondary metabolites in the chloroform *C. arborea* leaves extract, have the ability to dock with the porcine pancreatic α -amylase structure, thereby inhibiting the enzyme's activity [19]. Additionally, the methanolic extract of *C. arborea* leaves was able to reduce blood sugar levels in alloxan-induced diabetic rats [32].

The findings of this study demonstrate the potential of plant extracts in antioxidant activity and the inhibition of enzymes involved in carbohydrate metabolism. Therefore, promoting the consumption of these plants could serve as an alternative approach for preventing and managing diabetes, as well as complications arising from increased oxidative stress. However, further research is needed on their *in vivo* biological activity, absorption, and toxicity of active compounds before they can be appropriately applied.

4. Conclusions

The study focused on evaluating the phenolic and flavonoid content, as well as the antioxidant and antidiabetic activities of ethanol extracts from 14 species of indigenous vegetables from southern Thailand. It was found that several of these vegetables are significant sources of phytochemicals with good antioxidant and antidiabetic activities, especially Kadon (*C. arborea*), which exhibited the highest phenolic content, antioxidant activities via FRAP and ABTS methods, and the strongest inhibitory effects on α -glucosidase and α -amylase among all the plants studied. The results suggest that

these vegetables may serve as good dietary sources for preventing or managing complications associated with high blood glucose levels. However, this study was an *in vitro* study. It is recommended to further isolate and purify the components to enhance their biological efficacy, as well as to identify the active compounds responsible for the observed effects. Additionally, further studies at the *in vivo* level and clinical trials should be conducted to confirm the results of this study in the future.

Acknowledgements: The authors would like to acknowledge the Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, for providing the use of the instrument facilities. This work was supported by the Development and Promotion of Science and Technology Talents Project (DPST) Scholarship.

References

1. Neamsuvan, O., Singdam, P., Yingcharoen, K., & Sengnon, N. (2012). A survey of medicinal plants in mangrove and beach forests from sating Phra Peninsula, Songkhla Province, Thailand. *J Med Plants Res*, 6(12), 2421-37.
2. Kongkachuichai, R., Charoensiri, R., Yakoh, K., Kringkasemsee, A., & Insung, P. (2015). Nutrients value and antioxidant content of indigenous vegetables from Southern Thailand. *Food chemistry*, 173, 838-846.
3. Sukati, S. U. R. I. Y. A. N., & Khobjai, W. A. R. A. C. H. A. T. E. (2021). *In vitro* antiplatelet and anticoagulant activity of indigenous vegetables from Southern Thailand. *Int J Appl Pharm*, 13, 38-42.
4. World Health Organization. (2025). Diabetes. World Health Organization; World Health Organization. https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1
5. International Diabetes Federation. (2025). Diabetes around the World in 2025. IDF Diabetes Atlas; International Diabetes Federation. <https://diabetesatlas.org/>
6. Darenskaya, M. A., Kolesnikova, L. A., & Kolesnikov, S. I. (2021). Oxidative stress: pathogenetic role in diabetes mellitus and its complications and therapeutic approaches to correction. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 171(2), 179-189.
7. Caturano, A., D'Angelo, M., Mormone, A., Russo, V., Mollica, M. P., Salvatore, T., ... & Sasso, F. C. (2023). Oxidative stress in type 2 diabetes: impacts from pathogenesis to lifestyle modifications. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(8), 6651-6666.
8. Kawahito, S., Kitahata, H., & Oshita, S. (2009). Problems associated with glucose toxicity: role of hyperglycemia-induced oxidative stress. *World journal of gastroenterology: WJG*, 15(33), 4137.
9. Gong, L., Feng, D., Wang, T., Ren, Y., Liu, Y., & Wang, J. (2020). Inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: Potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia. *Food science & nutrition*, 8(12), 6320-6337.
10. Chiasson, J. L., Josse, R. G., Gomis, R., Hanefeld, M., Karasik, A., & Laakso, M. (2002). Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *The Lancet*, 359(9323), 2072-2077.
11. Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852-6865.
12. Molole, G. J., Gure, A., & Abdissa, N. (2022). Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. *BMC chemistry*, 16(1), 48.
13. Gan, R. Y., Xu, X. R., Song, F. L., Kuang, L., & Li, H. B. (2010). Antioxidant activity and total phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(22), 2438-2444.
14. Iqbal, E., Salim, K. A., & Lim, L. B. (2015). Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University-Science*, 27(3), 224-232.
15. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 669-675.
16. Figueiredo-González, M., Grosso, C., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2016). α -Glucosidase and α -amylase inhibitors from *Myrcia* spp.: a stronger alternative to acarbose?. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 118, 322-327.
17. Figueiredo-Gonzalez, M., Valentao, P., & Andrade, P. B. (2016). Tomato plant leaves: From by-products to the management of enzymes in chronic diseases. *Industrial crops and products*, 94, 621-629.
18. Gupta, R. K., Chakraborty, N. K., & Dutta, T. R. (1975). Crystalline constituents from *Careya arborea* Roxb. *Indian J Pharm*, 37(6), 161-2.
19. Kamble, R. P., Ghosh, P., & Kulkarni, A. A. (2022). Identification of α -amylase inhibitory compounds from leaves of *Careya arborea* Roxb. and *in silico* docking studies. *South african journal of botany*, 151, 493-503.
20. Chan, E. W. C., Baba, S., Chan, H. T., Kainuma, M., Inoue, T., & Wong, S. K. (2017). Ulam herbs: A review on the medicinal properties of *Anacardium occidentale* and *Barringtonia racemosa*. *Journal of applied pharmaceutical science*, 7(2), 241-247.
21. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.
22. Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013(1), 162750.

23. Huang, M., Xiao, Q., Li, Y., Ahmad, M., Tang, J., Liao, Q., & Tan, C. (2024). Inhibition of α -amylase activity by quercetin via multi-spectroscopic and molecular docking approaches. *Food Bioscience*, 61, 104951.
24. Pereira, D. F., Cazarolli, L. H., Lavado, C., Mengatto, V., Figueiredo, M. S. R. B., Guedes, A., ... & Silva, F. R. M. B. (2011). Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: potential targets for glucose homeostasis. *Nutrition*, 27(11-12), 1161-1167.
25. Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380.
26. Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709.
27. Djenidi, H., Khennouf, S., & Bouaziz, A. (2020). Antioxidant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria. *Prog. Nutr*, 22(1), 224-235.
28. Telagari, M., & Hullatti, K. (2015). In-vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Adiantum caudatum* Linn. and *Celosia argentea* Linn. extracts and fractions. *Indian journal of pharmacology*, 47(4), 425-429.
29. Podsedek, A., Majewska, I., & Kucharska, A. Z. (2017). Inhibitory potential of red cabbage against digestive enzymes linked to obesity and type 2 diabetes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(33), 7192-7199.
30. Kim, S. H., Jo, S. H., Kwon, Y. I., & Hwang, J. K. (2011). Effects of onion (*Allium cepa* L.) extract administration on intestinal α -glucosidases activities and spikes in postprandial blood glucose levels in SD rats model. *International journal of molecular sciences*, 12(6), 3757-3769.
31. Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M. C., Brunton, N., Gibney, E. R., & Lyng, J. (2021). Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review. *Food Chemistry*, 338, 128119.
32. Nanjappaiah, H. M., Patil, V. P., & Hugar, S. (2020). Evaluation of the antidiabetic activity of leaves extract of *Careya arborea*. *BLDE University Journal of Health Sciences*, 5(Suppl 1), S33-S34.

ผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

Effects of chitin-biochar materials on growth of Pathum Thani 1 rice cultivar

ลาวน ปัมกระโทก¹, มาสุตล สันยเป็ง^{1,2,3}, ณัฐวดี จินตโกวิท¹, สุพิน แสงสุข⁴, รัฐ พิษยางกูร⁵, ศุภจิตรา ชัชวาลย์^{1,*}

Lawan Pumkratoke¹, Marsuton Sanyapeung^{1,2,3}, Nutwadee Chintakovid¹, Supin Sangsuk⁴, Rath Pichyangkura⁵, Supachitra Chadchawan^{1,*}

¹ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

¹ Center of Excellence in Environment and Plant Physiology, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University

² หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

² Biotechnology Program, Faculty of Science, Chulalongkorn University

³ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว

³ Pathum Thani Rice Research Center, Division of Rice Research and Development, Rice Department.

⁴ สำนักวิชาทรัพยากรการเกษตร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

⁴ School of Agricultural Resources, Chulalongkorn University

⁵ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

⁵ Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University

* Correspondence: supachitra.c@chula.ac.th

บทคัดย่อ: ข้าวเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจที่เป็นอาหารหลักของมนุษย์ วิธีการปลูกข้าวได้รับการพัฒนาเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุด ซึ่งรวมทั้งการใช้สารกระตุ้นทางชีวภาพ งานวิจัยนี้ใช้วัสดุไคติน-ไบโอชาร์ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของข้าวได้ โดยใช้วัสดุไคตินหมักและไบโอชาร์ที่มาจากแกลบและไผ่ขึ้นรูปรวมกันในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน และให้ในอัตรา 200 กิโลกรัมต่อไร่ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยการประเมินจากจำนวนต้นตอ ความสูงต้น ดัชนีพืชพรรณและจำนวนรวงต่อกอ พบว่า สารกระตุ้นทางชีวภาพที่มีองค์ประกอบของไคตินหมักและไบโอชาร์แกลบในอัตราส่วน 2:1 สามารถเพิ่มจำนวนต้นตอได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ไคตินหมักและไบโอชาร์จากไผ่ในอัตราส่วน 1:2 และการให้ไคตินหมักเพียงอย่างเดียวมีแนวโน้มทำให้จำนวนต้นตอเพิ่มขึ้น ซึ่งผลของการส่งเสริมจำนวนต้นตอ ทำให้พบจำนวนรวงต่อกอสูงที่สุดในชุดการทดลองที่ได้รับไคตินหมักและไบโอชาร์แกลบในอัตราส่วน 2:1 การให้สารกระตุ้นทางชีวภาพแบบต่าง ๆ ไม่มีผลต่อความสูง ค่าดัชนีพืชพรรณ และค่าความเขียวใบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าวัสดุชีวภาพไคติน-ไบโอชาร์สามารถนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพเพื่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวได้ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาวิธีการปลูกข้าวที่มีประสิทธิภาพและยั่งยืนนำไปสู่ความมั่นคงทางอาหารต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: ไบโอชาร์, สารกระตุ้นทางชีวภาพ, ไคติน, ความมั่นคงทางอาหาร

Abstract: Rice is one of the most important economic food crops. Rice cultivation methods have developed to maximize yield, including the use of biostimulants. In this research, chitin-biochar materials were applied to enhance rice growth and yield. Fermented chitin (FC) – biochar materials produced from rice husk biochar (RHB) or bamboo biochar (BBB) at a rate of 200 kg/rai were evaluated for Pathum Thani 1 rice growth and productivity. Tiller number per plant, plant height, normalized difference vegetation index (NDVI) and panicle number per plant were used to evaluate plant response to FC-biochar application. FC – RHB at 2:1 ratio was demonstrated to significantly increase tiller number per plant, while FC – BBB at 1:2 ratio and FC alone showed the tendency of the increase in tiller numbers per plant. Furthermore, the FC – RHB (2:1) treatment also increased panicle number per plant. No significant differences in plant height, NDVI and SPAD values were detected among these treatments. These results suggested that chitin-biochar materials could be considered as a biostimulant to promote rice growth and yield leading to food security in the future.

Keywords: biochar, biostimulant, chitin, food security

1. บทนำ

ข้าวเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจที่เป็นอาหารหลักของมนุษย์ เกษตรกรมีการพัฒนาวิธีการปลูกข้าวเพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูง ได้แก่ การคัดเลือกสายพันธุ์ การดูแลรักษา การป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรู การควบคุมระดับน้ำให้เหมาะสมรวมถึงการใส่ปุ๋ยเคมีซึ่งมีต้นทุนสูง จึงมีการศึกษาการใช้สารกระตุ้นทางชีวภาพ (biostimulants) เพื่อใช้ในการส่งเสริมการเพิ่มผลผลิตของข้าวร่วมด้วย เช่น การใช้ฮิวมิก (humic biostimulant) สามารถเพิ่มผลผลิตได้ถึง 74 เปอร์เซ็นต์ในทุกพื้นที่การทดลอง [1] การใช้สารสกัดจากสาหร่าย *Kappaphycus alvarezii* และ *Gracilaria edulis* สามารถเพิ่มความสูง น้ำหนักแห้ง และผลผลิตของข้าวได้ 18.4 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มปริมาณของธาตุอาหารรองที่จำเป็นในดิน (Fe, Cu, Zn และ Mn) รวมถึงปริมาณโปรตีนในเมล็ดข้าว [2] การใช้แบคทีเรีย *Stenotrophomonas maltophilia* Sg3 ที่มีความสามารถในการผลิตฮอร์โมน IAA ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต เพิ่มปริมาณผลผลิตเมื่อเทียบกับการทดลองชุดควบคุม และยังสามารถสร้างสาร 2-Naphthalene-sulfonic acid ที่ทำหน้าที่กระตุ้น systemic resistance เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค [3] นอกจากนี้ไคติน-ไคโตซาน เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพอีกชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายทั้งในแง่ของการส่งเสริมการเจริญเติบโต และกระตุ้นกลไกการป้องกันพืชจากความเครียดต่าง ๆ เป็นต้น

ไคติน เป็นสายพอลิแซ็กคาไรด์และมียูรีนประกอบของไนโตรเจน (N-acetyl-D-glucosamine) ที่ได้จากสัตว์จำพวกอาร์โธพอด ฟังไจ และยีสต์ มีความสามารถในการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนและคาร์บอน ส่งผลให้มีการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ [4] มีการใช้ไคตินในทางการเกษตรอย่างหลากหลาย เช่น การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช กระตุ้นความต้านทานต่อความเครียด การส่งสัญญาณระหว่างพืชและจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ จากคุณสมบัติเหล่านี้ไคตินจึงเป็นทางเลือกในการใช้สำหรับการเกษตรที่ยั่งยืนในอนาคต [5] จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าการใช้ fermented chitin waste (FCW) ที่ร้อยละ 2 สามารถเพิ่มผลผลิตของผักสลัด [6] การใช้ไคโตซานจากแบคทีเรีย *Aspergillus niger* สามารถส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโต และยังสามารถลดการเกิดโรคใบขีดโปร่งแสงในข้าวพันธุ์อ่อนแอได้ [7] การใช้ FCW ส่งเสริมการแตกกอและเพิ่มผลผลิตข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยทำให้ดินมีธาตุอาหารหลักเพิ่มขึ้น และส่งเสริมกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของข้าว [8]

นอกจากการพัฒนาวิธีการปลูกข้าวเพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูงแล้ว ยังมีการให้ความสำคัญกับวิธีการปลูกข้าวที่สามารถลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกที่เป็นสาเหตุหนึ่งในการเกิดภาวะโลกร้อน โดยเฉพาะการทำนาข้าวที่มีการขังน้ำในนาพบว่าป็นสาเหตุในการปล่อยแก๊สมีเทน (CH₄) และไนตรัสออกไซด์ (N₂O) ซึ่งแก๊สทั้งสองชนิดนี้เป็นแก๊สเรือนกระจกที่สำคัญในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ [9] ไบโอชาร์หรือถ่านชีวภาพ (biochar) มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก ผลิตจากชีวมวลที่เกิดจากการสลายตัวด้วยความร้อนในสภาพที่ปราศจากออกซิเจนหรือมีออกซิเจนน้อย เรียกกระบวนการนี้ว่าการแยกสลายด้วยความร้อน (pyrolysis) โดยชีวมวลที่ใช้มักเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร [10] โดยไบโอชาร์ที่ผลิตได้มีคุณสมบัติในการเพิ่มผลผลิตและถูกนำมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการกักเก็บคาร์บอน เนื่องจากไบโอชาร์มีองค์ประกอบทางเคมีคือคาร์บอนปริมาณสูง สามารถคงตัวอยู่ในดินได้ในระยะเวลานาน และมีพื้นที่ผิวจำเพาะสูง ส่งผลให้มีการดูดซับสารต่าง ๆ ได้ดีและปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากพื้นดินให้เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ [11] การมีรูพรุนและพื้นที่ผิวจำเพาะสูงมีผลต่อความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ รวมทั้งเกิดการแลกเปลี่ยนประจุบวกกับธาตุอาหารในดิน ส่งผลให้ไบโอชาร์สามารถใช้ในการปรับปรุงดินและเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ [12-13] และการใช้ไบโอชาร์ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพดินในระยะยาว เนื่องจากช่วยเพิ่ม pH และเพิ่มการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน ดังนั้น จึงสามารถนำไบโอชาร์ไปใช้ปรับปรุงดินเสื่อมโทรมในเขตร้อนได้ [14] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของไบโอชาร์ 2 ชนิด คือ ไบโอชาร์จากฟางข้าวโพดและไบโอชาร์จากกลบ ให้ร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจนปริมาณต่าง ๆ พบว่าไบโอชาร์ทั้ง 2 ชนิดสามารถส่งเสริมการเพิ่มผลผลิตของข้าวและสามารถลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกจากนาข้าวได้ [15]

แม้ว่าการให้ไบโอชาร์ที่มีคุณสมบัติคงตัวและมีรูพรุนสูงเพียงอย่างเดียวสามารถเพิ่มผลผลิตได้สูงถึงร้อยละ 10 แต่ต้องให้ในปริมาณสูงถึง 10 ตันต่อเฮกตาร์ ซึ่งจะทำให้มีต้นทุนที่สูงขึ้น ในทางกลับกันการใส่ไบโอชาร์ร่วมกับไคติน ช่วยปรับปรุงคุณสมบัติและความอุดมสมบูรณ์ของดินมากยิ่งขึ้น เนื่องจากไบโอชาร์มีพื้นที่ผิวจำเพาะที่เป็นที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์และมีคุณสมบัติที่เอื้อต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน ซึ่งช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ ส่งผลให้การใส่วัสดุชีวภาพหรือไคตินมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น และสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ [16-18] ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงมีสมมติฐานว่าการใส่ไบโอชาร์ร่วมกับไคตินจะสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตได้ และในขณะเดียวกันยังสามารถกักเก็บคาร์บอนลงในดิน ลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกในนาข้าวและสามารถดึงดูดความสนใจเกษตรกรในการใช้ปุ๋ยชีวภาพในนาข้าวได้มากขึ้น

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อการเจริญเติบโตของข้าว โดยนำวัสดุไคตินที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของข้าวมาใช้ร่วมกับไบโอชาร์ที่มีความสามารถในการกักเก็บคาร์บอนในดิน ทดลองในข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เพื่อให้ได้วัสดุไคติน-ไบโอชาร์ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของข้าวและสามารถนำผลการทดลองนี้ไปพัฒนาต่อยอดการใช้วัสดุไคติน-ไคตินในการลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกในนาข้าวในอนาคตได้

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1. เตรียมวัสดุไคตินที่ขึ้นรูปพร้อมกับไบโอชาร์

องค์ประกอบที่ใช้ในการเตรียมวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ ได้แก่ ไคตินหมัก (Fermented chitin; FC) ที่ได้มาจากการหมักเปลือกกุ้งด้วยแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* ในอาหารสูตร 0.1% colloidal chitin minimal medium อ้างอิงตามวิธีการของ Kananont และคณะ [8] ไบโอชาร์ (Biochar; BC) ได้มาจากการผลิตไบโอชาร์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ แกลบ (RHB) และไม้ (BBB) โดยนำองค์ประกอบมาขึ้นรูปร่วมกัน 9 สูตร โดยมีอัตราส่วนของน้ำหนัก ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 FC: RHB อัตราส่วน 2: 1 ชุดการทดลองที่ 2 FC: RHB อัตราส่วน 1: 2 ชุดการทดลองที่ 3 FC: RHB อัตราส่วน 1: 1
ชุดการทดลองที่ 4 FC: BBB อัตราส่วน 2: 1 ชุดการทดลองที่ 5 FC: BBB อัตราส่วน 1: 2 ชุดการทดลองที่ 6 FC: BBB อัตราส่วน 1: 1
และชุดการทดลองที่ 7-9 มี FC, RHB หรือ BBB เพียงอย่างเดียว ตามลำดับ โดยมีชุดการทดลองที่ไม่ใส่วัสดุชีวภาพใด ๆ เป็นการทดลองชุดควบคุม (control)

2.2. ศึกษาผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวในระดับเรือนทดลอง

2.2.1. ปลุกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี กรมการข้าว โดยทำการเพาะเมล็ดลงดินเป็นเวลา 21 วัน จากนั้นทำการปักดำลงในกระถางที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 นิ้ว จำนวน 2 ต้นต่อกระถาง ทำการทดลอง ณ โรงเรือนเทคโนโลยีการผลิตข้าว ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำในแต่ละสูตร และใส่วัสดุไคตินที่ขึ้นรูปพร้อมกับไบโอชาร์แต่ละสูตรในอัตรา 200 กิโลกรัมต่อไร่ โดยใส่ 2 ครั้งคือครั้งแรกใส่ในขั้นตอนการเตรียมดิน โดยใส่ลงดิน 7 วันก่อนการปักดำและเมื่อข้าวมีอายุ 45 วันหลังเพาะเมล็ด การให้ปุ๋ยเคมีและสารกำจัดศัตรูพืชมีการดำเนินการตามวิธีการปกติ

2.2.2. วัดการเจริญเติบโตของข้าวโดยเก็บผลการทดลอง ได้แก่ ความสามารถในการแตกกอ (tillering ability) โดยนับจำนวนต้นตอก (tiller number/plant) ความสูงต้น (plant height) โดยวัดจากระดับพื้นดินถึงปลายใบ วัดค่าดัชนีพืชพรรณหรือ NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) ด้วยเครื่องมือ PSI PolyPen RP400-UVIS (Photon Systems Instruments, Drasov, Czech Republic) วัดค่า SPAD ที่บ่งบอกถึงความเขียวของใบ ด้วยเครื่องมือ chlorophyll meter (SPAD-502 plus, Konica Minolta, Inc., Tokyo, Japan) โดยเก็บข้อมูลทุก 2 สัปดาห์หลังการย้ายปลูก และบันทึกวันออกดอก ซึ่งหมายถึงจำนวนวันหลังปักดำจนถึงวันออกดอก วัดความสามารถในการออกรวง โดยนับจำนวนรวงต่อกอ และคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการสร้างรวงโดยใช้สูตร

$$\% \text{การสร้างรวง} = (\text{จำนวนรวงต่อกอ} / \text{จำนวนต้นตอก}) \times 100$$

2.3. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

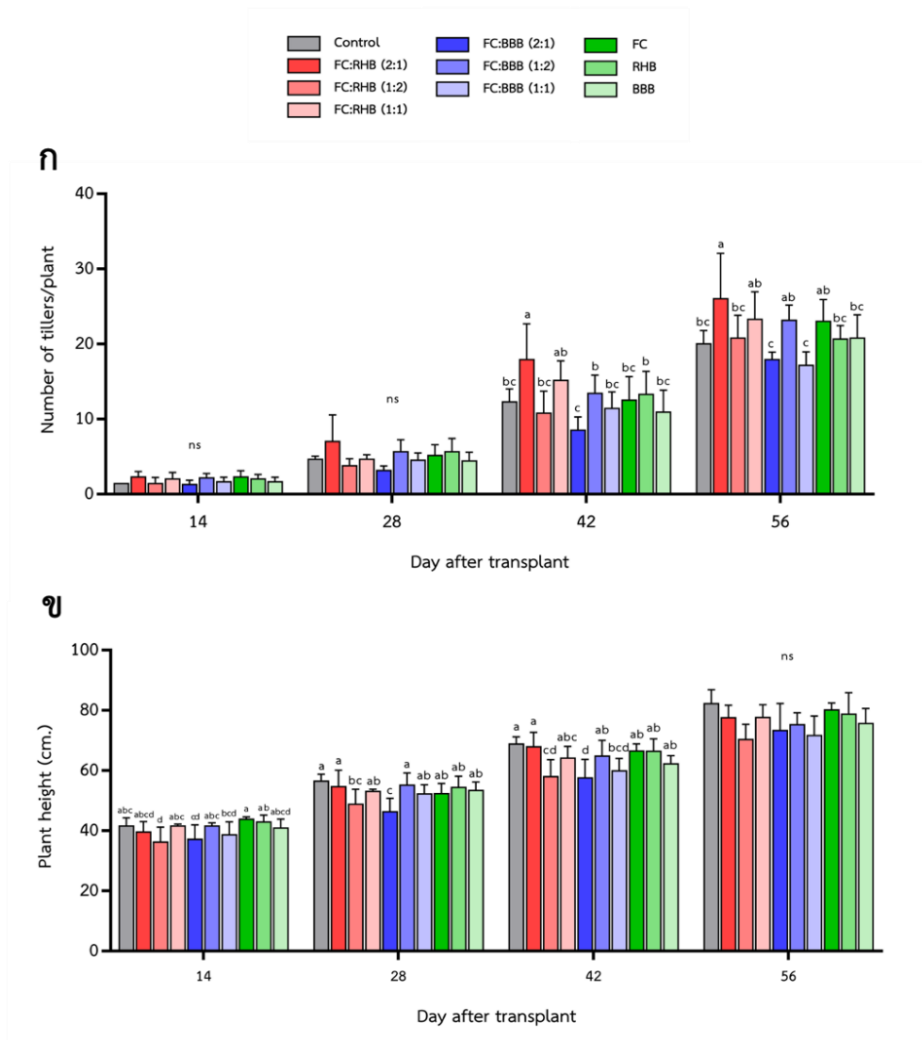
วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของการเจริญเติบโตของข้าวเมื่อได้รับวัสดุไคติน - ไบโอชาร์แบบต่าง ๆ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้ซอฟต์แวร์ IBM SPSS Statistics (version 29.0.2.0) และมีระดับนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ และรายงานผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่าง 2 ช่วงเวลาด้วย student's t-test

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

3.1. ผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

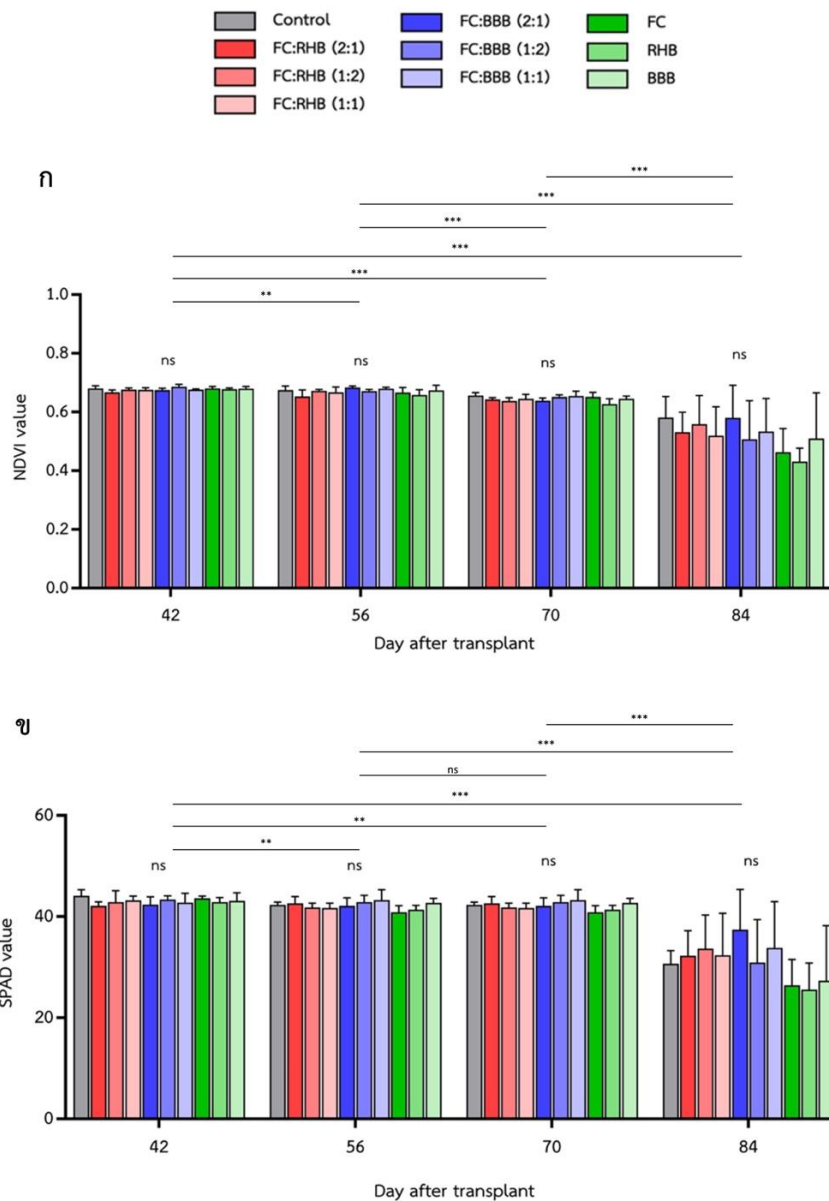
การใช้วัสดุไคติน-ไบโอชาร์เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพส่งผลต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยสูตรไคตินหมักผสมไบโอชาร์จากแกลบ (FC:RHB) อัตราส่วน 2:1 สามารถกระตุ้นการสร้างจำนวนต้นตอกได้สูงที่สุดถึง 1.3 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่สูตรที่มีไคตินหมัก (FC) เพียงอย่างเดียว ก็สามารถกระตุ้นการสร้างจำนวนกอได้เช่นเดียวกัน แต่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ไคตินหมักผสมไบโอชาร์จากแกลบเข้าที่อัตราส่วน 2:1 สำหรับชุดการทดลองที่ได้รับไคตินหมักผสมไบโอชาร์จากไม้ (FC:BBB) อัตราส่วน 1:2 สามารถเพิ่มจำนวนต้นตอกได้ 1.15 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ภาพ 1 ก) ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Kim และคณะ [19] ที่พบว่าการใช้ไบโอชาร์ร่วมกับปุ๋ยชนิดละลายช้า (slow release fertilizer) ที่มีคุณสมบัติเพิ่มไนโตรเจนในดินเช่นเดียวกับไคตินหมัก สามารถเพิ่มผลผลิตได้มากกว่าการใช้ปุ๋ยเคมี (urea) เพียงอย่างเดียว การใส่ไบโอชาร์ร่วมกับไคตินหมักส่งผลให้การปรับปรุงคุณสมบัติของดินมีความอุดมสมบูรณ์มากขึ้น เนื่องจากไบโอชาร์มีความคงตัวและมีพื้นที่ผิวจำเพาะสูง จึงสามารถเพิ่มการกักเก็บไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้ รวมถึงธาตุอาหารอื่น ๆ เป็นที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์และไบโอชาร์ยังมีความสัมพันธ์ที่เอื้อต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในดินที่ช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ จึงส่งผลให้เมื่อใส่สารกระตุ้นทางชีวภาพหรือไคตินผสมกับไบโอชาร์มีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตต่อต้นพืชเพิ่มมากขึ้น [16-18] ทั้งนี้การใส่สารกระตุ้นทางชีวภาพที่มีส่วนประกอบของไบโอชาร์ที่ต่างชนิดกันส่งผลให้มีการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนกอได้ต่างกัน เนื่องจากประสิทธิภาพของไบโอชาร์ขึ้นอยู่กับ

วิธีการเผา อุณหภูมิและวัสดุเริ่มต้นที่นำมาเผา จึงส่งผลให้สูตรที่มีไบโอชาร์จากแกลบส่งเสริมการสร้างกอแตกต่างจากสูตรที่มีไบโอชาร์จากไม้ ในทางกลับกันพบว่าสารกระตุ้นทางชีวภาพสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตในแง่ของความสูงของต้นได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกชุดการทดลอง (ภาพ 1 ข)



ภาพ 1 ผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อจำนวนต้นตอก (ก) และความสูง (ข) ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันเหนือแท่งกราฟ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

นอกจากนี้การใช้วัสดุไคติน-ไบโอชาร์เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพในแต่ละสูตรส่งผลให้ข้าวมีค่า NDVI ที่บ่งบอกถึงสุขภาพของข้าวและค่า SPAD ที่บ่งบอกความเขียวของใบมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่ระยะ vegetative จนถึงระยะ reproductive (ภาพ 2 ก และ ข) แสดงให้เห็นถึงการใส่สารกระตุ้นทางชีวภาพไม่ได้ส่งผลให้ข้าวเกิดความเครียดที่ส่งผลให้ข้าวมีอาการใบเหลืองและสามารถรักษาสุขภาพของข้าวให้สมบูรณ์ได้ตลอดระยะเวลาการปลูกเทียบเท่ากับชุดควบคุม เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chokwiwatkul และคณะ [20] พบว่าทั้งค่า NDVI และ SPAD ไม่แตกต่างกันเมื่อให้ไคตินหมักและแกลบในทุกชุดการทดลอง และเมื่อข้าวมีอายุ 84 วันหลังการย้ายปลูก จะพบการลดลงของค่า NDVI และ SPAD ซึ่งแสดงถึงการเข้าสู่ภาวะเสื่อมถอย (senescence) ของใบจริง เนื่องจากข้าวเข้าสู่ระยะ ripening และระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยว



ภาพ 2 ผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อค่า NDVI (ก) และค่า SPAD (ข) ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

ns เหนือแท่งกราฟ หมายถึงผลของ treatment ในแต่ละช่วงเวลาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ns เหนือเส้นตรง หมายถึงผลของ treatment ของ 2 ช่วงเวลาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

** เหนือเส้นตรง หมายถึงผลของ treatment ของ 2 ช่วงเวลามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบด้วย Student's t-test

*** เหนือเส้นตรง หมายถึงผลของ treatment ของ 2 ช่วงเวลามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.01$ เมื่อเปรียบเทียบด้วย Student's t-test

ตาราง 1 ผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อจำนวนวันออกดอก จำนวนรวงต่อกอและความสามารถในการสร้างรวง

สูตรสารกระตุ้นทางชีวภาพ	วันออกดอก* (วัน)	จำนวนรวงต่อกอ (รวง)	ความสามารถในการสร้างรวง (ร้อยละ)
Control	92.88 ± 1.49 ^{ns}	17.00 ± 2.00 ^{ns}	83.44 ± 3.21 ^{ns}
FC: RHB (2:1)	93.25 ± 1.55 ^{ns}	21.88 ± 3.12 ^{ns}	96.36 ± 10.16 ^{ns}
FC: RHB (1:2)	94.75 ± 4.48 ^{ns}	18.13 ± 1.65 ^{ns}	91.05 ± 11.00 ^{ns}
FC: RHB (1:1)	92.00 ± 2.35 ^{ns}	18.50 ± 3.16 ^{ns}	86.26 ± 2.85 ^{ns}
FC: BBB (2:1)	95.75 ± 3.52 ^{ns}	18.50 ± 2.45 ^{ns}	89.99 ± 5.00 ^{ns}
FC: BBB (1:2)	92.13 ± 3.20 ^{ns}	19.25 ± 4.66 ^{ns}	86.48 ± 4.59 ^{ns}
FC: BBB (1:1)	94.88 ± 4.50 ^{ns}	17.00 ± 2.16 ^{ns}	84.44 ± 12.22 ^{ns}
FC	89.38 ± 0.85 ^{ns}	20.13 ± 2.53 ^{ns}	92.19 ± 2.75 ^{ns}
RHB	90.88 ± 1.80 ^{ns}	17.38 ± 0.85 ^{ns}	80.42 ± 1.68 ^{ns}
BBB	92.38 ± 5.11 ^{ns}	17.63 ± 1.49 ^{ns}	83.44 ± 3.21 ^{ns}

Note: ข้อมูลในตารางแสดงถึงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* หมายถึง จำนวนวันหลังปักดำจนถึงวันออกดอก

3.2. ผลของวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ต่อผลผลิตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

การใช้วัสดุไคติน-ไบโอชาร์เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพพบว่าไม่มีผลต่อจำนวนวันออกดอก จำนวนรวงต่อกอ และความสามารถในการสร้างรวงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 1) โดยพบว่า ชุดการทดลองที่ได้รับ FC เพียงอย่างเดียวมีจำนวนวันออกดอกสั้นที่สุด และชุดการทดลองที่ได้รับ FC:BBB (2:1) มีวันออกดอกสูงที่สุด สำหรับการให้จำนวนรวงต่อกอ พบว่า การให้สารกระตุ้นทางชีวภาพ FC:RHB (2:1) ทำให้ข้าวมีจำนวนรวงต่อกอสูงที่สุด ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการให้สารกระตุ้นชีวภาพเป็นร้อยละ 29 ส่วนจำนวนรวงต่อกอที่มีจำนวนสูงสุดรองลงมา ได้แก่ ชุดการทดลองที่ได้รับ FC เพียงอย่างเดียว ซึ่งมีจำนวนรวงต่อกอสูงกว่าชุดควบคุมประมาณร้อยละ 18 การให้สารกระตุ้นชีวภาพที่มี FC:BBB อัตราส่วน 1:2 ให้จำนวนรวงต่อกอสูงกว่าชุดควบคุมประมาณร้อยละ 13 (ตารางที่ 1) ตามลำดับ

เมื่อคำนวณหาความสามารถในการสร้างรวง ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสมบูรณ์ของต้นข้าว ความสามารถในการสร้างรวงและให้ผลผลิตได้ พบว่า มี 3 ชุดการทดลองที่มีความสามารถในการสร้างรวงมากกว่าร้อยละ 90 คือชุดการทดลองที่ได้รับ FC:RHB (2:1) ชุดการทดลองที่ได้รับ FC:RHB (1:2) และชุดการทดลองที่ได้ FC เพียงอย่างเดียว โดยชุดการทดลองที่ให้ FC:RHB (2:1) มีผลจำนวนรวงมากที่สุด และมีความสามารถในการสร้างรวงสูงที่สุดคาดว่าน่าจะเป็นผลจากคุณสมบัติของไบโอชาร์ที่มีความคงตัวและมีรูพรุนสูง สามารถดูดซับธาตุอาหารที่สำคัญรวมทั้งไคตินหมัก (FC) ไว้ได้ ส่งผลให้ข้าวมีธาตุอาหารที่เพียงพอสำหรับการสร้างรวงในระยะตั้งท้อง เช่นเดียวกับรายงานก่อนหน้านี้ที่มีการใช้ไคตินหมักเพียงอย่างเดียวและการใช้ไคตินหมักร่วมกับกลบสามารถเพิ่มจำนวนรวงต่อกอได้สูงที่สุด [8, 20]

จากผลการทดลองพบว่าวัสดุไคติน-ไบโอชาร์สามารถทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสร้างรวงของข้าว ส่งผลให้มีแนวโน้มที่จะเพิ่มผลผลิตได้ดีกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว จึงมีประสิทธิภาพในการเป็นทางเลือกที่น่าสนใจสำหรับเกษตรกร ทดแทนวิธีการเดิมที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีในปริมาณมาก ซึ่งส่งผลเสียต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินในระยะยาว นอกจากนี้ ไบโอชาร์ยังมีความคงตัวสูง สามารถกักเก็บธาตุอาหารต่าง ๆ ไว้ในดินได้นาน ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินอย่างยั่งยืน อีกทั้งยังสามารถกักเก็บคาร์บอนในดินได้ จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกที่เป็นสาเหตุสำคัญของภาวะโลกร้อน

4. สรุปผลการทดลอง

การใช้วัสดุไคติน-ไบโอชาร์เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ได้ โดยสูตรที่มีองค์ประกอบของ FC:RHB ในอัตราส่วน 2:1 สามารถเพิ่มจำนวนต้นตอก จำนวนรวงต่อกอ และความสามารถในการสร้างรวงสูงที่สุด ในขณะเดียวกันวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ทุกสูตรไม่ได้ส่งผลต่อความสูงต้น ค่าดัชนีพืชพรรณ (NDVI) และค่าความเขียวใบ (SPAD) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้น การใช้วัสดุไคติน-ไบโอชาร์เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพเป็นอีกหนึ่งวิธีที่เป็นทางเลือกให้เกษตรกรนำมาใช้ในการส่งเสริมการเติบโตและเพิ่มผลผลิตของข้าวได้

และสามารถนำผลการทดลองไปพัฒนาต่อยอดในการนำวัสดุไคติน-ไบโอชาร์ไปใช้ในการลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกในนาข้าวควบคู่กันในอนาคตได้

กิตติกรรมประกาศ: งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีการศึกษา 2568 ขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ที่ได้กรุณานำอนุเคราะห์เมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และพื้นที่ในการทำทดลอง และสมาชิกศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืชที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

33. Izquierdo J, Arriagada O, García-Pintos G, Ortiz R, García-Pintos M, García-Pintos M (2024) On-farm foliar application of a humic biostimulant increases the yield of rice. *Agronomy Journal* 116:2551-2563.
34. Layek J, Das A, Idapuganti RG, Sarkar D, Ghosh A, Zodape ST, Meena RS (2018) Seaweed extract as organic bio-stimulant improves productivity and quality of rice in eastern Himalayas. *Journal of Applied Phycology* 30:547-558.
35. Suastika IBK, Kariada IK (2024) Testing of some high yielding varieties of rice on the growth and attack level of rice stem borer (*Lepidoptera, pyralidae*) with biostimulant treatment. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* 1417:012031.
36. Winkler AJ, Dominguez-Núñez JA, Aranaz I, Poza-Carrón C, Ramonell K, Somerville S, Berrocal-Lobo M (2017) Short-chain chitin oligomers: Promoters of plant growth. *Marine Drugs* 15:40.
37. Li K, Xing R, Liu S, Li P (2020) Chitin and chitosan fragments responsible for plant elicitor and growth stimulator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68:12203-12211.
38. Muymas P, Pichyangkura R, Wiriyakitnateekul W, Wangsomboondee T, Chadchawan S, Seraypheap K (2015) Effects of chitin-rich residues on growth and postharvest quality of lettuce. *Biological Agriculture & Horticulture* 31:108-117.
39. Stanley-Raja V, Senthil-Nathan S, Chanthini KMP, Sivanesh H, Ramasubramanian R, Karthi S, Kalaivani K (2021) Biological activity of chitosan inducing resistance efficiency of rice (*Oryza sativa* L.) after treatment with fungal based chitosan. *Scientific reports* 11:20488.
40. Kananont N, Pichyangkura R, Kositsup B, Wiriyakitnateekul W, Chadchawan S (2015) Improving the rice performance by fermented chitin Waste. *International Journal Of Agriculgure & BiologyIntl. J. Agric. Biol* 3:221-223.
41. Gupta K, Kumar R, Baruah KK, Hazarika S, Karmakar S, Bordoloi N (2021) Greenhouse gas emission from rice fields: a review from Indian context. *Environmental Science and Pollution Research* 28:30551-30572.
42. Downie A (2011) Biochar production and use: environmental risks and rewards. Doctoral dissertation, School of Materials Science and Engineering, The University of New South Wales.
43. Lehmann J, Gaunt J, Rondon M (2006) Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems – A Review. *Mitig Adapt Strat Glob Change* 11: 403–427.
44. Brewer CE, Schmidt-Rohr K, Satrio JA, Brown RC (2009) Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems. *Environmental progress & sustainable energy: an Official Publication of the American Institute of Chemical Engineers* 28:386-396.
45. Kloss S, Zehetner F, Dellantonio A, Hamid R, Ottner F, Liedtke V, Soja G (2012) Characterization of slow pyrolysis biochars: effects of feedstocks and pyrolysis temperature on biochar properties. *Journal of Environmental Euality* 41:990-1000.
46. Jien SH, Wang CS (2013) Effects of biochar on soil properties and erosion potential in a highly weathered soil. *Catena* 110:225-233.
47. Zhao Y, Jiang H, Gao J, Feng Y, Yan B, Li K, Zhang W (2023) Effects of nitrogen co-application by different biochar materials on rice production potential and greenhouse gas emissions in paddy fields in northern China. *Environmental Technology & Innovation* 32:103242.
48. Baronti S, Alberti G, Delle Vedove G, Di Gennaro F, Fellet G, Genesio L (2010) The biochar option to improve plant yields: First results from some field and pot experiments in Italy. *Italian Journal of Agronomy* 5:3–12.
49. Wijitkosum S, Kallayasiri W (2015) The use of biochar to increase productivity of indigenous upland rice (*Oryza sativa* L.) and improve soil properties. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences* 6:1326-1336.
50. Yooyen J, Wijitkosum S, Sriburi T (2015) Increasing yield of soybean by adding biochar. *Journal of Environmental Research and Development* 9:1066-1074.
51. Kim J, Yoo G, Kim D, Ding W, Kang H (2017) Combined application of biochar and slow-release fertilizer reduces methane emission but enhances rice yield by different mechanisms. *Applied Soil Ecology* 117:57-62.
52. Chokwiwatkul R, Junbuathong S, Chantarachot T, Pichyangkura R, Chadchawan S (2024) Enhancing productivity and antioxidant activities in Thai colored rice cultivars ‘RD69’ and ‘Hawm Gulahb Deang’ using chitin-based material and rice husk. *Agronomy* 14:2886.

การพัฒนาสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตเพื่อยืดอายุความสดของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สำหรับธุรกิจการส่งออก

Development of nano-composite biopolymer coatings for maintaining freshness of Nam Dok Mai Mango for export business.

ปฏิวดี จรรย์าศรี¹, อรุณลักษณ์ พุทปฏิมอกซ์¹, ณัฐภัสสร เหล่าเนตร^{1*}, มลิวรรณ นาคขุนทด²

Patiwat Janyasri¹, Arunlak Puttapatimok¹, Natpassorn Laonet^{1*}, Maliwan Nakkuntod²

¹โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาภรณราชวิทยาลัย พิชณุโลก

¹Princess Chulabhorn Science High School Phitsanulok

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

²Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University

*Correspondence: krunoy99@gmail.com

บทคัดย่อ: มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ (*Mangifera indica* L.) จัดเป็นหนึ่งในผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีบทบาทอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมส่งออก อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญที่เกษตรกรและผู้ประกอบการต้องเผชิญคือ การเน่าเสียอย่างรวดเร็วของผลผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งส่งผลกระทบต่อคุณภาพและมูลค่าทางเศรษฐกิจ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตที่ผสมผสานเซลลูโลสนาโนคริสตัลร่วมกับสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globulus* Labill.) และไคโตซาน เพื่อยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสและยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสความเข้มข้น 150,000 ppm ร่วมกับไคโตซาน 1.0% มีความเหมาะสมและเข้ากันของสาร ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้สูงถึง $84.57 \pm 0.01\%$ เมื่อนำมาผสมกับเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ความเข้มข้น 0.6% พบว่าสามารถลดการสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงได้ดีที่สุดเหลือเพียง $4.33 \pm 0.02\%$ และยับยั้งการเกิดโรคบนผลได้ถึง $83.32 \pm 0.03\%$ การวิเคราะห์คุณภาพหลังเก็บรักษา 7 วัน พบว่าสารเคลือบอัตราส่วนความเข้มข้นดังกล่าวช่วยรักษาความแน่นเนื้อคือ 90.89 ± 3.85 N, ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดคือ 10.25 ± 0.95 °Brix, ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้คือ $2.68 \pm 0.05\%$ รวมถึงชะลอการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อและสีบนเปลือกผลคือ 102.28 ± 1.65 และ 103.76 ± 1.38 ตามลำดับ สรุปได้ว่าสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตที่พัฒนาขึ้นสามารถป้องกันเชื้อราก่อโรคและยืดอายุการเก็บรักษาผลมะม่วงได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคซึ่งผ่านการทดสอบความเป็นพิษต่อกลุ่มสัตว์ขนาดเล็ก รวมถึงเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งผ่านการใช้งานจริงของกลุ่มเกษตรกร สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์เพื่อส่งเสริมศักยภาพการส่งออกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้แห่งประเทศไทยได้

คำสำคัญ: สารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิต, สารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัส, ไคโตซาน, เซลลูโลสนาโนคริสตัล, *Colletotrichum* spp., มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

Abstract: Nam Dok Mai mango (*Mangifera indica* L.) is one of Thailand's key economic fruits and plays a significant role in the export industry. However, a major challenge faced by farmers and producers is the rapid postharvest spoilage, particularly due to anthracnose disease caused by *Colletotrichum* spp., which directly affects both quality and market value. This research aimed to develop a biodegradable nanocomposite coating from cellulose nanocrystals combined with eucalyptus leaf extract (*Eucalyptus globulus* Labill.) and chitosan to inhibit *Colletotrichum* spp., the cause of anthracnose disease, and extend the shelf life of Nam Dok Mai mangoes. Results showed that 150,000 ppm eucalyptus leaf extract with 1.0% chitosan exhibited a suitable and compatible composition, which could inhibit pathogenic fungus up to $84.57 \pm 0.01\%$. When combined with 0.6% cellulose nanocrystals, the coating minimized weight loss $4.33 \pm 0.02\%$ and inhibited fungal growth on mangoes $83.32 \pm 0.03\%$. Quality analysis after 7 days of storage revealed that the coating effectively maintained firmness at 90.89 ± 3.85 N, total soluble solids at 10.25 ± 0.95 °Brix, and titratable acidity at $2.68 \pm 0.05\%$. The coating also delayed changes in pulp and peel color, measured at 102.28 ± 1.65 and 103.76 ± 1.38 respectively. In

conclusion, the developed nanocomposite bio-coating effectively prevents fungal infection and prolongs mango shelf life. It is safe for consumers, as confirmed by toxicity tests on small animals, and environmentally friendly, as demonstrated through field application by local farmers. The coating shows strong potential for commercial development to enhance Thailand's Nam Dok Mai mangoes export capabilities.

Keywords: Nanocomposite bio-coating, Crude extract of eucalyptus leaves, Chitosan, *Colletotrichum* spp.

Nam Dok Mai mango variety

1. บทนำ

มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ (*Mangifera indica* L.) เป็นผลไม้เศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย โดยมีมูลค่าการส่งออกกว่า 2,500 ล้านบาท ในปี 2564 และมีแนวโน้มเติบโตเฉลี่ย 10% ต่อปี [1] อย่างไรก็ตาม การสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวยังเป็นปัญหาสำคัญ โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งสร้างความเสียหายกว่า 30-40% ของผลผลิตที่ส่งออก ส่งผลให้มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เน่าเสียไว มีอายุการเก็บรักษาสั้น และกระทบต่อมูลค่ารวมถึงปริมาณการส่งออกอย่างมาก [2]

สารเคลือบผิวที่ใช้ในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่มีสารเคมีสังเคราะห์ที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม การพัฒนาสารเคลือบผิวที่มีความปลอดภัยจากวัสดุธรรมชาติ สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค และยืดอายุการเก็บรักษาผลมะม่วงได้จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ สารสกัดใบยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globulus* Labill.) ประกอบด้วยสารสำคัญ เช่น 1,8-Cineole และ Citronella ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสูง [3] เมื่อผสมกับไคโตซานซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ชีวภาพที่มีคุณสมบัติควบคุมการแพร่ผ่านของน้ำและแก๊ส ป้องกันการสูญเสียความชื้น และมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ [4] จะเสริมประสิทธิภาพซึ่งกันและกัน ปัจจุบัน นาโนเทคโนโลยีได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาสารเคลือบผิว โดยเซลลูโลสนาโนคริสตัล (Cellulose nanocrystals, CNC) เป็นวัสดุนาโนที่ได้จากเซลลูโลสธรรมชาติ มีความแข็งแรงเชิงกลสูง และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม [5] CNC สามารถเกิดพันธะเชื่อมกันระหว่างไคโตซานผ่านหมู่ฟังก์ชัน ซึ่งช่วยเพิ่มความแข็งแรงและการยึดเกาะของฟิล์ม [6] ปรับปรุงสมบัติการซึมผ่านของไคโตซานและแก๊ส และช่วยในการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์อย่างช้าๆ [7] การผสมผสานวัสดุทั้งสามชนิดเป็นสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตจึงมีศักยภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรครวมถึงควบคุมอัตราการหายใจของผลไม้ ลดการสูญเสียน้ำหนักของผล และยืดอายุการเก็บรักษา ทั้งยังปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาประสิทธิภาพของสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตจากเซลลูโลสนาโนคริสตัล ร่วมกับสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัส และไคโตซาน ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* spp. และยืดอายุการเก็บรักษาผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เพื่อเป็นต้นแบบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ที่ช่วยเพิ่มมูลค่าและศักยภาพการส่งออกมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้แห่งประเทศไทยได้อย่างสูงสุด

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วิธีการทดลอง

2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสและไคโตซาน

2.1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัส

นำใบยูคาลิปตัสแห้งมาสกัดด้วยเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 1:2 แช่ไว้เป็นเวลา 7 วัน นำมารองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่ได้ไปแยกเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Heidolph รุ่น ICH750L จนได้สารสกัดหยาบ (crude extract)

2.1.2 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* spp.

ทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ด้วยวิธี Poisoned agar โดยผสมสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสที่ระดับความเข้มข้น 0 30,000 60,000 90,000 120,000 และ 150,000 ppm ใน Potato dextrose agar (PDA) ใช้ cork borer เจาะลงบริเวณโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ย้ายขึ้นวัน 1 ขึ้นของเชื้อราสาเหตุโรค วางลงกึ่งกลางของอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสใน ระดับความเข้มข้นต่างๆ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) และย้ายขึ้นวันของเชื้อราลงบนอาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัส โดยปล่อยให้เชื้อเจริญเป็นอิสระเพื่อเปรียบเทียบ (control) บันทึกผลการทดลอง โดยนำมาหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Percent Inhibition of Radial Growth, PIRG) ดังสูตร

$$\% \text{PIRG} = [(R1-R2)/R1 \times 100]$$

โดยที่ R1 คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราในชุดควบคุม

R2 คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนชุดทดสอบ

2.1.3 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซาน

เตรียมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% ตามลำดับ โดยนำกรดอะซิติกความเข้มข้น 2% โดยปริมาตร นำมาเป็นตัวทำละลาย ปรับค่า pH 5.6 ด้วย NaOH 1 N จากนั้นนำสารละลายไคโตซานในแต่ละระดับความเข้มข้นที่เตรียมไว้ ไปผสมกับสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสในความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1.2

2.1.4 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* spp.

ทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซานต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ด้วยวิธี Poisoned agar ย้ายชิ้นวัน 1 ชิ้นของเชื้อราสาเหตุโรค วางลงกึ่งกลางของอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซานในระดับความเข้มข้นต่างๆ 3 ขั้ว บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) และย้ายชิ้นวันของเชื้อราลงอาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารสกัดหยาบจากสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซานและชุดทดลองแอลกอฮอล์ 95% โดยปล่อยให้เชื้อเจริญเป็นอิสระเพื่อเปรียบเทียบ (control) บันทึกผลการทดลอง โดยนำมาหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Percent Inhibition of Radial Growth, PIRG) ดังสูตรในข้อ 1.2

2.2 ศึกษาการพัฒนาเป็นสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซาน

2.2.1 การศึกษาคุณสมบัติของเซลลูโลสนาโนคริสตัล

ศึกษาและตรวจวัดคุณสมบัติของเซลลูโลสนาโนคริสตัล (cellulose nanocrystals, CNC) นำเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่สังเคราะห์จากขานอ้อย มาตรวจวัดขนาดอนุภาค และตรวจสอบลักษณะพื้นผิวโดยใช้กล้อง Particle size analyzer และ Stereo microscope ตรวจวัด

2.2.2 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสและไคโตซานมาใช้งานร่วมกับเซลลูโลสนาโนคริสตัล

เตรียมเซลลูโลสนาโนคริสตัล (CNC) มาใส่ในบีกเกอร์ 4 ใบ ปริมาตร 60 μL 120 μL 180 μL และ 240 μL ตามลำดับ โดยเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 30 mL. ลงในแต่ละบีกเกอร์ คนให้เข้ากันจนได้ อัตราส่วนความเข้มข้นของเซลลูโลสนาโนคริสตัลคือ 0.2% 0.4% 0.6% และ 0.8% ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสที่มีความเข้มข้น 150,000 ppm และสารละลายไคโตซาน 1.0% ปริมาตร 1000 μL มาใส่ในแต่ละบีกเกอร์ คนให้สารทั้ง 3 ผสมเข้ากัน จึงนำไปทดสอบเคลือบลงบนผิวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

2.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสและยือายุการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design (CRD) ปลุกเชื้อราสาเหตุโรคบนผลมะม่วงเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา ทำการทดลอง 3 ขั้ว โดยทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตร่วมกับสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสและไคโตซานที่เตรียมไว้จากตอนที่ 2 ในการควบคุมการเกิดโรคกับผลมะม่วงทั้งหมด 4 ความเข้มข้น และชุดที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบผิว (control)

2.3.1 ทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

วัดขนาดของผลมะม่วงให้มีความใกล้เคียงกัน นำผลมะม่วงไปทำความสะอาด โดยระวังไม่ให้เกิดบาดแผลและรอยขีด

ทำความสะอาดผิวมะม่วงบริเวณที่จะทำการปลูกเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ทำการปลูกเชื้อ 2 ตำแหน่ง คือ จากบริเวณกึ่งกลางค่อนไปทางขั้วผลและจากบริเวณกึ่งกลางค่อนไปทางปลายผล ปลูกเชื้อบนผิวมะม่วง โดยใช้เข็มเขี่ยเจาะบนผิวมะม่วง จากนั้นนำสารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น 5×10^6 spores/mL ปริมาตร 10 μL หยดในแผลที่เจาะ ทั้งหมด 15 ลูก

นำมะม่วงที่ปลูกเชื้อ 15 ผลมาเคลือบในสารเคลือบที่อัตราส่วนต่างๆ ทั้งหมด 4 ระดับตามขั้นตอนที่ 2.2

นำผลมะม่วงที่ผ่านการปลูกเชื้อและเคลือบสารเคลือบทั้งหมดไปผึ่งให้แห้ง จากนั้นเก็บเข้าห้องอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน

เมื่อครบกำหนดการเก็บรักษา ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคต่อผลโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของการเกิดโรคบนผลมะม่วงทั้งสองบริเวณ นำค่าเส้นผ่าศูนย์กลางที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโดยใช้สูตร

$$\% \text{PIRG} = [(R1-R2)/R1 \times 100]$$

โดยที่ R1 คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของการเกิดโรคบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในชุดควบคุม
R2 คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของการเกิดโรคบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในชุดทดสอบ

2.3.2 เตรียมสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตร่วมกับสมุนไพรใบยูคาลิปตัสและไคโตซาน

คัดเลือกจากชุดทดลองที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดจากการทดลองขั้นตอนที่ 3.1 เพื่อใช้เคลือบผิวบนมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เพื่อศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษา โดยเปรียบเทียบกับมะม่วงชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบผิว (Control) จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตต่อการยืดอายุการเก็บรักษาในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยวิเคราะห์คุณภาพของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้หลังผ่านการเคลือบผิว ดังนี้

2.3.2.1 วัดการสูญเสียน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักมะม่วงเริ่มต้นและชั่งน้ำหนักของมะม่วงหลังผ่านการเคลือบและทิ้งไว้ให้แห้งน้ำหนักที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการสูญเสียน้ำหนัก ทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 8 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส แล้วบันทึกข้อมูล โดยคำนวณจากสูตรร้อยละการสูญเสียน้ำหนัก (Weight loss%)

2.3.2.2 วิเคราะห์คุณภาพ โดยนำมะม่วงที่ผ่านการเคลือบผิวมาวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อและสีเปลือกผล (Hue angle of peel, pulp) ค่าความแน่นเนื้อ (Firmness (N)) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solids , TSS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity,TA) โดยใช้สถิติวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

จากการทดลองโครงการเรื่องศึกษาสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตเพื่อใช้ในการรักษาความสดใหม่ของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สำหรับธุรกิจการส่งออก ได้ผลการศึกษาดังต่อไปนี้

3.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสและไคโตซาน

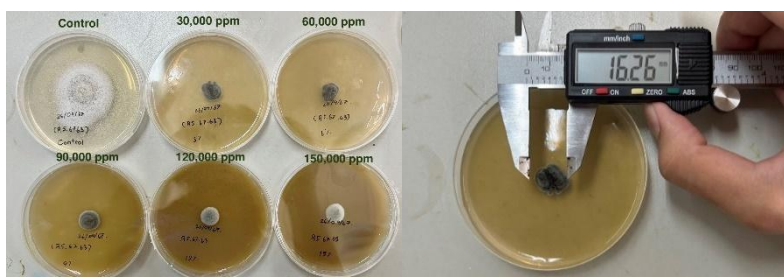
ผลการศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* spp. ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อ (PIRG%) ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ด้วยสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัส บน PDA ในความเข้มข้นที่ต่างกัน

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัส (ppm)	ค่าเฉลี่ย (%PIRG)
ชุดควบคุม (control)	0.00 ± 0.00 ^e
30,000	62.85 ± 0.02 ^d
60,000	64.92 ± 0.02 ^c
90,000	67.84 ± 0.01 ^{bc}
120,000	69.92 ± 0.01 ^{ab}
150,000	71.56 ± 0.01 ^a

หมายเหตุ ค่าในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

จากผลการสกัดด้วยเอทานอล 95% พบว่า ได้ปริมาณสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสที่ได้คิดเป็น 30.18% yield ซึ่งเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้ โดยหลังการทดสอบบน PDA พบว่าสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสความเข้มข้นที่ 150,000 ppm มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรค (PIRG%) มากที่สุด คือ 71.56 ± 0.01% โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.32±0.01 mm. สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ พรพรรณ อุสุวรรณและคณะ (2566) [3] โดยพบว่าสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสความเข้มข้น 150,000 ppm มีสารสำคัญเช่น 1,8-Cineole และ Citronella ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ได้สูงสุด จึงคัดเลือกนำไปใช้ทดลองในขั้นตอนต่อไป



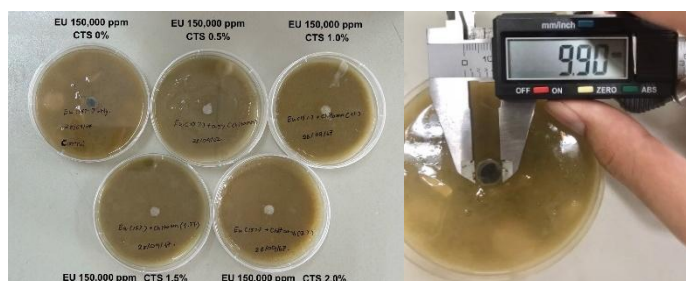
รูปที่ 1 แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคบนอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อ (PIRG%) ของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ด้วยสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัส 150,000 ppm ร่วมกับสารละลายไคโตซานบน PDA ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัส (ppm)	ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน (%)	ค่าเฉลี่ย % PIRG
0 (control)	0 (control)	0.00 ± 0.00
150,000	0	71.56 ± 0.0 ^e
150,000	0.5	83.42 ± 0.01 ^d
150,000	1.0	84.57 ± 0.01 ^c
150,000	1.5	84.92 ± 0.01 ^{bc}
150,000	2.0	85.41 ± 0.01 ^{ab}

หมายเหตุ ค่าในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

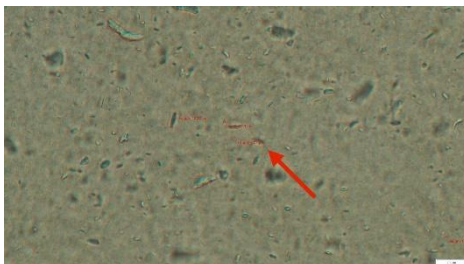
จากผลการทดสอบพบว่า การนำสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสมาใช้งานร่วมกับสารละลายไคโตซาน มีฤทธิ์เสริมประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราก่อโรคร้อย่างมีนัยสำคัญ โดยเพิ่มขึ้นถึง $13.85 \pm 0.01\%$ ผ่านการเทียบส่วนต่างข้อมูลของสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสที่ความเข้มข้น 150,000 ppm จากตารางที่ 1 กับสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสที่ความเข้มข้น 150,000 ppm ร่วมกับไคโตซาน 2.0% จากตารางที่ 2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Parvin.; et al. (2023) [8] โดยพบว่าไคโตซานมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราได้ จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 0.5%, 1.0% 1.5% และ 2.0% มีความสามารถในการยับยั้งใกล้เคียงกัน ได้แก่ 84.53%, 84.91% และ $85.41\% \pm 0.01$ ตามลำดับ จึงนำไปตรวจวัดค่าความหนืดและความเข้ากันของสาร พบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคและพัฒนาสู่สารเคลือบผิวคือ สารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสที่ความเข้มข้น 150,000 ppm และสารละลายไคโตซาน 1.0% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอริสา วันทัศน์ (2563) [4] พบว่าไคโตซานความเข้มข้น 1.0% มีประสิทธิภาพดีโดยไม่ทำให้ฟิล์มหนาเกินไป จึงคัดเลือกอัตราส่วนนี้ไปทดสอบในตอนต่อไป



รูปที่ 2 บริเวณที่ยับยั้งเชื้อราก่อโรคด้วยสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ

3.2 ศึกษาการพัฒนาเป็นสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซาน

จากการพัฒนาเพื่อเป็นสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตที่มีส่วนผสมของสมุนไพรใบยูคาลิปตัสร่วมกับไคโตซานได้ผลดังรูปที่ 3 และ 4 ตามลำดับ



รูปที่ 3 แสดงลักษณะและขนาดของสาร CNC



รูปที่ 4 แสดงสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตในอัตราส่วนแตกต่างกันของ %CNC

ผลการตรวจวัดขนาดอนุภาคและลักษณะพื้นผิวของเซลลูโลสนาโนคริสตัล (CNC) พบว่าพื้นผิวมีลักษณะคล้ายเศษผลึกแก้ว มีความกว้างอยู่ที่ >15 nm. และมีความยาวประมาณ $0.96 \mu\text{m}$. ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jirada Singkhonrat.; et al. (2023) [7] พบว่ามีลักษณะผลึกปลายแหลม และมีขนาดเล็กในระดับอนุภาคนาโน (Nanoparticle) โดยเมื่อนำไปผสมกับสารสกัดหยาบจากใบยูคาลิปตัสและสารละลายไคโตซาน ด้วยเครื่อง Ultrasonic liquid processor พบว่าสารเคลือบผิวที่ได้มีลักษณะสีขาวขุ่น ไม่เหลวเกินไป และเหมาะสมต่อการนำไปเคลือบผิวลงบนผิวมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ต่อไป

3.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสและยือายุการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

3.3.1 วัดการสูญเสียน้ำหนัก

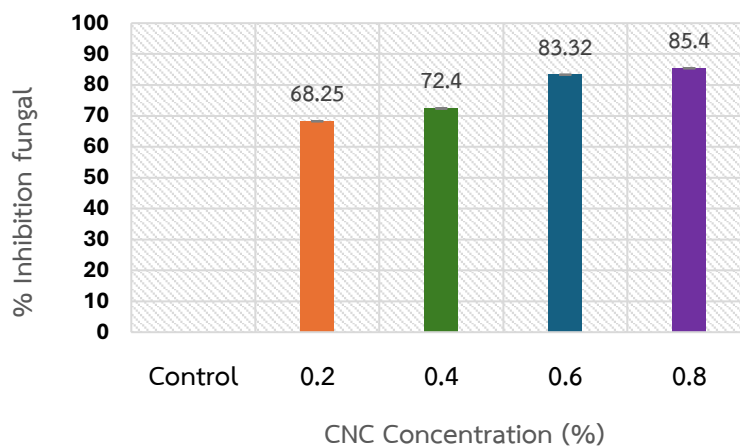
ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนสหลังปลูกเชื้อลงบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยการหยด Spore suspension ความหนาแน่น 5×10^6 spores/mL of suspension ปริมาตร $10 \mu\text{L}$ ในรูผลที่เจาะ ทั้งหมด 15 ลูก ได้ผลดังตารางที่ 3 และรูปที่ 5

ตารางที่ 3 ผลของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราโดยใช้เซลลูโลสนาโนคริสตัล (CNC) ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ CNC (%)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา (Inhibition %)
ไม่ใส่ EU,CTS และ CNC (Control)	0.00 ± 0.00^e
0.2	68.25 ± 0.04^d
0.4	72.40 ± 0.05^c
0.6	83.32 ± 0.03^{bc}
0.8	85.40 ± 0.04^{ab}

หมายเหตุ ค่าในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

EU คือสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสและ CTS คือไคโตซาน, ใช้ EU 150,000 ppm และ CTS 1.0% ร่วมกับ CNC ในแต่ละความเข้มข้น



รูปที่ 5 %disease inhibition แสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยการยับยั้งเชื้อราบนผลมะม่วงด้วย CNC ความเข้มข้นต่างๆ

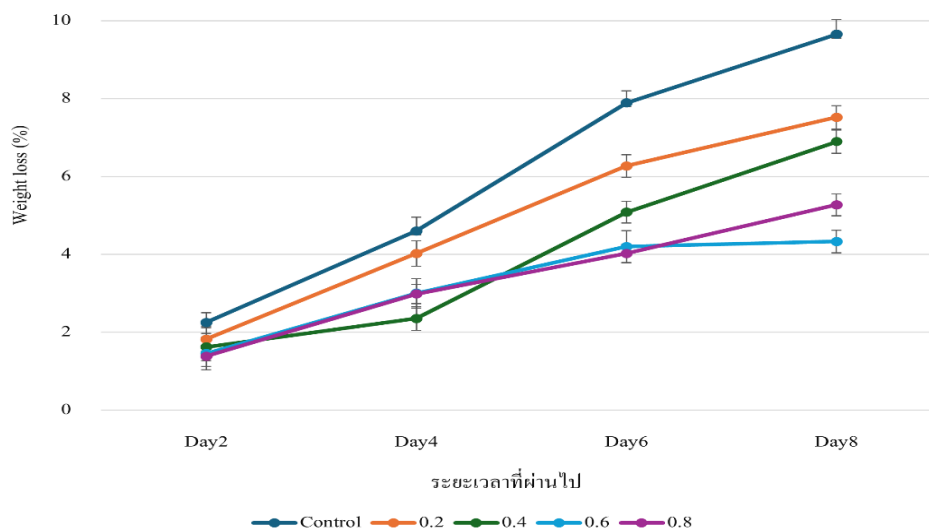
จากผลในรูปที่ 5 แสดง %เฉลี่ยการยับยั้งเมื่อเวลาผ่านไป 10 วัน ณ อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบว่าความเข้มข้นของเซลล์โลสนาโนคริสตัลที่ 0.6% และ 0.8% มีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยการยับยั้งการก่อโรคบนผลมะม่วงที่ใกล้เคียงกัน คือ $83.32 \pm 0.03\%$ และ $85.40 \pm 0.03\%$ โดยปริมาณความเข้มข้นของ CNC ที่เหมาะสม สามารถช่วยเสริมการกักเก็บของสารชีวภาพให้สามารถออกฤทธิ์ได้ยาวนานขึ้นผ่านการสร้าง Crosslinking bond ซึ่งตรงตามสมมติฐานที่เซลล์โลสนาโนคริสตัลสามารถช่วยเสริมคุณภาพแก่สารชีวภาพไบโอคอมโพสิตผ่านเกราะป้องกันการเกิดกิจกรรมบนผิวผลไม้ N.S.Resende.; et al. (2018) [9] จึงนำอัตราส่วนความเข้มข้นของเซลล์โลสนาโนคริสตัลเดิม ได้แก่ 0.2% 0.4% 0.6% และ 0.8% ไปทดสอบประสิทธิภาพต่อไป เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลหาอัตราส่วนที่ดีที่สุดของสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิต ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตต่อการยืดอายุการเก็บรักษาโดยวัดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักหลังระยะผ่านไป 8 วัน

ความเข้มข้นของ CNC (%)	ค่าเฉลี่ยการสูญเสียน้ำหนัก (Weight loss %)
ไม่เคลือบสาร (Control)	9.65 ± 0.04^e
0.2	7.52 ± 0.05^d
0.4	6.89 ± 0.01^c
0.6	4.33 ± 0.02^a
0.8	5.27 ± 0.02^b

หมายเหตุ ค่าในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ใช้ EU 150,000 ppm และ CTS 1.0% ร่วมกับ CNC ในแต่ละความเข้มข้น



รูปที่ 6 %Weight loss แสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยการสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงด้วย CNC ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อระยะเวลาผ่านไป

จากผลในตารางที่ 4 และรูปที่ 6 โดยจากการวิเคราะห์คุณภาพด้านการยืดอายุการเก็บรักษาหลังเวลาผ่านไป 8 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบว่าที่ระดับอัตราส่วนความเข้มข้นของเซลลูโลสนาโนคริสตัลที่ 0.6% ร่วมกับสารสกัดหยาบใบยูคาลิปตัสที่มีความเข้มข้น 150,000 ppm และสารละลายไคโตซาน 1.0% มีค่าการสูญเสียน้ำหนักต่ำสุด คือ $4.33 \pm 0.02\%$ โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ N.S.Resende.; et al. (2018) [9] พบว่า CNC ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น มีผลต่อการเกิดพันธะและสมบัติเชิงกลของวัสดุผสม จึงส่งผลให้ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ CNC จัดอยู่ในช่วง 0.1-0.6% ส่งผลให้สารเคลือบสามารถช่วยลดอัตราการหายใจและการลดสูญเสีย น้ำหนักของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ได้อย่างมีคุณภาพ

3.3.2 วิเคราะห์คุณภาพ

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตต่อการยืดอายุการเก็บรักษาโดยวิเคราะห์คุณภาพผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ผ่านการเคลือบผิวหลังระยะผ่านไป 7 วัน

treatments	Firmness (N)	TSS (°Brix)	TA (%)	Hue angle of peel	Hue angle of pulp
Day 0	96.80±2.30	8.76±0.76	2.78±0.45	108.23±2.49	104.23±1.74
Day 7 (control)	74.45±2.78 ^e	16.18±0.36 ^a	0.85±0.06 ^d	75.49±1.32 ^e	81.38±1.12 ^e
0.2% CNC-coating	83.66±2.05 ^d	15.42±0.42 ^c	1.56±0.04 ^c	96.13±1.80 ^c	95.56±1.68 ^d
0.4% CNC-coating	85.36±3.02 ^c	13.45±0.74 ^b	1.97±0.03 ^b	94.71±2.35 ^d	94.49±2.14 ^c
0.6% CNC-coating	90.89±3.85 ^a	10.25±0.95 ^e	2.68±0.05 ^a	103.76±1.38 ^b	102.28±1.65 ^a
0.8% CNC-coating	87.72±2.90 ^b	10.59±1.28 ^d	2.32±0.06 ^b	105.32±2.74 ^a	101.60±1.95 ^b

หมายเหตุ ค่าในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ผลการทดสอบวิเคราะห์คุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนครบ 7 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น CNC-0.6% มีค่าความแน่นเนื้อ (FN), ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS), ปริมาณกรดไคโตรตที่ต่ำ (TA), รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อและสีเปลือกผลจัดอยู่ในเกณฑ์ที่ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้น ค่าความแน่นเนื้อ (FN) ควรมีค่าสูง ซึ่งแสดงว่าเนื้อยังไม่อ่อนนุ่ม, ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ควรมีค่าต่ำหรือปานกลาง แสดงถึงผลมะม่วงไม่สุกมากเกินไป, ปริมาณกรดไคโตรตที่ต่ำ (TA) ควรมีค่าสูง เนื่องจากความเป็นกรดสูงแสดงถึงผลมะม่วงที่สดใหม่ รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อและสีเปลือกผล ควรมีค่าประมาณ 100-110° แสดงถึงสีเหลืองอ่อน

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการสัปดาห์ในบุคลากรด้วยเอทานอล 95% ได้สารสกัดหยาบร้อยละ 30.18% yield โดยสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 150,000 ppm มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ร้อยละ 71.56 ± 0.01 โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.32 ± 0.01 mm จึงนำไปใช้ทดสอบร่วมกับสารละลายไคโตซาน (CTS) พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5%, 1.0%, 1.5% และ 2.0% มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราเฉลี่ย $83.42 \pm 0.01\%$, $84.57 \pm 0.01\%$, $84.92 \pm 0.01\%$, $85.41\% \pm 0.01\%$ ตามลำดับ และการตรวจสอบเซลล์ลูโลสนาโนคริสตัล (CNC) พบว่ามีขนาดความกว้าง >15 nm และความยาว $0.96 \mu\text{m}$ จึงนำมาใช้งานร่วมกับสารชีวภาพทั้งสอง จนได้สารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตนำมาเคลือบลงบนผลมะม่วงพบว่า CNC ที่ความเข้มข้น 0.6% และ 0.8% สามารถยับยั้งการเกิดโรคบนผลมะม่วงได้ 83.32% และ 85.40% ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 วัน การใช้สารเคลือบที่ความเข้มข้น CNC-0.6% ร่วมกับสารสกัดในบุคลากร 150,000 ppm และไคโตซาน 1.0% มีการสูญเสียน้ำหนักของผลมะม่วงน้อยที่สุดได้ $4.33 \pm 0.02\%$ นอกจากนี้ยังมีค่าวิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพที่อยู่ในเกณฑ์ที่ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าสารเคลือบผิวชีวภาพนาโนคอมโพสิตจากบุคลากรสกัดและไคโตซาน ร่วมกับเซลล์ลูโลสนาโนคริสตัล (CNC) มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. และยืดอายุการเก็บรักษาอย่างมีคุณภาพโดยปลอดภัยต่อผู้บริโภคเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

กิตติกรรมประกาศ: ขอบพระคุณ อาจารย์ณัฐภัทร เหล่าเนตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้ให้ความรู้ความช่วยเหลือ และข้อคิดเห็นต่างๆอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อศิษย์ ขอขอบพระคุณโรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬารามราชวิทยาลัย พิษณุโลกและเจ้าหน้าที่ทุกภาคส่วนของห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ต่างๆ สำหรับทำการศึกษาค้นคว้าและสร้างองค์ความรู้ ตลอดจนเสร็จสิ้น

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2565) มูลค่าสินค้าส่งออก สินค้านำเข้า และดุลการค้าของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้แห่งประเทศไทย.สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.
2. นันทวัน หัตถมาศ และคณะ (2565) การเปลี่ยนแปลงคุณภาพและสารสำคัญของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่เคลือบด้วย Chitosan-based Multicoating ระหว่างการวางจำหน่าย. Postharvest Newsletter, 21(2), 1-6.
3. พรพรรณ อู่สุวรรณ และคณะ (2566) ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากบุคลากรสกัดต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสมะม่วง. สาขาวิชาเทคโนโลยีพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.
4. อริสา วันทัศน์ (2563) ผลของการเคลือบด้วยไคโตซานร่วมกับไคโตซาน-มอนต์มอริลไลต์นาโนคอมโพสิตต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลกล้วยหอมทอง. วิทยาสตรศุภบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
5. กิตติยา ปลื้มใจ และคณะ (2563) การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนและหมู่ฟังก์ชันของเซลล์ลูโลสจากขาน้อย. กรมวิทยาศาสตร์บริการ วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
6. ฉัญญ์ณลิน วัฒนุประสิทธิ์และคณะ (2564) นาโนเซลล์ลูโลส : การประยุกต์ใช้ในอาหารและความปลอดภัยอาหาร วารสารพิษวิทยาไทย, 32(1), 67-79.
7. Jirada Singkhonrat, Chitchamai Ovatarnporn, Kashif Ur rehman and Khan Abdul Basit (2023) Fabrication of different nanocrystal (CNC)-based coatings for the enhancement of shelf life and quality of minimally processed fruits. Article in Cellulose 10.1007/s10570-023-05583-0
8. Nehar Parvin, Afrina Rahman, Jayanta Roy, Md Harun Rashid 3ORCID, Newton Chandra Paul, Md. Asif Mahamud, Shahin Imran 4ORCID, Md. Arif Sakil 6ORCID, F M Jamil Uddin, Md. Elias Molla, Mubarak A. Khan, Md. Humayun Kabir 9ORCID and Md. Abdul Kader (2023) Chitosan Coating Improves Postharvest Shelf-Life of Mango (*Mangifera indica* L.). Horticulturae 9, 64
9. N.S.Resende, G.A.S.Gonçalves, K.C.Reis, G.H.D.Tonoli, and E.V.B.V.Boas (2018) Chitosan/Cellulose Nanofibril Nanocomposite and Its Effect on Quality of Coated Strawberries. Hindawi Journal of Food Quality Volume , Article ID 1727426, 13 pages

พลาสติกชีวภาพจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่มีสารสกัดจากเมล็ดสะเดาเพื่อกำจัดเพลี้ยจากฝรั่ง

Bioplastic from Banana Peels with Neem Extract for Eliminate Aphids from Guava

ทักษพร ผาสุกมโน¹, วรณิดา พรหมสมชา¹, ศุภัตรา ประทุมชาติ², วิภา อาสิงสมานันท์^{1*}

Taksaphorn Phasukmano¹, Wannida Promsomsa¹, Supatra Pratumshat², Wipa Arsingsamanan^{1*}

¹ โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาภรณราชวิทยาลัย พิษณุโลก

¹ Princess Chulabhorn Science High School Phitsanulok

² ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

² Department of Chemistry, Faculty of Science, Naresuan University

Correspondence: wipa.arsing@gmail.com

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาอัตราส่วนของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส : พลาสติกไซเซอร์ที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพ 2) ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาที่เหมาะสมต่อการกำจัดเพลี้ยและ 3) ศึกษาสมบัติเชิงกล สมบัติทางกายภาพและการส่องผ่านแสงของพลาสติกชีวภาพที่มีสารสกัดสะเดา ผลพบว่า 1) อัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพคือ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส : ซอร์บิทอล : ไตรเอทิลซิเตรต 30 : 2 : 3 ใช้เวลาละลายน้ำ 41.46 นาที มีค่าการยืดตัวร้อยละ 80.38±3.50 2) ความเข้มข้นสารสกัดสะเดาร้อยละ 1.41 w/v สามารถกำจัดเพลี้ยได้ร้อยละ 100 3) พลาสติกชีวภาพที่มีสารสกัดสะเดาร้อยละ 1.41 w/v ใช้เวลาละลายน้ำ 38.12 นาที มีค่าแรงดึง 4.27±0.15 นิวตัน มีค่าความเครียด 0.98±0.02 เมกะปาสคาล มีค่าการยืดตัวร้อยละ 70.33±5.11 และมีค่าแสงส่องผ่าน 226.85±2.11 ลักซ์ ดังนั้นพลาสติกชีวภาพจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่มีสารสกัดสะเดามีศักยภาพลดปริมาณขยะป้องกันเพลี้ยและลดความเข้มแสงที่ผ่านมายุ่นผลฝรั่งทำให้ฝรั่งมีลักษณะตรงตามมาตรฐานสินค้าเกษตร

คำสำคัญ: พลาสติกชีวภาพ, สารสกัดสะเดา, ฝรั่ง

Abstract: This research aimed to 1) determine the optimal ratio of carboxymethyl cellulose to plasticizers for the formation of bioplastic 2) investigate the appropriate concentration of neem extract for aphid control and 3) study the mechanical properties, physical characteristics, and light transmittance of bioplastic containing neem extract. The results revealed that 1) the optimal ratio for bioplastic formation was carboxymethyl cellulose : sorbitol : triethyl citrate at 30 : 2 : 3, with a water dissolution time of 41.46 minutes and an elongation percentage of 80.38±3.50% 2) neem extract at a concentration of 1.41% w/v effectively eliminated 100% of aphids and 3) bioplastic with 1.41% w/v neem extract had a water dissolution time of 38.12 minutes, a tensile strength of 4.27±0.15 newtons, a stress value of 0.98±0.02 megapascals, an elongation percentage of 70.33±5.11%, and a light transmittance value of 226.85±2.11 lux. Therefore, bioplastic made from banana peel and incorporated with neem extract demonstrates potential in reducing waste, preventing aphid infestations, and decreasing light intensity that can damage guava fruits, helping them meet agricultural product standards.

Keywords: Bioplastic, Neem Extract, Guava

1. บทนำ

ฝรั่งเป็นผลไม้ที่คนไทยนิยมรับประทานเนื่องจากหารับประทานได้ตลอดปี เกษตรกรจึงนิยมปลูกฝรั่ง จากข้อมูลในปี พ.ศ. 2555 ระบุว่าประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกฝรั่งทั้งหมด 40,500 ไร่ [1] จึงทำให้ฝรั่งมีปริมาณการขายทั้งในประเทศและต่างประเทศเป็นจำนวนมาก โดยในปี พ.ศ. 2564 มีการส่งออกฝรั่งคิดเป็นมูลค่า 157.59 ล้านบาท [2] ลักษณะของผลฝรั่งที่มีคุณภาพดีตามมาตรฐานสินค้าเกษตรจะมีลักษณะผลที่สมบูรณ์รูปร่างตรงตามพันธุ์ เนื้อมีสีขาว รสชาติหวานอมเปรี้ยว ไม่มีตำหนิและปราศจากร่องรอยจากการเข้าทำลายของเพลี้ย [3] จากการสอบถามปัญหาจากเกษตรกรผู้ปลูกฝรั่งในจังหวัดพิษณุโลก พบว่าฝรั่งเป็นผลไม้ที่มีเปลือกบางจึงมักถูกเพลี้ยเจาะทำลายทำให้ผลฝรั่งได้รับความเสียหายได้ง่าย นอกจากนี้หากฝรั่งได้รับแสงมากเกินไปจะทำให้ผิวของฝรั่งมีตำหนิ ส่งผลให้ขายได้ในราคาต่ำลง แม้จะมีตำหนิเพียงเล็กน้อย เกษตรกรจึงนิยมป้องกันเพลี้ยและลดการสัมผัสกับแสงแดดด้วยการห่อผลฝรั่งด้วยถุงพลาสติก ซึ่งการใช้ถุงพลาสติกเป็นการใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้งส่งผลให้เกิดขยะ

พลาสติกเหลือทิ้งจำนวนมาก [4] เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้เราจึงมีความจำเป็นในการหาวัตถุดิบที่สามารถใช้ในการขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพที่สามารถป้องกันเชื้อและลดการผ่านของแสงแดดได้

ผลผลิตกล้วยน้ำว้าในจังหวัดพิษณุโลก ปี 2566 มีพื้นที่ปลูก 10,189 ไร่ มีเกษตรกรผู้ปลูก 2,514 ราย ผลผลิตรวม 10,228 ตัน/ปี [5] โดยเกษตรกรปลูกกล้วยน้ำว้าเพื่อใช้ผลในการแปรรูปเป็นอาหาร เช่น กล้วยตาก กล้วยบวชชี จากกระบวนการแปรรูปกล้วยดังกล่าวจะพบว่าเปลือกกล้วยเป็นของเหลือทิ้ง [6] ซึ่งในเปลือกกล้วยประกอบด้วยเซลลูโลส สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสซึ่งมีมูลค่าสูงในอุตสาหกรรม สำหรับนำมาขึ้นรูปเป็นพลาสติกชีวภาพที่สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ [7] จากการสืบค้นพบว่าสะเดาเป็นไม้พื้นเมืองของไทยที่เจริญเติบโตได้ดีในที่แล้ง หาได้ง่ายและมีราคาถูก สารสกัดที่ได้จากสะเดาประกอบด้วยสารเคมีสำคัญหลายชนิดโดยเฉพาะสารกลุ่มไทรเทอร์พีนอยด์ที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อแมลง โดยเมล็ดและใบของสะเดาจะมีสารอาซาโดแรคตินมีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงและศัตรูพืช [8] มีประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยอ่อนโดยทำให้ระบบประสาทของเพลี้ยหยุดการตอบสนอง ทำให้เพลี้ยหยุดกินอาหารและตาย [9] มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยโดยทำให้ตัวเต็มวัยของเพลี้ยเกิดความผิดปกติ [10] และมีผลต่อการยับยั้งการลอกคราบของแมลงทำให้แมลงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ [11]

จากปัญหาและข้อมูลข้างต้น คณะผู้จัดทำจึงเกิดแนวคิดในการพัฒนาถุงห่อผลฝรั่งจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับถุงพลาสติกและยังสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ อีกทั้งยังใช้สารเคมีสำคัญจากสะเดาเพื่อป้องกันการทำลายจากเชื้อและลดความชื้นแสงที่ทำลายผิวฝรั่งเพื่อเพิ่มคุณภาพของถุงห่อผลฝรั่งให้ฝรั่งมีคุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานสินค้าเกษตร นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งในชุมชนและเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดเป็นถุงพลาสติกชีวภาพสำหรับห่อผลไม้ชนิดอื่นต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1. การศึกษาหาอัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากเปลือกกล้วยน้ำว้าและพลาสติกไซเซอร์ที่เหมาะสมในการขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพ

การสังเคราะห์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

นำเปลือกกล้วยน้ำว้าเหลือทิ้งจากร้านขายกล้วยตากในจังหวัดพิษณุโลกน้ำหนัก 2 กิโลกรัมมาล้างน้ำ จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำผลเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ได้มาต้มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอาเยื่อออกและทำให้มีค่า pH เป็นกลางและนำเยื่อมาปั่นและฟอกขาวด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำผงมาละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ผสมกรดโมโนโคลโรอะซิติก แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เป็นกลางโดยใช้กรดซิตริกเข้มข้น แล้วล้างด้วยเอทานอลบริสุทธิ์และกรองออก จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

นำคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสที่ได้มาผสมเพื่อขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพ โดยนำผงคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสผสมกับน้ำอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดเพื่อขึ้นรูปเป็นพลาสติกชีวภาพโดยเติมพลาสติกไซเซอร์ ได้แก่ กลีเซอรอล ซอร์บิทอลและไตรเอทิลซีเตรต ดังตารางที่ 1 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำฟิล์มที่ได้มาวิเคราะห์ผลโดยใช้เครื่องทดสอบแรงดึงเพื่อหาค่าแรงที่ใช้ในการดึง, ค่าความเครียด และค่าร้อยละการยืดตัวและหาระยะเวลาการละลายน้ำของพลาสติกชีวภาพโดยตัดให้มีขนาด 2*2 ตารางเซนติเมตร แล้วแช่ในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำ 30 มิลลิลิตร พร้อมจับเวลาเริ่มต้นเมื่อตัวอย่างสัมผัสน้ำและสิ้นสุดเมื่อฟิล์มพลาสติกชีวภาพละลายจนไม่สามารถคงรูปหรือคุณสมบัติดั้งเดิมได้

ตารางที่ 1 สูตรของพลาสติกชีวภาพที่อัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อพลาสติกไซเซอร์ต่าง ๆ

สูตร	พลาสติกไซเซอร์	อัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส : พลาสติกไซเซอร์ชนิดที่ 1 : พลาสติกไซเซอร์ชนิดที่ 2
1	ซอร์บิทอล : ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 5 : 3
2	กลีเซอรอล : ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 7.5 : 3.75
3	ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 1.5
สูตร	พลาสติกไซเซอร์	อัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส : พลาสติกไซเซอร์ชนิดที่ 1 : พลาสติกไซเซอร์ชนิดที่ 2
4	ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 0.75
5	กลีเซอรอล : ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 3.75 : 3.75
6	ซอร์บิทอล : ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 2 : 3
7	ซอร์บิทอล : ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 3 : 3
8	ซอร์บิทอล : ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 0.375 : 0.75
9	ซอร์บิทอล : ไตรเอทิลซีเตรต	30 : 0.75 : 0.75

2.2. การศึกษาหาความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาที่เหมาะสมต่อการกำจัดเพลี้ย

นำเมล็ดเนื้อในสะเดาจากร้าน Neempower ผสมกับน้ำกลั่น จากนั้นแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 16 ชั่วโมง โดยมีความเข้มข้นร้อยละ 0.02, 0.12, 0.41 และ 1.41 โดยมวลต่อปริมาตรแล้วนำไปกรองออก จากนั้นนำไปพ่นที่มเพลี้ยจำนวน 10 ตัว วางบนจานเพาะเชื้อ นำสารสกัดสะเดาที่ได้ฉีดพ่นใส่ใบฝรั่ง ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำซ้ำ 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ยการตายของแต่ละสูตร

วิเคราะห์ผลโดยหาอัตราการตายของเพลี้ยโดยใช้สูตร

$$\text{ค่าเฉลี่ยการตายของเพลี้ย} = (\text{ผลรวมการตายของจำนวนเพลี้ยที่ตาย} / \text{ผลรวมจำนวนเพลี้ยทั้งหมด}) \times 100$$

2.3. ศึกษาสมบัติเชิงกล สมบัติทางกายภาพและการส่องผ่านแสงของพลาสติกชีวภาพที่มีสารสกัดสะเดาสำหรับเป็นถุงห่อผลฝรั่ง

ศึกษาสมบัติเชิงกล สมบัติทางกายภาพและการส่องผ่านแสงของถุงห่อผลฝรั่งจากพลาสติกชีวภาพที่มีสารสกัดสะเดาโดยเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับถุงพลาสติกห่อผลฝรั่งในท้องตลาด วิเคราะห์ผลโดยทดสอบความสามารถในการละลายน้ำ โดยนำพลาสติกชีวภาพและพลาสติกในท้องตลาดแช่ในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำ 30 มิลลิลิตร แล้วสังเกตการละลายพร้อมจับเวลา หาค่าเฉลี่ยของค่าแรงที่ใช้ในการดึง, ค่าความเครียด และค่าร้อยละการยืดตัวที่ได้จากเครื่องทดสอบแรงดึง (tensile testing machine) และหาค่าแสงที่ส่องผ่านโดยใช้ลักซ์มิเตอร์

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

3.1 ผลการศึกษาหาอัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากเปลือกกล้วยน้ำว้าและพลาสติกไฮดรอกซีที่เหมาะสมในการขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพ

การศึกษาคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากเปลือกกล้วยน้ำว้าและพลาสติกไฮดรอกซีที่เหมาะสมในการขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพ พบว่าคุณสมบัติของพลาสติกชีวภาพสูตรที่ 6 สามารถละลายน้ำได้โดยใช้ระยะเวลาในการละลายจนหมด 41.46 นาที ซึ่งเป็นระยะเวลานานที่สุด โดยในการละลายน้ำจนหมดเนื่องจากมีไตรเอทิลซิเตรตที่เป็นสารที่ละลายในไขมัน ทำให้มีความสามารถในการย่อยสลายโดยการละลายน้ำได้น้อย [12] จากการทดสอบสมบัติทางกลพบว่าสูตรที่ 7 สามารถทนแรงดึงได้มากที่สุดอยู่ที่ 16.07 ± 0.60 นิวตัน เนื่องจากมีฮอริบิทอลเป็นสารที่ให้ความยืดหยุ่นและเสถียรภาพได้ [13] สูตรที่มีค่าความเครียดในการดึงสูงที่สุดคือสูตรที่ 8 ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 2.04 ± 0.02 เมกะปาสคาลเนื่องจากมีอัตราส่วนฮอริบิทอลและไตรเอทิลซิเตรตน้อยที่สุดทำให้มีลักษณะแข็งแต่ยืดหยุ่นน้อย สูตรที่มีค่าการยืดตัวสูงที่สุดคือสูตรที่ 6 ซึ่งมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 80.38 ± 3.50 เนื่องจากมีอัตราส่วนฮอริบิทอลและไตรเอทิลซิเตรตที่เหมาะสมทำให้มีความยืดหยุ่นที่ดีและยังใช้เวลาในการย่อยสลายโดยน้ำมากที่สุด [14] สรุปได้ว่าพลาสติกชีวภาพสูตรที่ 6 มีคุณสมบัติทางกลที่ดีที่สุดเนื่องจากใช้ระยะเวลาในการละลายน้ำมากที่สุดถึง 41.46 นาทีและมีค่าการยืดตัวสูงที่สุดถึงร้อยละ 80.38 ± 3.50 ได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการศึกษ้อัตราส่วนที่เหมาะสมในการขึ้นรูปพลาสติกชีวภาพสำหรับพัฒนาเป็นถุงห่อผลฝรั่ง

สูตร	ระยะเวลาการละลายน้ำ (นาที)	สมบัติเชิงกลของของพลาสติกชีวภาพจากการทดสอบโดยใช้เครื่องทดสอบแรงดึง		
		แรง (นิวตัน)	ค่าความเครียด (เมกะปาสคาล)	ค่าการยืดตัว (ร้อยละ)
1	31.20	5.23 ± 0.12	0.89 ± 0.07	$79.45 \pm 0.19^*$
2		-		
3	18.36	2.79 ± 0.46	0.66 ± 0.02	3.08 ± 0.58
4	2.51	4.24 ± 0.65	0.45 ± 0.02	4.30 ± 1.55
5	34.05	8.86 ± 0.57	0.93 ± 0.02	$57.38 \pm 5.72^*$
สูตร	ระยะเวลาการละลายน้ำ (นาที)	สมบัติเชิงกลของของพลาสติกชีวภาพจากการทดสอบโดยใช้เครื่องทดสอบแรงดึง		
		แรง (นิวตัน)	ค่าความเครียด (เมกะปาสคาล)	ค่าการยืดตัว (ร้อยละ)
6	41.46	4.36 ± 0.09	1.06 ± 0.03	$80.38 \pm 3.50^*$
7	32.42	$16.07 \pm 0.60^*$	1.48 ± 0.04	54.05 ± 4.57
8	16.40	4.32 ± 0.19	2.04 ± 0.02	8.70 ± 0.03
9	3.33	6.00 ± 0.08	0.71 ± 0.01	$52.87 \pm 0.22^*$

* $p \leq 0.05$

*หมายเหตุ สูตรที่ 2 ไม่สามารถวัดผลได้

3.2 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาที่เหมาะสมต่อการกำจัดเพลี้ยและลดความสามารถในการส่องผ่านของแสงแดด

พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดสะเดา ทำให้อัตราการตายของเพลี้ยเพิ่มขึ้นตามโดยความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาร้อยละ 1.41 สามารถกำจัดเพลี้ยได้ร้อยละ 100.00±0.00 ในขณะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.02, 0.12 และ 0.41 สามารถกำจัดเพลี้ยได้ 53.33±5.77, 66.67±5.77 และ 73.33±5.77 ตามลำดับ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสะเดาที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.41 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดเพลี้ยและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาพลาสติกชีวภาพสำหรับห่อผลฝรั่งเพื่อลดปัญหาศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาที่มากขึ้นจะทำให้มีปริมาณสารอะซีไดแรคตินซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงหรือศัตรูพืชมีมากขึ้นและสารสกัดสะเดามีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 1 โดยมวลต่อปริมาตรช่วยลดการตกค้างบนผลฝรั่งเนื่องจากอยู่ในปริมาณที่เหมาะสม [8] ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาที่มีคุณสมบัติในการกำจัดเพลี้ย

ความเข้มข้นของสารสกัดสะเดา (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ย±SD (ร้อยละ)
0.02	53.33±5.77
0.12	66.67±5.77
0.41	73.33±5.77
1.41	100.00±0.00

3.3 ผลการศึกษาสมบัติเชิงกล สมบัติทางกายภาพและการส่องผ่านแสงของพลาสติกชีวภาพที่มีสารสกัดสะเดา

พลาสติกชีวภาพจากเปลือกกล้วยน้ำว้าสูตรที่ 6 ที่มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาร้อยละ 1.41 สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ มีสมบัติทางกายภาพในการละลายน้ำทั้งหมด 38.12 นาที ซึ่งช่วยลดปัญหามลพิษ ต่างจากพลาสติกทั่วไปที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ จากการทดสอบสมบัติเชิงกลพบว่าพลาสติกชีวภาพมีแรงที่สามารถทนได้สูงสุดอยู่ที่ 4.27±0.15 นิวตัน มีค่าความเครียด 0.98±0.02 เมกะปาสคาล มีค่าการยืดตัวร้อยละ 70.33±5.11 ในขณะที่ถุงพลาสติกทั่วไปมีแรงที่สามารถทนได้สูงสุด อยู่ที่ 25.24±0.13 นิวตัน มีค่าความเครียด 6.45±0.02 เมกะปาสคาล มีค่าการยืดตัวร้อยละ 151.23±10.35 อย่างไรก็ตามพลาสติกชีวภาพนี้มีสมบัติทางกลที่ต่ำกว่าถุงพลาสติกทั่วไป โดยมีค่าแรงสูงสุดที่พลาสติกทนได้ค่าความเครียดและค่าการยืดตัวที่ต่ำกว่าทำให้พลาสติกชีวภาพไม่สามารถรับน้ำหนักได้มากหรือมีความสามารถในการยืดหยุ่นได้ดีเท่ากับพลาสติกทั่วไป จึงมีความเหมาะสมในการใช้งานที่ไม่ต้องรองรับหรือรับแรงดึง เมื่อทดสอบการผ่านของแสงโดยเครื่องลักซ์มิเตอร์ พบว่าถุงห่อผลฝรั่งจากพลาสติกชีวภาพที่มีสารสกัดสะเดาสามารถลดการผ่านของแสงได้ดีกว่า โดยมีค่าแสงส่องผ่าน 226.85±2.11 ลักซ์ เทียบกับถุงพลาสติกทั่วไปที่มีค่าแสงส่องผ่าน 256.19±86.34 ลักซ์ เนื่องจากสารอะซีไดแรคตินในสารสกัดสะเดาสามารถเสริมการป้องกันรังสี UV และพัฒนาเป็นวัสดุป้องกันแสงได้ [12] ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการศึกษาสมบัติเชิงกล สมบัติทางกายภาพและการส่องผ่านแสงของพลาสติกชีวภาพที่มีสารสกัดสะเดา

ชนิดของถุงพลาสติก	ระยะเวลาที่ละลายน้ำ (นาที)	สมบัติเชิงกลของพลาสติกชีวภาพจากการทดสอบโดยใช้เครื่องทดสอบแรงดึง			ค่าแสงส่องผ่าน (ลักซ์)
		แรง (นิวตัน)	ค่าความเครียด (เมกะปาสคาล)	ค่าการยืดตัว (ร้อยละ)	
พลาสติกชีวภาพจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่มีสารสกัดจากสะเดา ร้อยละ 1.41 w/v	38.12	4.27±0.15	0.98±0.02	70.33±5.11	226.85±2.11
ถุงพลาสติกทั่วไป	ไม่สามารถละลายน้ำได้	25.24±0.13	6.45±0.02	151.23±10.35	256.19±86.34

4. สรุปผลการทดลอง

พลาสติกชีวภาพจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส : ซอร์บิทอล : ไตรเอทิลซิเตรต 30 : 2 : 3 และสารสกัดสะเดาที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.41 w/v มีความสามารถป้องกันเพลี้ยและลดการผ่านของแสงได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับกับถุงพลาสติกทั่วไปตามท้องตลาดและยังสามารถย่อยสลายตามธรรมชาติโดยอาศัยความชื้นได้ ทำให้ผลฝรั่งมีคุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานสินค้าเกษตร

กิตติกรรมประกาศ: โครงการนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี โดยได้รับคำแนะนำและคำชี้แนะจาก ดร.วิภา อาสิงสมานันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภัตรา ประทุมชาติ อาจารย์ที่ปรึกษาพิเศษ ที่คอยให้คำปรึกษาและคอยให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี อีกทั้งยังได้รับการสนับสนุนจากทางโรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬารณราชวิทยาลัย พิษณุโลก ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

1. อรประภา เทพศิลป์วิสุทธิ์, รุ่งเกียรติ แก้วเพชร, พกตร์เพ็ญ ภูมิพันธ์ (2563) แนวทางในการพัฒนากระบวนการผลิตฝรั่งอินทรีย์กรณีศึกษาเกษตรกรผู้ปลูกฝรั่งอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม. วารสารเกษตรกรรมศาสตร์:658
2. กลุ่มพัฒนาเศรษฐกิจฐานรากกองนโยบายการสร้างความเข้มแข็งทางการค้า (2565) วิเคราะห์สถานการณ์ภูมิภาคประจำเดือนสิงหาคม2565:2
3. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2564) มาตรฐานสินค้าเกษตรขบขยายฝรั่งบริโภคสด.
4. เจ้าของสวนฝรั่งแห่งหนึ่งในจังหวัดพิษณุโลก (2567) การสื่อสารส่วนบุคคล.
5. สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดพิษณุโลก. (2567) กล้วยน้ำว้ามะลือ่ง จ.พิษณุโลก สินค้าเกษตรที่มีศักยภาพทดแทนการผลิตข้าวนาปีในพื้นที่ไม่เหมาะสมสร้างรายได้เกษตรกร.
6. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร (2561) ถ่านอัดแท่งและถ่านกัมมันต์ จากเปลือกกล้วยและเครือกล้วย.
7. จันทรสุวรรณ, วรวิทย์, สิริรัตน์ พานิช (2562) การเพิ่มมูลค่าของเปลือกกล้วยเหลือทิ้งเพื่อกำจัดสารพิษในน้ำ:39-41
8. National Library of Medicine (2016) Neem A Tree For Solving Global Problems.
9. นันทนา นนท์แข็ง, สุชาติ กลางจอหอ, จริยา รอดดี (2562) ประสิทธิภาพสารสกัดสมุนไพรต่อการควบคุมเพลี้ยอ่อน *Macrosiphum euphorbiae* ในมะเขือเทศ:369
10. เจ้าของสวนฝรั่งแห่งหนึ่งในจังหวัดพิษณุโลก (2567) การสื่อสารส่วนบุคคล.
11. สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดเชียงรายสำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2566) สะเดาป้องกันกำจัดศัตรูพืช.
12. Asif Javed, Musaddaq Azeem, Jana Saskova (2562) UV protective fabrics by application of ball milled Neem tree leaves:1
13. S. Gaudin, D. Lourdin, D. Le Botlan (2542) Plasticisation and Mobility in Starch-Sorbitol Films: 273–284
14. จิรวรรณ วาจาจิริด (2564) พลาสติกไซเซอร์.

ความแปรปรวนของลักษณะปากใบที่สัมพันธ์กับการทนแล้งในอ้อย

Variation in stomatal characteristics related to drought tolerance in sugarcane

เทวัญ มาตจรัส¹, กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ¹, นวลกมล อำนวยสิน¹

Thewan Masjaras¹, Kittipat Ukoskit¹, Nuankamol Amnuaysin¹

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

¹ Biotechnology Faculty of Science and Technology Thammasat University

Correspondence: the.win.wan@gmail.com

บทคัดย่อ: ปากใบควบคุมการสูญเสียน้ำและแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้นความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งอาจเกี่ยวข้องกับปากใบ การตรวจสอบความหลากหลายของอ้อย 160 พันธุ์ โดยการวัดความหนาแน่นและขนาดปากใบด้านล่างและด้านบนผิวใบโดยใช้เทคนิคน้ำยาทาเล็บลอกผิวใบ มีความหลากหลายมากตามพันธุ์อ้อย โดยความหนาแน่นปากใบด้านล่างใบมีค่า 117.48 ถึง 330.24 ต่อตารางมิลลิเมตร (197.08 ± 34.76 ต่อตารางมิลลิเมตร) และมีขนาด 28.77 ถึง 52.69 μm ($43.06 \pm 3.67 \mu\text{m}$) ส่วนความหนาแน่นด้านบนใบมีค่า 56.03 ถึง 130.29 ต่อตารางมิลลิเมตร (84.33 ± 13.76 ต่อตารางมิลลิเมตร) และมีขนาด 30.05 ถึง 54.13 μm ($43.47 \pm 3.54 \mu\text{m}$) ลักษณะมีการกระจายตัวแบบโค้งปกติซึ่งแสดงถึงลักษณะปริมาณที่ควบคุมด้วยหลายยีน การหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลการทนแล้งกับลักษณะปากใบพบว่าอ้อยพันธุ์ทนแล้ง 23 พันธุ์ มีขนาดปากใบใหญ่แต่จำนวนน้อยเมื่อเทียบกับอ้อยพันธุ์อื่น ผลวิจัยแสดงว่ามีความหลากหลายของความหนาแน่นและขนาดปากใบและมีความสัมพันธ์กับการทนแล้งของอ้อย

คำสำคัญ: อ้อย, ความหนาแน่นและขนาดปากใบ

Abstract: Stomata regulate water loss and CO₂ uptake during photosynthesis, and thereby the drought tolerance of sugarcane may relate to stomatal functioning. A sugarcane diverse germplasm of 160 varieties was measured for density and size of the stomata on abaxial (lower) and adaxial (upper) surfaces of the leaves using a nail polish peeling technique. Stomata were located large variation of density and size in both surfaces among sugarcane accessions. The abaxial stomata density were between 117.48 to 330.24 per mm² (197.08 ± 34.76 per mm²) and stomata size were between 28.77 to 52.69 μm ($43.06 \pm 3.67 \mu\text{m}$). While the adaxial stomata density were between 56.03 to 130.29 per mm² (84.33 ± 13.76 per mm²) and stomata size were between 30.05 to 54.13 μm ($43.47 \pm 3.54 \mu\text{m}$). All stomata characteristics showed a normal curve distribution, representing quantitative traits controlled by many genes. Based on observed data of drought tolerance of sugarcane varieties used in the present study, the drought tolerance sugarcane 23 varieties contained large size and low-density stomata compared to other sugarcane varieties. These results suggested that a large variation in stomatal density and stomatal size was related to drought tolerance in sugarcane.

Keywords: Sugarcane, stomata density and stomata size

1. บทนำ

อ้อยเป็นพืชอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย ทั้งในด้านการผลิต การแปรรูป และการพัฒนาอุตสาหกรรมต่อเนื่อง การบริหารจัดการพื้นที่เพาะปลูกอ้อยอย่างมีประสิทธิภาพจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการสนับสนุนการพัฒนาที่ยั่งยืนของภาคเกษตรและอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องต่อเนื่องอื่นๆ เช่น การผลิตไฟฟ้า ไม้อัด กระดาษ เอทานอล และผลิตภัณฑ์อาหาร เป็นต้น

แต่อุตสาหกรรมอ้อยกลับมีปัญหาคือ ผลผลิตรวมและผลผลิตต่อไร่มีความผันแปรสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตอ้อยและค่าความหวานของอ้อยที่เพาะปลูกโดยเกษตรกรไทยกับเกษตรกรประเทศอื่นๆ การผันแปรของผลผลิตอ้อยอาจมีสาเหตุจากการเตรียมดินตื้น การขาดเครื่องมือเขตกรรมขาดการอนุรักษ์ดินและน้ำ การปลูกและบำรุงรักษาไม่ถูกวิธี หรือประสบกับสภาวะภัยแล้งเพราะสภาพแวดล้อมในพื้นที่ประเทศไทยส่วนใหญ่มีภูมิอากาศร้อนชื้นและขาดแคลนน้ำ เมื่อกระทบภัยแล้งอ้อยจะเหี่ยวแห้งตาย แคร่แกรน หรือหยุดการเจริญเติบโต [1]

จากปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภัยแล้ง พืชมีการปรับตัวด้วยวิธีการต่างๆ เช่น ลดการเปิดปิดของปากใบและลดการคายน้ำของพืช ซึ่งความหนาแน่นและขนาดของปากใบจะมีผลต่ออัตราการคายน้ำและการแลกเปลี่ยนแก๊ส รวมทั้งการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช ปากใบส่วนใหญ่จะ

เกิดขึ้นบนพื้นผิวด้านล่างของใบมากกว่าด้านบนของใบในพืชบกและปากใบใหม่จะถูกสร้างขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงการเจริญเติบโตของใบ ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน [2]

ซึ่งจากปัญหาข้างต้น การหาพันธุ์อ้อยที่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมแล้งได้ดี และยังคงให้ผลผลิตและคุณภาพที่ดีอยู่ เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุนและเพิ่มรายได้ และมีความเหมาะสมในการปลูกในหลายๆพื้นที่ เนื่องจากพันธุ์อ้อยถือเป็นเทคโนโลยีขั้นพื้นฐานที่สุด และเกษตรกรชาวไร่อ้อยสามารถเข้าถึงได้ง่ายที่สุด โดยงานวิจัยนี้จะศึกษาไปที่ลักษณะปากใบ โดยอ้อยแต่ละพันธุ์จะมีความหนาแน่นและขนาดของปากใบที่ต่างกัน ซึ่งอาจจะมีผลต่อการที่สามารถทนแล้ง เพราะปากใบมีผลต่อการสูญเสียน้ำ จึงมีความสนใจศึกษาลักษณะปากใบของอ้อยที่มีความสัมพันธ์กับการทนแล้ง วัตถุประสงค์ของงานวิจัย คือ เพื่อศึกษาความหลากหลายของความหนาแน่นและขนาดของปากใบในอ้อยที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม และหาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นและขนาดปากใบกับลักษณะทนแล้งของอ้อยในเบื้องต้น

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1. พืชทดลอง

ตัวอย่างอ้อยที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมดมี 160 พันธุ์ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่รวบรวมมาจากแหล่งในทวีปต่าง ๆ ทั่วโลก แบ่งได้เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มตัวอย่างจากทวีปแอฟริกา 8 พันธุ์ ทวีปอเมริกา 21 พันธุ์ ทวีปเอเชีย 104 พันธุ์ ทวีปออสเตรเลีย 18 พันธุ์ ทวีปยุโรป 1 พันธุ์ และกลุ่มที่ไม่ทราบแหล่งที่มาของตัวอย่าง 8 พันธุ์ โดยมีอ้อยพันธุ์ประเภททนแล้ง (Drought) 23 พันธุ์ และพันธุ์ประเภทอื่น ๆ (Fiber/Biomass, Free trash, Poor, Sugar, Yield) 137 พันธุ์ ซึ่งปลูกที่ศูนย์นวัตกรรมและการวิจัยมิตรผล บริษัทมิตรผลวิชัย ที่ตำบลโคกสะอาด อำเภอภูเขียว จังหวัดชัยภูมิ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (Randomized Complete Blocks Design; RCBD) จำนวน 2 ซ้ำ โดยปลูกอ้อยพันธุ์ละ 2 แถว ยาว 5 เมตร โดยใช้ระยะปลูก 1.5 x 0.5 เมตร

2.2. การเก็บข้อมูลปากใบ

การเก็บข้อมูลลักษณะปากใบจากอ้อยอายุ 10 เดือน ตัดยอดและเลือกใบแรกของข้อแรกที่ยอด (ภาพที่ 1) โดยสุ่มเก็บ 2 ต้น จากแต่ละพล็อต เก็บในตำแหน่งกึ่งกลางใบ ทำการเก็บข้อมูลลักษณะปากใบโดยใช้น้ำยาทาเล็บทาบนผิวด้านล่างและด้านบนรวมทั้งหมด 4 ตำแหน่ง จากนั้นลอกน้ำยาทาเล็บจากผิวใบมาวางบนสไลด์ ปิดด้วย cover glass แล้วตรวจสอบดูภายใต้ กล้องถ่ายภาพจุลทรรศน์ (Olympus) โดยใช้กำลังขยายของเลนส์วัตถุขนาด 10X ทำการบันทึกภาพแบบสุ่ม 2 ตำแหน่ง และนับจำนวนปากใบ ส่วนการวัดขนาดของปากใบตรวจสอบด้วยกล้องถ่ายภาพจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยายของเลนส์วัตถุขนาด 40X ทำการบันทึกภาพ และใช้โปรแกรม ImageJ ในการวัดขนาดและนับจำนวนปากใบ [3-7]



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการเก็บปากใบ

2.3 การวิเคราะห์ผลข้อมูล

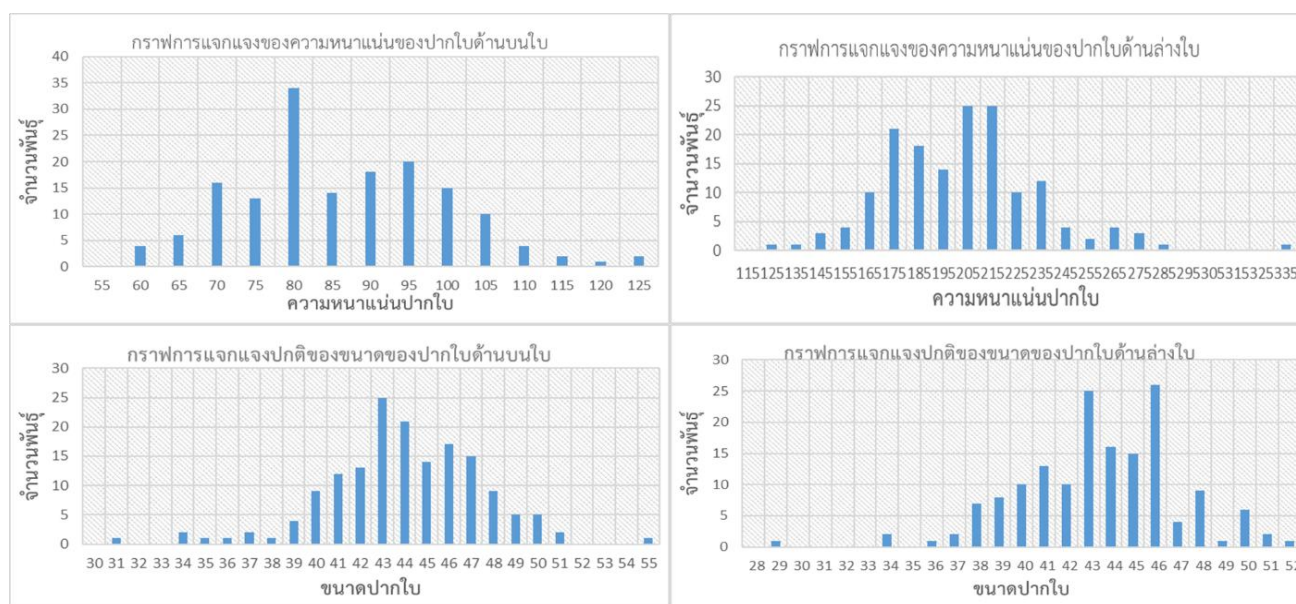
การวิเคราะห์ข้อมูลของลักษณะปากใบเริ่มจากทดสอบลักษณะการแจกแจงของข้อมูลลักษณะปากใบโดยการทำ plot frequency distribution ในโปรแกรม excel 2019 โดยแกน X คือ ช่วงของข้อมูลที่เป็นลักษณะของปากใบ และแกน Y คือจำนวนพันธุ์ตัวอย่างอ้อยที่มีค่าอยู่ในช่วงนั้นๆ จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะปากใบ โดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม SPSS แล้วแบ่งกลุ่มด้วยวิธีของ Duncan และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Correlation Analysis) ระหว่างลักษณะปากใบคือ ความหนาแน่นของปากใบและขนาดของปากใบ จากนั้นจึงวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับลักษณะอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับอ้อยในสภาพแวดล้อมปกติ (well) และสภาพแวดล้อม

แล้ง (stress) ที่ได้รับความอนุเคราะห์ข้อมูลจากนักวิจัยที่ศูนย์นวัตกรรมและการวิจัยมิตรผล ได้แก่ข้อมูล ความสูงอ้อย (Cane height), จำนวนข้อ (No. of node), ความยาวข้อ (Node length), น้ำหนักอ้อย (Cane weight), จำนวนต้นต่อแถว (Stalk/row), จำนวนต้นต่อไร่ (Stalk/rai), ผลผลิต (Cane yield (ton/rai)), ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำตาล (%CCS), ค่าเปอร์เซ็นต์ไฟเบอร์ (%Fiber), ค่าเปอร์เซ็นต์ความหวาน (%Brix), ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำตาลซูโครส (%Pol), ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำตาลซูโครสปริสุทธิ์ (%Purity), การม้วนของใบ, ค่าความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ (SPAD), ค่าปริมาณน้ำในใบ (Leaf water content), ค่าน้ำหนักใบแห้ง, และค่าประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสง (PSE) โดยใช้โปรแกรม SPSS และทำ Principal Component Analysis (PCA) ของลักษณะปากใบคือ ความหนาแน่นของปากใบ และขนาดของปากใบกับลักษณะอื่นๆ โดยใช้โปรแกรม SPSS ไปที่ Analyze > Dimension Reduction > factor กำหนดค่า Fixed number of factors = 2 นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟ

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

3.1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนลักษณะปากใบ

ผลการหาความหนาแน่นของปากใบด้านบนใบ มีค่าอยู่ในช่วง 56.03 ถึง 130.29 ต่อตารางมิลลิเมตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 84.33 ± 13.76 ต่อตารางมิลลิเมตร ผลการหาความหนาแน่นของปากใบด้านล่างใบ มีค่าอยู่ในช่วง 117.48 ถึง 330.24 ต่อตารางมิลลิเมตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 197.08 ± 34.76 ต่อตารางมิลลิเมตร ส่วนผลการหาขนาดของปากใบด้านบนใบ มีค่าอยู่ในช่วง 30.05 ถึง 54.13 μm มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $43.47 \pm 3.54 \mu\text{m}$ ผลการหาขนาดของปากใบด้านล่างใบ มีค่าอยู่ในช่วง 28.77 และ 52.69 μm มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $43.06 \pm 3.67 \mu\text{m}$ จากกราฟทั้งหมด (ภาพที่ 2) มีลักษณะเป็นกราฟการแจกแจงแบบปกติ แสดงว่าลักษณะของปากใบเป็นลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยหลายยีนและมีการกระจายตัวที่มาก และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะปากใบจากอ้อย 160 พันธุ์ พบว่ามีความแตกต่างระหว่างความแปรปรวนของแต่ละลักษณะ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จึงแบ่งกลุ่มตามวิธีการของ Duncan ผลที่ได้คือ สามารถแบ่งเป็นกลุ่มที่มีความหนาแน่นปากใบด้านบนน้อยได้ 70 พันธุ์ ความหนาแน่นปากใบด้านบนมากได้ 13 พันธุ์ ความหนาแน่นปากใบด้านล่างน้อยได้ 67 พันธุ์ และความหนาแน่นปากใบด้านล่างมากได้ 11 พันธุ์ ส่วนขนาดปากใบสามารถแบ่งเป็นพันธุ์ที่มีขนาดปากใบด้านบนเล็กได้ 8 พันธุ์ ขนาดปากใบด้านบนใหญ่ได้ 46 พันธุ์ ขนาดปากใบด้านล่างเล็กได้ 12 พันธุ์ และขนาดปากใบด้านล่างใหญ่ได้ 40 พันธุ์ และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของลักษณะทางฟีโนไทป์ ได้แก่ ความหนาแน่นด้านบนใบ, ความหนาแน่นด้านล่างใบ, ขนาดปากใบด้านบนใบ, ขนาดปากใบด้านล่างใบ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.01 และ 0.05 พบว่า ความหนาแน่นของปากใบทั้งด้านบนและด้านล่างใบมีความสัมพันธ์เชิงลบ ($r = -0.411$ และ -0.479) กับขนาดของปากใบทั้งด้านบนและด้านล่างใบ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.01 คือ ถ้าความหนาแน่นปากใบมากขนาดของปากใบจะเล็ก แต่ถ้าความหนาแน่นปากใบน้อยขนาดปากใบจะใหญ่



ภาพที่ 2 กราฟการแจกแจงปกติของลักษณะปากใบอ้อย

3.2. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของลักษณะปากใบกับลักษณะทางสรีระวิทยา

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของลักษณะทางฟิโนไทป์ ได้แก่ ความหนาแน่นด้านบนใบ, ความหนาแน่นด้านล่างใบ, ขนาดปากใบด้านบนใบ, ขนาดปากใบด้านล่างใบ กับค่าที่เกี่ยวข้องกับลักษณะผลผลิตอ้อย ได้แก่ ค่า Diameter, No. of node, Node length, Cane weight, Stalk/row, Stalk/rai, Cane yield(ton/rai), ค่า %CCS, ค่า %Fiber, ค่า Pol, ค่า %Pol, ค่า %Purity ในสภาพแวดล้อมที่น้ำสมบูรณ์และน้ำแล้ง, และ ค่าการม้วนของใบ (Leaf curl) ในอ้อยปลูกและอ้อยต่อ รวมทั้งค่าที่เกี่ยวข้องกับการเติบโต เช่น ค่า SPAD, ค่า Leaf water content, น้ำหนักใบแห้ง/ใบ, ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง (PSE), ที่ระดับนัยสำคัญ 0.01 และ 0.05 พบว่า ความหนาแน่นของปากใบทั้งด้านบนและด้านล่างใบมีความสัมพันธ์เชิงลบ ($r = -0.411$ และ -0.479) กับขนาดของปากใบทั้งด้านบนและด้านล่างใบ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.01 คือ ถ้าความหนาแน่นปากใบมากขนาดของปากใบจะเล็ก แต่ถ้าความหนาแน่นปากใบน้อยขนาดปากใบจะใหญ่ ซึ่งลักษณะความหนาแน่นของปากใบด้านล่างก็ จะมีความสัมพันธ์เชิงลบกับ ค่า Diameter, Cane weight ทั้งในสภาพน้ำสมบูรณ์และน้ำแล้ง, และ ค่า No. of node ในสภาพน้ำแล้ง ($r = -.273, -.166, -.237, -.261$, และ $-.221$ ตามลำดับ) แสดงว่า ถ้าความหนาแน่นปากใบที่มากจะส่งผลให้ ค่า Diameter, Cane weight และค่า No. of node น้อยลง ส่วนขนาดปากใบนั้นจะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า Diameter, No. of node, Cane weight, Cane yield(ton/rai), %CCS, Pol, %Pol, %Purity, และค่า Leaf curl แสดงว่า ถ้าขนาดปากใบที่ใหญ่ ค่า Diameter, No. of node, Cane weight, Cane yield(ton/rai), %CCS, Pol, %Pol, %Purity, และค่า Leaf curl จะมีค่ามากขึ้น นอกจากนี้ขนาดปากใบยังมีความสัมพันธ์เชิงลบกับค่า Node length, Stalk/row, Stalk/rai, และค่า %Fiber แสดงว่าถ้าปากใบมีขนาดใหญ่ ค่า Node length, Stalk/row, Stalk/rai, และค่า %Fiber นั้นจะน้อยลง และลักษณะปากใบทั้งความหนาแน่นและขนาดปากใบ มีความสัมพันธ์กับค่า Leaf water content ($r = -0.257, -0.174, 0.326$, และ 0.344) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.01 โดยความหนาแน่นของปากใบมีความสัมพันธ์เชิงลบ ($r = -0.257$ และ -0.174) คือ ถ้ามีความหนาแน่นปากใบมากค่า Leaf water content จะน้อย แต่ถ้ามีความหนาแน่นปากใบน้อยค่า Leaf water content จะมาก ส่วนขนาดปากใบมีความสัมพันธ์เป็นเชิงบวก ($r = 0.326$ และ 0.344) คือ ถ้ามีขนาดปากใบใหญ่ค่า Leaf water content จะมาก แต่ถ้ามีขนาดปากใบเล็กค่า Leaf water content จะน้อย และขนาดปากใบก็ยังมีสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า SPAD ($r = 0.183$ และ 0.238) คือ ถ้ามีขนาดปากใบใหญ่ค่า SPAD จะมาก แต่ถ้ามีขนาดปากใบเล็กค่า SPAD จะน้อย และที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่า ความหนาแน่นปากใบด้านบนมีความสัมพันธ์เชิงลบ ($r = -0.196$) กับน้ำหนักใบแห้ง/ใบ คือ ถ้าความหนาแน่นปากใบด้านบนใบมากน้ำหนักใบแห้ง/ใบจะน้อย แต่ถ้าความหนาแน่นปากใบด้านบนใบน้อยน้ำหนักใบแห้ง/ใบจะมาก และขนาดปากใบด้านบนใบมีความสัมพันธ์เชิงลบ ($r = -0.185$) กับค่าประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง คือ ถ้าขนาดปากใบด้านบนใบใหญ่ค่า ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงจะน้อย แต่ถ้าขนาดปากใบด้านบนใบเล็กค่าประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงจะมาก (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yadollahi *et al.*, (2011) ขนาดและความหนาแน่นของเซลล์คุม มีการเปลี่ยนแปลงหลังจากปรับขนาดใบใหม่ และจากการศึกษาพบว่าปริมาณน้ำในดินลดลงจะกระตุ้นการสร้างปากใบในข้าวโพดอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้ความหนาแน่นปากใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ลดขนาดปากใบและรูรับแสงลดลง ในการศึกษาครั้งนี้รายงานว่าความหนาแน่นปากใบมีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิและอัตราการคายน้ำ ดังนั้นประสิทธิภาพการคายน้ำมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหนาแน่นปากใบ [8]

ตาราง 1 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Correlation Analysis)

	Upper Density	Lower Density	Upper Size	Lower Size
Upper Density	1			
Lower Density	.739**	1		
Upper Size	-.419**	-.478**	1	
Lower Size	-.391**	-.490**	.818**	1
Diameter water well	-.154	-.273**	.401**	.355**
Diameter water stress	-.103	-.166*	.339**	.355**
No. of node water stress	-.133	-.221**	.248**	.233**
Node length water well	.069	.115	-.179*	-.113
Node length water stress	.076	.077	-.262**	-.187*
Cane weight water well	-.129	-.237**	.340**	.265**

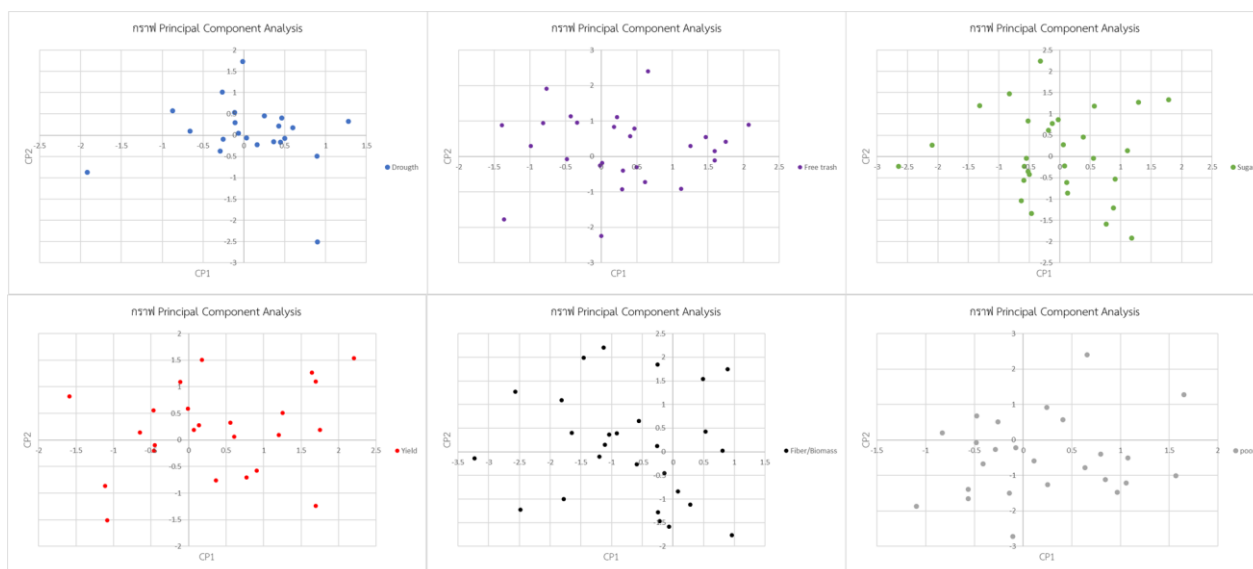
Cane weight water stress	-.153	-.261**	.341**	.301**
Stalk/row water well	.131	.178*	-.382**	-.300**
Stalk/row water stress	.104	.169*	-.368**	-.301**
Stalk/rai water well	.131	.178*	-.382**	-.300**
Stalk/rai water stress	.104	.169*	-.368**	-.301**
Cane yield(ton/rai) water well	-.019	-.143	.230**	.239**
%CCS water well	.033	-.045	.302**	.273**
%Fiber water well	.074	.122	-.387**	-.314**
%Fiber water stress	.069	.095	-.368**	-.309**
Pol water well	.056	-.016	.229**	.221**
%Pol water well	.043	-.029	.242**	.230**
%Purity water well	-.015	-.118	.381**	.350**
Leaf curl (plant)	.004	-.080	.277**	.311**
SPAD	-.142	-.060	.183*	.238**
Leaf water content	-.257**	-.174*	.326**	.344**
Dry leaf weight/leaves	-.196*	-.151	.135	.114
PSE	.094	.097	-.185*	-.100

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

3.4. วิเคราะห์การจัดกลุ่ม

จากผลการจัดกลุ่มด้วยการทำ Principal Component Analysis การจัดกลุ่มด้วยประเภทของอ้อยได้แก่ พันธุ์ที่เป็นประเภท Drought, Fiber/Biomass, Free trash, Poor, Sugar, และ Yield พบว่าพันธุ์ที่เป็นประเภท Drought, Free trash, Sugar, และ Yield จะมีลักษณะของปากใบอยู่ในช่วงที่มีความหนาแน่นปากใบในช่วงกลางถึงน้อย และมีขนาดปากใบในช่วงกลางถึงใหญ่ แต่พันธุ์ประเภท Fiber/Biomass และ Poor จะมีความหนาแน่นปากใบมากและขนาดปากใบเล็ก ซึ่งจากผลการทดลองนี้จะไปสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cutler *et al.*, (1977), Quarrie และ Jones (1977) และ Spence *et al.*, (1986) ที่กล่าวว่า ความเครียดจากความแห้งแล้ง ทำให้ขนาดปากใบลดลงซึ่งบ่งชี้ว่าการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ในทางสัณฐานวิทยา ลักษณะปากใบสามารถเพิ่มการปรับตัวของพืชให้เข้ากับสภาวะจากภัยแล้ง [9-11] และงานวิจัยของ Xu และ Zhou (2008) ความแห้งแล้งจะทำให้จำนวนปากใบลดลง และขนาดปากใบลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งชี้ให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ในเชิงบวกและมีนัยสำคัญระหว่างความหนาแน่นปากใบกับอัตราการแลกเปลี่ยนแก๊ส CO₂ สุทธิรวมทั้งประสิทธิภาพการใช้น้ำ [12] และงานวิจัยของ Maherali *et al.*, (2002) และ Liu *et al.*, (2006) การลดลงของจำนวนปากใบคือการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาอีกแบบในการตอบสนองต่อความเครียดจากภัยแล้ง ผลของความเครียดจากภัยแล้งต่อสัณฐานวิทยาของปากใบอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดพืชและพันธุ์พืช [13, 14] ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นว่า การที่อ้อยกระทบกับสภาพแห้งแล้งจะมีผลต่อสัณฐานปากใบของอ้อยได้ และอ้อยพันธุ์ที่ทนแล้งได้ดีมีความหนาแน่นของปากใบที่น้อยกว่าพันธุ์ปกติเพื่อลดการคายน้ำและทำให้ทนแล้งได้ดีกว่า



ภาพที่ 3 กราฟ Principal Component Analysis ของพันธุ์ประเภทต่างๆ

โดย CP1 คือ ลักษณะของปากใบ ค่าบวกลบหมายถึงมีขนาดปากใบใหญ่ความหนาแน่นน้อย ส่วนค่าลบหมายถึงขนาดปากใบเล็กความหนาแน่นมาก

CP2 คือ ลักษณะอื่นๆ ค่าบวกลบหมายถึงมีค่า SPAD, น้ำหนักใบแห้ง/ใบ, ดัชนีความเข้มสีใบ, และประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงมาก แต่ค่า Leaf water content น้อย ส่วนค่าลบหมายถึงมีค่า SPAD, ค่า Fv/Fm, น้ำหนักใบแห้ง/ใบ, ดัชนีความเข้มสีใบและประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงน้อย แต่ค่า Leaf water content มาก

4. สรุปผลการทดลอง

จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่า ความหนาแน่นและขนาดของปากใบจะมีความแตกต่างกันตามพันธุ์ของอ้อย และทั้งความหนาแน่นและขนาดของปากใบเป็นลักษณะปริมาณที่ควบคุมด้วยหลายยีน อ้อยพันธุ์ทนแล้งได้นั้นมักจะมีความหนาแน่นปากใบน้อยและมีขนาดปากใบใหญ่ทั้งด้านบนและด้านล่างของใบเมื่อเทียบกับอ้อยพันธุ์อื่น ซึ่งเป็นการปรับตัวและมีความแตกต่างตามพันธุ์อ้อยเพื่อลดการคายน้ำในสภาพแล้ง และการคัดเลือกอ้อยที่มีปากใบเล็กและจำนวนน้อยจึงอาจใช้เป็นเกณฑ์หนึ่งในการคัดเลือกอ้อยทนแล้งและจะสามารถพัฒนาพันธุ์อ้อยทนแล้งได้ แต่งานวิจัยในครั้งมีข้อเสนอแนะคือ การเก็บข้อมูลปากใบต้องเก็บจากหลายสภาพแวดล้อม เนื่องจากสภาพแวดล้อมในสถานที่เก็บตัวอย่างนั้นยังไม่แล้งมาก จึงควรไปเก็บตัวอย่างจากสภาพแวดล้อมที่แล้งมารวมประกอบผลด้วย

กิตติกรรมประกาศ: ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ และ ดร. นวลกมล อำนาจสิน ซึ่งได้ให้ข้อชี้แนะและคำปรึกษาต่าง ๆ ขอขอบคุณ ศูนย์นวัตกรรมและการวิจัยมิตรผล บริษัทมิตรผลวิจัย ที่ให้การช่วยเหลือในการทำกรวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. แสงดาว วงศ์สาย และ นายสิทธิศักดิ์ มหาชัยชนะกุล ที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือการทำข้อมูลทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. รายงานพื้นที่ปลูกอ้อยและผลผลิตอ้อยปี 2567-68. Available online: <https://www.ocsb.go.th/2025/reports-articles/area-yield/40943/> 2568.
2. Zhao W, S.Y., Kjelgren R, Liu X *Response of stomatal density and bound gas exchange in leaves of maize to soil water deficit*. Acta Physiol Plant 2015. **37**: p. 1–9.
3. Ma. Rebecca, C.L., Motohiko Kondo, Osamu Ideta, Edward Barlaan, Tokio Imbe, *Quantitative trait loci for stomatal density and size in lowland rice*. Euphytica. Euphytica, 2010. **172**: p. 149–158.
4. Md. Hasanuzzaman , L.S., Meixue Zhou , Timothy J. Brodribb , Ross Corkrey , Sergey Shabala, *Factors determining stomatal and non-stomatal (residual) transpiration and their contribution towards salinity tolerance in contrasting barley genotypes*. Environmental and Experimental Botany, 2018. **153**: p. 10–20.
5. N. Al Afas , N.M., R. Ceulemans, *Clonal variation in stomatal characteristics related to biomass production of 12 poplar (Populus) clones in a short rotation coppice culture*. Environmental and Experimental Botany, 2006. **58**: p. 279–286.

6. R. S. Caine , X.Y., J. Sloan , E. L. Harrison , U. Mohammed , T. Fulton , A. K. Biswal , J. Dionora , C. C. Chater , R. A. Co e, A. Bandyopadhyay , E. H. Murchie , R. Swarup , W. Paul Quick and J. E. Gray, *Rice with reduced stomatal density conserves water and has improved drought tolerance under future climate conditions*. New Phytologist, 2019. **221**: p. 371–384.
7. วันเพ็ญ ชลอเจริญยิ่ง , ว.ศ., พลึง สุริหาร และกมล เลิศรัตน์, ความสัมพันธ์ของปากใบและสีใบกับระดับความต้านทานโรคราสนิมในข้าวโพด. แก่นเกษตร, 2559. **44**(4): p. 677-686.
8. Yadollahi A, A.K., Ebadi A, Wirthensohn M, Karimi S, *The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance*. Sci Hort, 2011. **129**: p. 403–413.
9. Cutler JM, R.D., Loomis RS, *The importance of cell size in the water relations of plants*. Physiol Plant, 1977. **40**: p. 225–260.
10. Quarrie SA, J.H., *Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat*. J Exp Bot, 1977. **28**: p. 192–203.
11. Spence RD, W.H., Sharpe PJH, Clark KG, *Water stress effects on guard cell anatomy and the mechanical advantage of the epidermal cells*. Plant Cell Environ, 1986. **9**: p. 197–202.
12. Xu Z, Z.G., *Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass*. J Exp Bot, 2008. **59**: p. 3317–3325.
13. Maherali H, R.C., Polley HW, Johnson HB, Jachson RB, *Stomatal acclimation over a subambient to elevated CO₂ gradient in a C₃/C₄ grassland*. Plant Cell Environ, 2002. **25**: p. 557–566.
14. Liu S, L.J., Cao J, Bai C, Shi R, *Stomatal distribution and character analysis of leaf epidermis of jujube under drought stress*. J Anhui Agric Sci, 2006. **34**: p. 1315–1318.

พืชพื้นล่างในป่าชุมชนหุบใหญ่ อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครราชสีมา

Understory Plants in Hub Yai Community Forest, Chaloem Phra Kiat District, Nakhon Ratchasima Province

เทียมหทัย ชูพันธ์^{1,*}Thiamhathai Choopan^{1,*}¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา¹ Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Ratchasima Rajabhat University

* Correspondence: thiamhathai@yahoo.com

บทคัดย่อ: พืชพื้นล่างในป่าชุมชนหุบใหญ่ อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครราชสีมา ดำเนินการสำรวจโดยสุ่มวางแปลงตัวอย่างขนาด 5×5 เมตร จำนวน 58 แปลง ผลการศึกษาพบพืชพื้นล่าง จำนวน 61 วงศ์ 153 สกุล 197 ชนิด วงศ์ที่พบมากที่สุด คือ วงศ์ถั่ว จำนวน 25 ชนิด รองลงมา คือ วงศ์เข็ม จำนวน 15 ชนิด และวงศ์ชบา จำนวน 10 ชนิด ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ มีค่าเท่ากับ 4.3447 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว มีค่าเท่ากับ 0.8224 พืชที่สำรวจพบอยู่ในสถานะใกล้สูญพันธุ์อย่างยิ่ง (Critically Endangered; CR) 2 ชนิด ได้แก่ พะยุงและชิงชัน สถานะใกล้สูญพันธุ์ (Endangered; EN) 1 ชนิด ได้แก่ ประดู่ป่า สถานะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ (Vulnerable; VU) 1 ชนิด ได้แก่ ประงป่า สถานะใกล้ถูกคุกคาม (Near threatened; NT) 3 ชนิด ได้แก่ กระพี้เขาควาย ยางเหียงและเต็ง จากการตรวจสอบสถานภาพด้านการอนุรักษ์ตาม IUCN Red list

คำสำคัญ: ชนิดพืช, ความหลากหลาย, อุทยานธรณีโลก

Abstract: A survey of understory plants in Hub Yai Community Forest, Chaloem Phra Kiat District, Nakhon Ratchasima Province was conducted using 58 random sampling plots of 5×5 meters. The results showed 61 families, 153 genera, and 197 species. The most abundant family was Fabaceae with 25 species, followed by Rubiaceae with 15 species and Malvaceae with 10 species. The species diversity index and evenness value were 4.3447 and 0.8224, respectively. According to the IUCN Red List conservation status assessment, the survey identified two Critically Endangered (CR) species: *Dalbergia cochinchinensis* Pierre and *Dalbergia oliveri* Gamble ex Prain; one Endangered (EN) species: *Pterocarpus macrocarpus* Kurz; one Vulnerable (VU) species: *Cycas siamensis* Miq.; and three Near Threatened (NT) species: *Dalbergia cultrata* T. S. Ralph, *Dipterocarpus obtusifolius* Teijsm. ex Miq., and *Shorea obtusa* Wall. ex Blume.

Keywords: Plant species, Diversity, Global geopark

1. บทนำ

ป่าชุมชน (Community forest) เป็นวิถีปฏิบัติและเป็นการปรับตัวของการจัดการทรัพยากรภายในชุมชนจากการถูกแย่งชิงทรัพยากรเพื่อการพัฒนาประเทศและเป็นแนวทางหนึ่งในการรักษาพื้นที่ป่าและความสมบูรณ์ของนิเวศป่าไม้ เพื่อให้ระบบนิเวศคงความสมดุล เนื่องจากป่าชุมชนเป็นกลไกสำคัญที่เป็นช่องทางให้ชุมชนเข้ามามีส่วนร่วมในการอนุรักษ์ จัดการ ป่าไม้ให้ป่ามีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้น และมีการใช้ทรัพยากรและผลผลิตจากป่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อความมั่นคงแห่งชีวิตของคนในชุมชน และเพิ่มความสามารถในการเรียนรู้ที่จะอยู่อย่างสมดุลกับธรรมชาติและดำรงชีพอยู่ได้อย่างมีความสุข [1]

พื้นที่อีสานมีลักษณะเป็นที่ราบสูง พื้นดินเป็นโคก ดอน ชุมชนต่าง ๆ รักษาป่าไว้ตามหัวไร่ปลายนา เพื่อเป็นแหล่งอาหาร สมุนไพร และเป็นป่าที่ใช้ประโยชน์เชิงวัฒนธรรม ซึ่งเดิมชาวอีสานมีความคุ้นเคย รู้จักชื่อเรียกพรรณไม้ต่าง ๆ และมีการเรียนรู้ประโยชน์และโทษของพืชส่งสมสืบต่อกันมาหลายรุ่น แต่จากการลดจำนวนลงของพื้นที่ป่า การศึกษาข้อมูลเพื่อให้ได้องค์ความรู้พื้นฐานของพืช สถานภาพในการอนุรักษ์และการนำไปใช้ประโยชน์จากพืชในพื้นที่ เพื่อเป็นแนวทางของการรักษาพันธุ์กรรมพืชในท้องถิ่นและคืนความอุดมสมบูรณ์ต่อไปจึงมีความสำคัญ นอกจากนี้ ทรัพยากรธรรมชาติด้านพรรณพืชในป่าชุมชนเป็นส่วนสำคัญหนึ่งของอุทยานธรณี ซึ่งป่าชุมชนหรือป่าสาธารณะประโยชน์ในอุทยานธรณีโลกโคราชส่วนใหญ่เป็นป่าบกประเภทป่าเต็งรัง หรือป่าเต็งรังผสมเบญจพรรณ หรือป่าผสมผลัดใบ ซึ่งมีความสัมพันธ์เชื่อมโยงกับวิถีชีวิตของคนในชุมชนโดยรอบพื้นที่ ไม่ว่าจะเป็นการเป็นแหล่งอาหาร การใช้สอยพื้นที่ในด้านอื่น ๆ เช่น เก็บเห็ด กล้วยไม้ แต่พื้นที่ส่วนใหญ่จะประสบปัญหาจากการลักลอบตัดไม้ การทิ้งขยะจากครัวเรือน รวมทั้ง การบุกรุกพื้นที่เพื่อการเกษตรกรรม หรือการบุกรุกเพื่อยึดครองเป็นสมบัติส่วนบุคคล ทำให้พื้นที่ป่า

ลดลงอย่างมาก และจากการที่อุทยานธรณีโลกโคราชเป็นพื้นที่ที่มีความสำคัญด้านการอนุรักษ์ทรัพยากร มีการค้นพบฟอสซิลสัตว์จำนวนมาก ทั้ง ไดโนเสาร์ ช้างดึกดำบรรพ์ และอื่น ๆ รวมถึงลักษณะทางธรณีวิทยาที่โดดเด่น [2] และการค้นพบ แจ้งสุรนารี (*Maerua koratensis* Srisanga & Watthana) [3] แสดงให้เห็นว่า พื้นที่อุทยานธรณีโลกโคราชยังมีทรัพยากรที่รอการสำรวจและค้นพบ

ป่าชุมชนหุบใหญ่ มีเนื้อที่รวมกว่า 1,400 ไร่ ตั้งอยู่ในอำเภอเฉลิมพระเกียรติ ซึ่งเป็น 1 ใน 5 อำเภอของพื้นที่อุทยานธรณีโลกโคราช มีลักษณะภูมิประเทศโดดเด่น แปลกตา เนื่องจากเส้นทางน้ำป่าไหลเซาะชั้นดินและชั้นหินจนกลายเป็นร่องลึก ภูมิประเทศรูปร่างแปลกตาคลาย ลักษณะของแกรนด์แคนยอน เป็นศิลปกรรมที่มีความสวยงามตระการตา มีรูปร่างลักษณะคล้ายกับปราสาทหินสมัยโบราณกระจายอยู่หลายจุด รวมเนื้อที่กว่า 3 ไร่ ชาวบ้านจึงตั้งชื่อว่า ปรากฏพระนารายณ์ ที่รังสรรค์ขึ้นมาจากธรรมชาติโดยไม่ได้มีการเติมแต่ง ประกอบกับมีเรื่องราวความเชื่อ ลึกลับอีกมากมาย นอกจากนี้ ยังมีการสำรวจพบฟอสซิลไม้กลายเป็นหินที่คาดว่าอายุนับล้านปี กระจายอยู่ในพื้นที่เป็นจำนวนมาก โดยบริเวณที่เกิด แกรนด์แคนยอนเป็นพื้นที่ระหว่าง ตำบลท่าจะหลุง อำเภอโชคชัย และ ตำบลหนองยาง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครราชสีมา อย่างไรก็ตาม อุทยานธรณีโลกโคราชยังต้องการข้อมูลการศึกษาวิจัยทรัพยากรธรรมชาติอื่น ๆ อีกมากเพื่อประกอบการสมัครต่ออายุตามเกณฑ์การประเมินเป็น อุทยานธรณีโลกของ UNESCO โดยเฉพาะการศึกษาด้านทรัพยากรพืชซึ่งเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นสำหรับการดำเนินงาน นำไปสู่การพัฒนาแหล่งเรียนรู้ การใช้ประโยชน์จากทรัพยากรอย่างยั่งยืนของชุมชน และการคงความเป็นมรดกโลกต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

2.1 การศึกษาความหลากหลายของพืชพื้นล่าง

สำรวจชนิดของพืชพื้นล่าง (ประกอบด้วย กล้าไม้ ลูกไม้ ไม้พุ่มที่มีความสูงไม่เกิน 1.30 เมตร ไม้พุ่มรอเลื้อย ไม้ล้มลุก และไม้เลื้อย) ของ ป่าชุมชนหุบใหญ่ อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครราชสีมา ในพื้นที่ 1,400 ไร่ ด้วยการสุ่มวางแปลงตัวอย่างขนาด 5×5 เมตร จำนวน 58 แปลง พร้อมบันทึกข้อมูลชนิดพืช จำนวนต้น ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่างเพื่อการระบุชนิด ตรวจสอบชื่อพืชแต่ละชนิดโดยอ้างอิงจากหนังสือชื่อพรรณไม้ แห่งประเทศไทย [4] International Plant Names Index [5] Plants of the World Online [6] และเอกสารทางพฤกษศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง เช่น คู่มือจำแนกพรรณไม้ [7] และป่าของประเทศไทย [8] ตรวจสอบสถานภาพด้านการอนุรักษ์ตาม IUCN Red list พืชหายาก พืชเฉพาะถิ่น และพืชที่ถูกคุกคามในประเทศไทย [9-10]

2.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ค่าดัชนีความหลากหลาย (Shannon-Wiener Index, H') ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว (Evenness; E) [11-13] โดยมีสูตรในการคำนวณดังนี้

ค่าดัชนีความหลากหลายของพรรณไม้

$$H = - \sum_{i=1}^S (p_i \ln p_i)$$

โดย H' = ค่าดัชนีความหลากหลายชนิดของชนิดพรรณไม้
 p_i = สัดส่วนระหว่างจำนวนต้นไม้ชนิด i ต่อจำนวนต้นไม้ทั้งหมด
 S = จำนวนชนิดพรรณไม้ทั้งหมด

ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว

$$Evenness = \frac{H}{\ln S}$$

โดย S = จำนวนชนิดพรรณไม้ทั้งหมด

3. ผลการศึกษาและการอภิปราย

จากการสุ่มวางแปลงตัวอย่าง พบพืชพื้นล่าง จำนวน 61 วงศ์ 153 สกุล 197 ชนิด (ตาราง 1 และภาพ 1) พืชพื้นล่างที่มีความหนาแน่น สูงสุด 5 อันดับแรก คือ เพ็ก (*Vietnamosasa pusilla* (A. Chev. & A. Camus) T. Q. Nguyen) รองลงมาคือ พลองเหมือด (*Memecylon edule* Roxb.) ว่านข้าวเหนียว (*Murdannia edulis* (Stokes) Faden) ส้มสม (*Aganonerion polymorphum* Pierre ex Spire) และกก

กันดาร (*Fimbristylis insignis* Thwaites) ตามลำดับ พืชพื้นล่างที่มีความถี่สูงสุด 5 อันดับแรก คือ เพ็ก ร่องลงมา คือ พลองเหมือด มะค่าแต้ (*Sindora siamensis* Teijsm. ex Miq.) แกลบนู (*Dendrobium lanceolatum* (Dunn) Schindl.) และว่านข้าวเหนียว ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงพืชพื้นล่างเด่นเป็นพืชที่พบในป่าเต็งรัง วงศ์ที่พบชนิดพืชมากที่สุด คือ วงศ์ถั่ว (Fabaceae) จำนวน 25 ชนิด ร่องลงมา คือ วงศ์เข็ม (Rubiaceae) จำนวน 15 ชนิด และวงศ์ชบา (Malvaceae) จำนวน 10 ชนิด ซึ่งประกอบด้วยพืชหลากหลายลักษณะวิสัย นอกจากนี้ พืชที่สำรวจยังจำแนกเป็นพืชกลุ่มเฟินและใกล้เคียง (Fern and fern allies) จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เฟินชวา (*Adiantum caudatum* L.) และตีนตุ๊กแก (*Selaginella* sp.) พืชเมล็ดเปลือย (Gymnosperm) จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ ประป่า (*Cycas siamensis* Miq.) และพืชดอก (Angiosperm) จำนวน 194 ชนิด

เมื่อนำข้อมูลพืชที่พบจากการสำรวจมาวิเคราะห์ พบว่า ค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ มีค่าเท่ากับ 4.3447 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว มีค่าเท่ากับ 0.8224 เปรียบเทียบกับการศึกษาความหลากหลายของไม้พื้นล่างในวนอุทยานภูผาล้อม อำเภอนาดัง จังหวัดเลย ที่มีค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ 2.0071 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว 0.7084 [14] การศึกษาความหลากหลายของพรรณพืชในป่าชุมชนเทศบาลตำบลเมืองใหม่โคกกรวด จังหวัดนครราชสีมา ที่มีค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ 3.7685 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว 0.4166 [15] การศึกษาความหลากหลายของไม้พื้นล่างในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ ที่มีค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ 3.6627 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว 0.7890 [16] รวมถึงการศึกษาพรรณพืชในป่าชุมชนภูประดู่เฉลิมพระเกียรติและวัดป่าเขาคงคา จังหวัดนครราชสีมา ที่มีค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ 2.4537 และ 3.9968 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว 0.4627 และ 0.8031 ตามลำดับ [17-18] เห็นได้ว่าค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ป่าชุมชนหุบใหญ่มีค่ามากกว่า อาจเนื่องจากสภาพนิเวศวิทยาของป่าชุมชนหุบใหญ่มีความหลากหลาย พื้นที่แม้จะมีหินกรวดขนาดเล็กกระจายทั่วพื้นที่แต่ไม่มีก้อนหินขนาดใหญ่ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการเจริญเติบโตและการกระจายพันธุ์พืชเช่นที่ปรากฏในวนอุทยานภูผาล้อม อุทยานแห่งชาติภูแลนคา ป่าชุมชนภูประดู่ และวัดป่าเขาคงคา ยิ่งกว่านั้น ภูมิประเทศป่าชุมชนหุบใหญ่สลับซับซ้อน ทั้งพื้นที่ราบ ร่องลึก ทางน้ำไหล พื้นที่น้ำซับ ผสมกันไปตลอดพื้นที่และมีการเปลี่ยนแปลงตามการไหลของน้ำในฤดูฝนทุกปี ทำให้พืชที่พบมีความหลากหลายและกระจายตัวได้ดีในพื้นที่

ตาราง 1 พืชพื้นล่างในป่าชุมชนหุบใหญ่ อำเภอนเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครราชสีมา

No.	Family	Scientific name	Local name	pi lnp	RD	RF
1	Acanthaceae	<i>Barleria strigosa</i> Willd.	สังกรณี	-0.0662	1.6011	1.9149
2	Acanthaceae	<i>Ruellia prostrata</i> Poir.	ต้อยต้งเลื้อย	-0.0341	0.6828	1.1702
3	Amaranthaceae	<i>Achyranthes aspera</i> L.	พันธุขาว	-0.0118	0.1884	0.2128
4	Amaryllidaceae	<i>Crinum wattii</i> Baker	พลับพลึงป่า บัวบก	-0.0066	0.0942	0.3191
5	Anacardiaceae	<i>Buchanania lanzan</i> Spreng.	มะม่วงหาวแมงวัน	-0.0154	0.2590	1.0638
6	Anacardiaceae	<i>Lannea coromandelica</i> (Houtt.) Merr.	อ้อยช้าง	-0.0051	0.0706	0.3191
7	Anacardiaceae	<i>Mangifera caloneura</i> Kurz	มะม่วงป่า	-0.0093	0.1413	0.5319
8	Anacardiaceae	<i>Semecarpus cochinchinensis</i> Engl.	น้ำเกลี้ยง	-0.0020	0.0235	0.1064
9	Annonaceae	<i>Huberantha cerasoides</i> (Roxb.) Chaowasku	กะเจียน	-0.0106	0.1648	0.4255
10	Annonaceae	<i>Monoon viride</i> (Craib) B. Xue & R. M. K. Saunders	ยางโพน	-0.0051	0.0706	0.2128
11	Annonaceae	<i>Polyalthia debilis</i> (Pierre) Finet & Gagnep.	กล้วยเต่า	-0.0263	0.4945	0.2128
12	Annonaceae	<i>Polyalthia evecta</i> (Pierre) Finet & Gagnep.	นมน้อย ตองแล้ง	-0.0020	0.0235	0.1064
13	Annonaceae	<i>Uvaria dulcis</i> Dunal	นมแมวซ้อน	-0.0020	0.0235	0.1064
14	Annonaceae	<i>Uvaria ferruginea</i> Buch.-Ham. ex Hook.f. & Thomson var. <i>cherreensis</i> (Pierre ex Finet & Gagnep.) Meade & J. Parn.	นมแมวป่า	-0.0130	0.2119	0.5319
15	Annonaceae	<i>Xylopia vielana</i> Pierre	กล้วยน้อย	-0.0130	0.2119	0.3191
16	Apocynaceae	<i>Amphineuron marginatum</i> (Roxb.) D. J. Middleton	โมกเครือ ไล่ต้น	-0.0232	0.4238	0.8511
17	Apocynaceae	<i>Cryptolepis buechananii</i> R. Br. ex Roem. & Schult.	เถาเอ็นอ่อน	-0.0020	0.0235	0.1064
18	Apocynaceae	<i>Cynanchum viminalis</i> (L.) L. subsp. <i>brunonianum</i> (Wight & Arn.) Meve & Liede	เถาวัลย์ด่วน	-0.0020	0.0235	0.1064
19	Apocynaceae	<i>Streptocaulon juvenis</i> (Lour.) Merr.	เถาประสงค์	-0.0404	0.8477	1.5957
20	Apocynaceae	<i>Toxocarpus villosus</i> (Blume) Decne.	เถาวัลย์แดง	-0.0154	0.2590	0.4255
21	Apocynaceae	<i>Urceola polymorpha</i> (Pierre ex Spire) D. J. Middleton & Livsh.	ส้มลม	-0.1272	3.9322	2.0213

22	Apocynaceae	<i>Wrightia pubescens</i> R. Br.	โมกมัน	-0.0142	0.2355	0.9574
23	Apocynaceae	<i>Zygostelma benthamii</i> Baill.	อบเชยเถา	-0.0166	0.2826	0.4255
24	Araceae	<i>Amorphophallus harmandii</i> Engl. & Gehrm.	อีรอก	-0.0051	0.0706	0.1064
25	Araceae	<i>Rhaphidophora peepla</i> (Roxb.) Schott	พลูช้าง	-0.0547	1.2479	0.4255
26	Arecaceae	<i>Phoenix loureiroi</i> Kunth	ปรงดอย	-0.0020	0.0235	0.1064
27	Aristolochiaceae	<i>Aristolochia cambodiana</i> Pierre ex Lecomte	กระเช้าปากเปิด	-0.0020	0.0235	0.1064
28	Asparagaceae	<i>Ophiopogon intermedius</i> D. Don	หญ้าแพรกหิน	-0.0154	0.2590	0.6383
29	Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	สาบแร้งสาบกา	-0.0273	0.5180	0.4255
30	Asteraceae	<i>Chromolaena odorata</i> (L.) R. M. King & H. Rob.	สาบเสือ	-0.0625	1.4834	2.0213
31	Asteraceae	<i>Elephantopus scaber</i> L.	โตไม่รู้ล้ม	-0.0350	0.7064	0.1064
32	Asteraceae	<i>Gynura pseudochina</i> (L.) DC.	ว่านมหากาฬ	-0.0020	0.0235	0.1064
33	Bignoniaceae	<i>Millingtonia hortensis</i> L.f.	ปีบ	-0.0036	0.0471	0.1064
34	Burseraceae	<i>Garuga pinnata</i> Roxb.	ตะคร้ำ	-0.0066	0.0942	0.1064
35	Capparaceae	<i>Capparis flavicans</i> Kurz	จั่วเลีย	-0.0066	0.0942	0.3191
36	Capparaceae	<i>Maerua siamensis</i> (Kurz) Pax	แจง	-0.0106	0.1648	0.3191
37	Caryophyllaceae	<i>Polycarpaea corymbosa</i> (L.) Lam.	สร้อยทองทราย	-0.0020	0.0235	0.1064
38	Celastraceae	<i>Celastrus paniculatus</i> Willd.	กระทงลาย	-0.0020	0.0235	0.1064
39	Celastraceae	<i>Elaeodendron glaucum</i> (Rottb.) Pers.	น้านอง	-0.0823	2.1427	0.3191
40	Celastraceae	<i>Euonymus cochinchinensis</i> Pierre	กระจับนก	-0.0020	0.0235	0.1064
41	Celastraceae	<i>Salacia chinensis</i> L.	กำแพงเจ็ดชั้น	-0.0118	0.1884	0.6383
42	Clusiaceae	<i>Garcinia cowa</i> Roxb. ex Choisy	ชะมวง	-0.0020	0.0235	0.1064
43	Combretaceae	<i>Combretum quadrangulare</i> Kurz	สะแกนา	-0.0368	0.7535	0.4255
44	Combretaceae	<i>Terminalia glaucifolia</i> Craib	แหวนนา	-0.0020	0.0235	0.1064
45	Commelinaceae	<i>Commelina benghalensis</i> L.	ผักปลาบ	-0.0769	1.9543	0.3191
46	Commelinaceae	<i>Commelina diffusa</i> Burm.f.	ผักปลาบ	-0.0066	0.0942	0.2128
47	Commelinaceae	<i>Murdannia edulis</i> (Stokes) Faden	ว่านข้าวเหนียว	-0.1424	4.6386	2.1277
48	Commelinaceae	<i>Murdannia nudiflora</i> (L.) Brenan	กินกุ้งน้อย	-0.0066	0.0942	0.1064
49	Connaraceae	<i>Ellipanthus tomentosus</i> Kurz	คำรอก ตานกกด	-0.0221	0.4003	0.6383
50	Convolvulaceae	<i>Argyrea brevicauda</i> (Kerr) Ooststr.	เถาฟ้าระจับ	-0.0177	0.3061	0.6383
51	Convolvulaceae	<i>Evolvulus alsinoides</i> (L.) L.	ใบตอก้าน	-0.0020	0.0235	0.1064
52	Convolvulaceae	<i>Ipomoea obscura</i> (L.) Ker Gawl.	โด้วงะ	-0.0020	0.0235	0.1064
53	Convolvulaceae	<i>Ipomoea pes-tigridis</i> L.	ขยุ่มตีนหมา	-0.0093	0.1413	0.1064
54	Convolvulaceae	<i>Merremia hederacea</i> (Burm.f.) Hallier f.	สะอึก	-0.0602	1.4128	0.1064
55	Cucurbitaceae	<i>Coccinia grandis</i> (L.) Voigt	ตำลึง	-0.0093	0.1413	0.1064
56	Cucurbitaceae	<i>Neosomitra angustipetala</i> (Craib) Hutch.	บุหรีพระราม	-0.0166	0.2826	0.5319
57	Cycadaceae	<i>Cycas siamensis</i> Miq.	ปรงป่า	-0.0106	0.1648	0.5319
58	Cyperaceae	<i>Cyperus laxus</i> Lam.	หญ้าตีนกา	-0.0625	1.4834	0.3191
59	Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.	หญ้าหัวหมู	-0.0883	2.3546	0.1064
60	Cyperaceae	<i>Fimbristylis insignis</i> Thwaites	กกกันดาร	-0.1102	3.2023	0.2128
61	Cyperaceae	<i>Scleria lithosperma</i> (L.) Sw.	หญ้าคุมบางเล็ก	-0.0539	1.2244	0.8511
62	Dilleniaceae	<i>Dillenia obovata</i> (Blume) Hoogland	ส้านใหญ่	-0.0210	0.3767	0.1064
63	Dilleniaceae	<i>Dillenia ovata</i> Wall. ex Hook.f. & Thomson	ส้านใบเล็ก	-0.0036	0.0471	0.1064
64	Dilleniaceae	<i>Tetracera sarmentosa</i> (L.) Vahl	รสสุคนธ์ ปดขนแข็ง	-0.0051	0.0706	0.1064
65	Dioscoreaceae	<i>Dioscorea alata</i> L.	มันเสา	-0.0210	0.3767	0.7447
66	Dioscoreaceae	<i>Dioscorea arachidna</i> Prain & Burkill	มันหนอน	-0.0684	1.6718	0.9574
67	Dioscoreaceae	<i>Dioscorea bulbifera</i> L.	กลิ้งกลางดง	-0.0079	0.1177	0.1064
68	Dioscoreaceae	<i>Dioscorea esculenta</i> (Lour.) Burkill	มันม่วง มันมือเสือ	-0.0221	0.4003	0.6383
69	Dioscoreaceae	<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	กลอย	-0.0093	0.1413	0.2128

70	Dipterocarpaceae	<i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teijsm. ex Miq.	ยางเหียง	-0.0130	0.2119	0.3191
71	Dipterocarpaceae	<i>Pentacme siamensis</i> (Miq.) Kurz	รัง	-0.0523	1.1773	0.9574
72	Dipterocarpaceae	<i>Shorea obtusa</i> Wall. ex Blume	เต็ง	-0.0188	0.3296	0.6383
73	Ebenaceae	<i>Diospyros castanea</i> (Craib) H. R. Fletcher	ตะโกพนม	-0.0350	0.7064	1.2766
74	Ebenaceae	<i>Diospyros filipendula</i> Pierre ex Lecomte	ลำบิดดง คั่นจ้อง	-0.0166	0.2826	0.6383
75	Ebenaceae	<i>Diospyros mollis</i> Griff.	มะเกลือ	-0.0020	0.0235	0.1064
76	Ebenaceae	<i>Diospyros rhodocalyx</i> Kurz	ตะโกนา	-0.0020	0.0235	0.1064
77	Euphorbiaceae	<i>Croton crassifolius</i> Geiseler	พังคี่	-0.0232	0.4238	0.5319
78	Euphorbiaceae	<i>Suregada multiflora</i> (A. Juss.) Baill.	ชันทองพญาบาท	-0.0539	1.2244	1.9149
79	Euphorbiaceae	<i>Trigonostemon reidioides</i> (Kurz) Craib	โลดทะนง	-0.0571	1.3186	0.9574
80	Fabaceae	<i>Abrus precatorius</i> L.	มะกล่ำตาหนู	-0.0404	0.8477	0.5319
81	Fabaceae	<i>Albizia lebbeck</i> (L.) Benth.	พูกฤษ์	-0.0273	0.5180	0.9574
82	Fabaceae	<i>Albizia lebbekoides</i> (DC.) Benth.	คาง	-0.0199	0.3532	0.3191
83	Fabaceae	<i>Albizia myriophylla</i> Benth.	ชะเอม	-0.0020	0.0235	0.1064
84	Fabaceae	<i>Albizia odoratissima</i> (L.f.) Benth.	กางขี้มอด	-0.0395	0.8241	0.8511
85	Fabaceae	<i>Christia vespertilionis</i> (L.f.) Bakh.f.	หางนกสิง	-0.0020	0.0235	0.1064
86	Fabaceae	<i>Clitoria macrophylla</i> Wall. ex Benth.	อัญชันป่า	-0.0036	0.0471	0.1064
87	Fabaceae	<i>Dalbergia cochinchinensis</i> Pierre	พะยุง	-0.0020	0.0235	0.1064
88	Fabaceae	<i>Dalbergia cultrata</i> T. S. Ralph	กระพี้เขาควาย	-0.0093	0.1413	0.2128
89	Fabaceae	<i>Dalbergia lanceolaria</i> L.f. var. <i>lakhonensis</i> (Gagnep.) Niyomdham & P. H. Hô	อีเม้ง ขี้มอด	-0.0093	0.1413	0.2128
90	Fabaceae	<i>Dalbergia nigrescens</i> Kurz	ฉนวน	-0.0350	0.7064	1.7021
91	Fabaceae	<i>Dalbergia oliveri</i> Gamble ex Prain	ชิงชัน	-0.0154	0.2590	0.6383
92	Fabaceae	<i>Dalbergia velutina</i> Benth.	กระพี้เครือ	-0.0142	0.2355	1.0638
93	Fabaceae	<i>Dendrolobium lanceolatum</i> (Dunn) Schindl.	เกลบนหนู	-0.0870	2.3075	2.3404
94	Fabaceae	<i>Dunbaria bella</i> Prain	ขางครั่ง	-0.0036	0.0471	0.2128
95	Fabaceae	<i>Imbralyx leucanthus</i> (Kurz) Z. Q. Song	สาธร	-0.0106	0.1648	0.2128
96	Fabaceae	<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit	กระถิน	-0.0036	0.0471	0.1064
97	Fabaceae	<i>Pterocarpus macrocarpus</i> Kurz	ประดู่ป่า	-0.0359	0.7299	1.4894
98	Fabaceae	<i>Rhynchosia bracteata</i> Benth. ex Baker	มะแปบป่า	-0.0154	0.2590	0.4255
99	Fabaceae	<i>Senna garrettiana</i> (Craib) H. S. Irwin & Barneby	เสมสาร	-0.0036	0.0471	0.1064
100	Fabaceae	<i>Sindora siamensis</i> Teijsm. ex Miq.	มะค่าแต้	-0.1002	2.8020	2.5532
101	Fabaceae	<i>Sophora exigua</i> Craib	ถั่วดินโคก	-0.0106	0.1648	0.3191
102	Fabaceae	<i>Tephrosia vestita</i> Vogel	ด่านราชสีห์	-0.0079	0.1177	0.4255
103	Fabaceae	<i>Uraria acaulis</i> Schindl.	หางหมาจอก	-0.0079	0.1177	0.3191
104	Fabaceae	<i>Xylia xylocarpa</i> (Roxb.) W. Theob. var. <i>kerrii</i> (Craib & Hutch.) I. C. Nielsen	แดง	-0.0252	0.4709	0.9574
105	Fagaceae	<i>Castanopsis echinocarpa</i> Miq.	ก่อขี้หมู ก่อหนาม	-0.0036	0.0471	0.1064
106	Hypericaceae	<i>Cratoxylum cochinchinense</i> (Lour.) Blume	ตัวเกลี้ยง	-0.0507	1.1302	1.7021
107	Hypericaceae	<i>Cratoxylum formosum</i> (Jack) Benth. & Hook.f. ex Dyer subsp. <i>formosum</i>	ตัวขาว	-0.0232	0.4238	0.9574
108	Hypericaceae	<i>Cratoxylum formosum</i> (Jack) Benth. & Hook.f. ex Dyer subsp. <i>pruniflorum</i> (Kurz) Gogelein	ตัวขน	-0.0386	0.8006	0.3191
109	Hypoxidaceae	<i>Hypoxis aurea</i> Lour.	ตาลเดี่ยว	-0.0093	0.1413	0.4255
110	Irvingiaceae	<i>Irvingia malayana</i> Oliv. ex A. W. Benn.	กระบก	-0.0036	0.0471	0.2128
111	Lamiaceae	<i>Mesospaerum suaveolens</i> (L.) Kuntze	แมงลักคา	-0.0020	0.0235	0.1064
112	Lamiaceae	<i>Orthosiphon rubicundus</i> (D. Don) Benth.	หนวดเสือเขียว	-0.0020	0.0235	0.1064
113	Lamiaceae	<i>Premna nana</i> Collett & Hemsl.	ยาเข้าเย็น	-0.0036	0.0471	0.1064

114	Lamiaceae	<i>Vitex limonifolia</i> Wall. ex C. B. Clarke	สาอง	-0.0079	0.1177	0.3191
115	Lamiaceae	<i>Vitex peduncularis</i> Wall. ex Schauer	กาสามปีก	-0.0210	0.3767	1.2766
116	Loganiaceae	<i>Strychnos nux-vomica</i> L.	ตุมกา	-0.0036	0.0471	0.1064
117	Lythraceae	<i>Lagerstroemia loudonii</i> Teijsm. & Binn.	เสลา	-0.0020	0.0235	0.1064
118	Malvaceae	<i>Bombax anceps</i> Pierre	จั่วป่า	-0.0079	0.1177	0.5319
119	Malvaceae	<i>Grewia abutilifolia</i> Vent. ex Juss.	ยาบ	-0.0093	0.1413	0.5319
120	Malvaceae	<i>Grewia eriocarpa</i> Juss.	ปอแก่นเทา	-0.0051	0.0706	0.3191
121	Malvaceae	<i>Helicteres angustifolia</i> L.	ขี้อัน	-0.0292	0.5651	0.6383
122	Malvaceae	<i>Helicteres hirsuta</i> Lour.	ขี้ตู่	-0.0093	0.1413	0.1064
123	Malvaceae	<i>Helicteres prostrata</i> S. Y. Liu	ขี้อันเลื้อย	-0.0482	1.0596	0.4255
124	Malvaceae	<i>Microcos tomentosa</i> Sm.	พลับพลา	-0.0036	0.0471	0.1064
125	Malvaceae	<i>Sida acuta</i> Burm.f.	หญ้าขัดมอน	-0.0523	1.1773	0.1064
126	Malvaceae	<i>Sida cordifolia</i> L.	หญ้าขัดใบป้อม	-0.0177	0.3061	0.2128
127	Malvaceae	<i>Urena lobata</i> L.	ขี้ครอก	-0.0051	0.0706	0.2128
128	Melastomataceae	<i>Memecylon edule</i> Roxb.	พลองเหมือด	-0.1552	5.2743	3.5106
129	Melastomataceae	<i>Memecylon scutellatum</i> (Lour.) Hook. & Arn.	เหมือดจี	-0.0283	0.5416	0.6383
130	Meliaceae	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	สะเดา	-0.0331	0.6593	1.2766
131	Meliaceae	<i>Munronia pinnata</i> (Wall.) W. Theob.	กระดังเพี้ย	-0.0547	1.2479	0.6383
132	Meliaceae	<i>Walsura trichostemon</i> Miq.	กัตลัน	-0.0036	0.0471	0.2128
133	Menispermaceae	<i>Pachygone dasycarpa</i> Kurz	หนามพรม	-0.0368	0.7535	0.9574
134	Menispermaceae	<i>Tinospora baenzigeri</i> Forman	ชิงช้าชาลี	-0.0166	0.2826	0.6383
135	Myrtaceae	<i>Rhodamnia dumetorum</i> (DC.) Merr. & L. M. Perry	พลองแก้มอัน	-0.0036	0.0471	0.1064
136	Myrtaceae	<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	หว่า	-0.0036	0.0471	0.2128
137	Ochnaceae	<i>Ochna integerrima</i> (Lour.) Merr.	ช้างน้าว ตาลเหลือง	-0.0118	0.1884	0.5319
138	Oleaceae	<i>Olax scandens</i> Roxb.	น้ำใจใคร่	-0.0850	2.2369	1.7021
139	Oleaceae	<i>Jasminum elongatum</i> (P. J. Bergius) Willd.	มะลิเถา เขี้ยว	-0.0579	1.3421	0.6383
140	Oleaceae	<i>Jasminum siamense</i> Craib	ไล่ไก่	-0.1085	3.1316	0.5319
141	Oleaceae	<i>Jasminum</i> sp.	-	-0.0066	0.0942	0.1064
142	Opiliaceae	<i>Cansjera rheedei</i> J. F. Gmel.	นางจุ่ม	-0.0252	0.4709	1.0638
143	Opiliaceae	<i>Melientha suavis</i> Pierre	ผักหวานป่า	-0.0106	0.1648	0.3191
144	Orchidaceae	<i>Eulophia andamanensis</i> Rchb.f.	ช้างผสมโคลง	-0.0020	0.0235	0.1064
145	Orchidaceae	<i>Eulophia recurva</i> (Roxb.) M. W. Chase, Kumar & Schuit.	ว่านจูงนาง	-0.0020	0.0235	0.1064
146	Orchidaceae	<i>Phalaenopsis pulcherrima</i> (Lindl.) J. J. Sm.	ม้าวิ่ง	-0.0020	0.0235	0.1064
147	Phyllanthaceae	<i>Antidesma ghaesembilla</i> Gaertn.	เฒ่าไข่ปลา	-0.0079	0.1177	0.3191
148	Phyllanthaceae	<i>Aporosa villosa</i> (Lindl.) Baill.	เหมือดลอด	-0.0036	0.0471	0.2128
149	Phyllanthaceae	<i>Breynia asteranthos</i> (Airy Shaw) Welzen & Priesapan	มะยมดอน	-0.0154	0.2590	0.2128
150	Phyllanthaceae	<i>Bridelia harmandii</i> Gagnep.	ชำชาเตี้ย	-0.0079	0.1177	0.2128
151	Phyllanthaceae	<i>Flueggea virosa</i> (Roxb. ex Willd.) Royle	ก้างปลาขาว	-0.0036	0.0471	0.1064
152	Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus emblica</i> L.	มะขามป้อม	-0.0106	0.1648	0.4255
153	Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus quadrangularis</i> Willd.	มะยมเกลี้ยง	-0.0066	0.0942	0.3191
154	Poaceae	<i>Acroceras munroanum</i> (Balansa) Henrard	หญ้าใบไผ่	-0.0377	0.7770	0.2128
155	Poaceae	<i>Cenchrus purpureus</i> (Schumach.) Morrone	หญ้าเนเปีย	-0.0350	0.7064	0.4255
156	Poaceae	<i>Chrysopogon nemoralis</i> (Balansa) Holttum	แฝกดอน	-0.0106	0.1648	0.2128
157	Poaceae	<i>Dactyloctenium aegyptium</i> (L.) Willd.	หญ้าปากคาว	-0.0020	0.0235	0.1064
158	Poaceae	<i>Vietnamosasa ciliata</i> (A. Camus) T. Q. Nguyen	โจด	-0.0322	0.6357	0.5319
159	Poaceae	<i>Vietnamosasa pusilla</i> (A. Chev. & A. Camus) T. Q. Nguyen	เพ็ก	-0.2085	8.4295	3.9362
160	Pteridaceae	<i>Adiantum caudatum</i> L.	เฟินขวาก	-0.0130	0.2119	0.1064

161	Rhamnaceae	<i>Ziziphus oenopolia</i> (L.) Mill. var. <i>oenopolia</i>	เล็บเหยี่ยว	-0.0302	0.5887	1.0638
162	Rubiaceae	<i>Catunaregam spathulifolia</i> Tirveng.	เคด	-0.0020	0.0235	0.1064
163	Rubiaceae	<i>Catunaregam tomentosa</i> (Blume ex DC.) Tirveng.	มะเค็ด หนามแท่ง	-0.0079	0.1177	0.4255
164	Rubiaceae	<i>Ceriscoides turgida</i> (Roxb.) Tirveng.	กระเบียน หมูขาว	-0.0020	0.0235	0.1064
165	Rubiaceae	<i>Gardenia obtusifolia</i> Roxb. ex Kurz	คำมอกน้อย	-0.0312	0.6122	1.1702
166	Rubiaceae	<i>Gardenia saxatilis</i> E. T. Geddes	พุดผา	-0.0118	0.1884	0.7447
167	Rubiaceae	<i>Gardenia sootepensis</i> Hutch.	คำมอกหลวง	-0.0177	0.3061	0.5319
168	Rubiaceae	<i>Hymenodictyon orixense</i> (Roxb.) Mabb.	ส้มกบ	-0.0020	0.0235	0.1064
169	Rubiaceae	<i>Ixora cibdela</i> Craib	เข็มป่า	-0.0292	0.5651	0.8511
170	Rubiaceae	<i>Mitragyna diversifolia</i> (Wall. ex G. Don) Havil.	กระท่อม	-0.0036	0.0471	0.2128
171	Rubiaceae	<i>Morinda pubescens</i> Sm.	ยอป่า	-0.0166	0.2826	0.8511
172	Rubiaceae	<i>Prismatomeris tetrandra</i> (Roxb.) K. Schum.	ตะไล่	-0.0020	0.0235	0.1064
173	Rubiaceae	<i>Psydrax nitidus</i> (Craib) K. M. Wong	กะปะ	-0.0051	0.0706	0.1064
174	Rubiaceae	<i>Spermacoce latifolia</i> Aubl.	กระดุมใบ	-0.0036	0.0471	0.1064
175	Rubiaceae	<i>Spermacoce remota</i> Lam.	หญ้าเขมร	-0.0020	0.0235	0.1064
176	Rubiaceae	<i>Tarenna hoensis</i> Pit.	จันทนา	-0.0188	0.3296	0.6383
177	Rutaceae	<i>Clausena harmandiana</i> (Pierre) Guillaumin	ส่องฟ้า	-0.0020	0.0235	0.1064
178	Rutaceae	<i>Micromelum minutum</i> (G. Forst.) Wight & Arn. var. <i>minutum</i>	สมัดน้อย	-0.0020	0.0235	0.1064
179	Rutaceae	<i>Naringi crenulata</i> (Roxb.) Nicolson	กระแจะ	-0.0020	0.0235	0.1064
180	Salicaceae	<i>Casaria grewifolia</i> Vent.	กรวยป่า	-0.0020	0.0235	0.1064
181	Salicaceae	<i>Flacourtia indica</i> (Burm.f.) Merr.	ตะขบป่า	-0.0359	0.7299	1.5957
182	Sapindaceae	<i>Lepisanthes rubiginosa</i> (Roxb.) Leenh.	มะหวด	-0.0093	0.1413	0.1064
183	Sapotaceae	<i>Xantolis cambodiana</i> (Pierre ex Dubard) P. Royen	ตานเลี่ยน นมนาง	-0.0106	0.1648	0.3191
184	Selaginellaceae	<i>Selaginella</i> sp.	ตีนตุ๊กแก	-0.0523	1.1773	0.1064
185	Smilacaceae	<i>Smilax luzonensis</i> C. Presl	เขียง	-0.0232	0.4238	1.2766
186	Smilacaceae	<i>Smilax ovalifolia</i> Roxb. ex D. Don	เถาวัลย์ย้ง	-0.0020	0.0235	0.1064
187	Stemonaceae	<i>Stemona tuberosa</i> Lour.	หนอนตายหยาก	-0.0199	0.3532	0.8511
188	Vitaceae	<i>Ampelocissus martini</i> Planch.	องุ่นป่า เครืออีโก้ย	-0.0051	0.0706	0.3191
189	Vitaceae	<i>Causonis trifolia</i> (L.) Mabb. & J. Wen	เครือพุดสาม	-0.0051	0.0706	0.1064
190	Vitaceae	<i>Cissus hastata</i> Miq.	ส้มออบแอ็บ	-0.0020	0.0235	0.1064
191	Vitaceae	<i>Cissus repanda</i> (Wight & Arn.) Vahl	เถาวัลย์ปูน	-0.0020	0.0235	0.1064
192	Vitaceae	<i>Cissus repens</i> Lam.	เถาคัน	-0.0188	0.3296	1.0638
193	Vitaceae	<i>Leea thorelii</i> Gagnep.	กะตังใบเดี่ยว	-0.0066	0.0942	0.1064
194	Zingiberaceae	<i>Curcuma angustifolia</i> Roxb.	กระเจียวแดง อาว	-0.0020	0.0235	0.1064
195	Zingiberaceae	<i>Curcuma parviflora</i> Wall.	กระเจียวขาว	-0.0020	0.0235	0.1064
196	Zingiberaceae	<i>Curcuma singularis</i> Gagnep.	กระเจียวโคก	-0.0210	0.3767	0.6383
197	Zingiberaceae	<i>Kaempferia galanga</i> L.	เปราะป่า	-0.0350	0.7064	0.7447
H ¹				4.3447		
Evenness				0.8224		

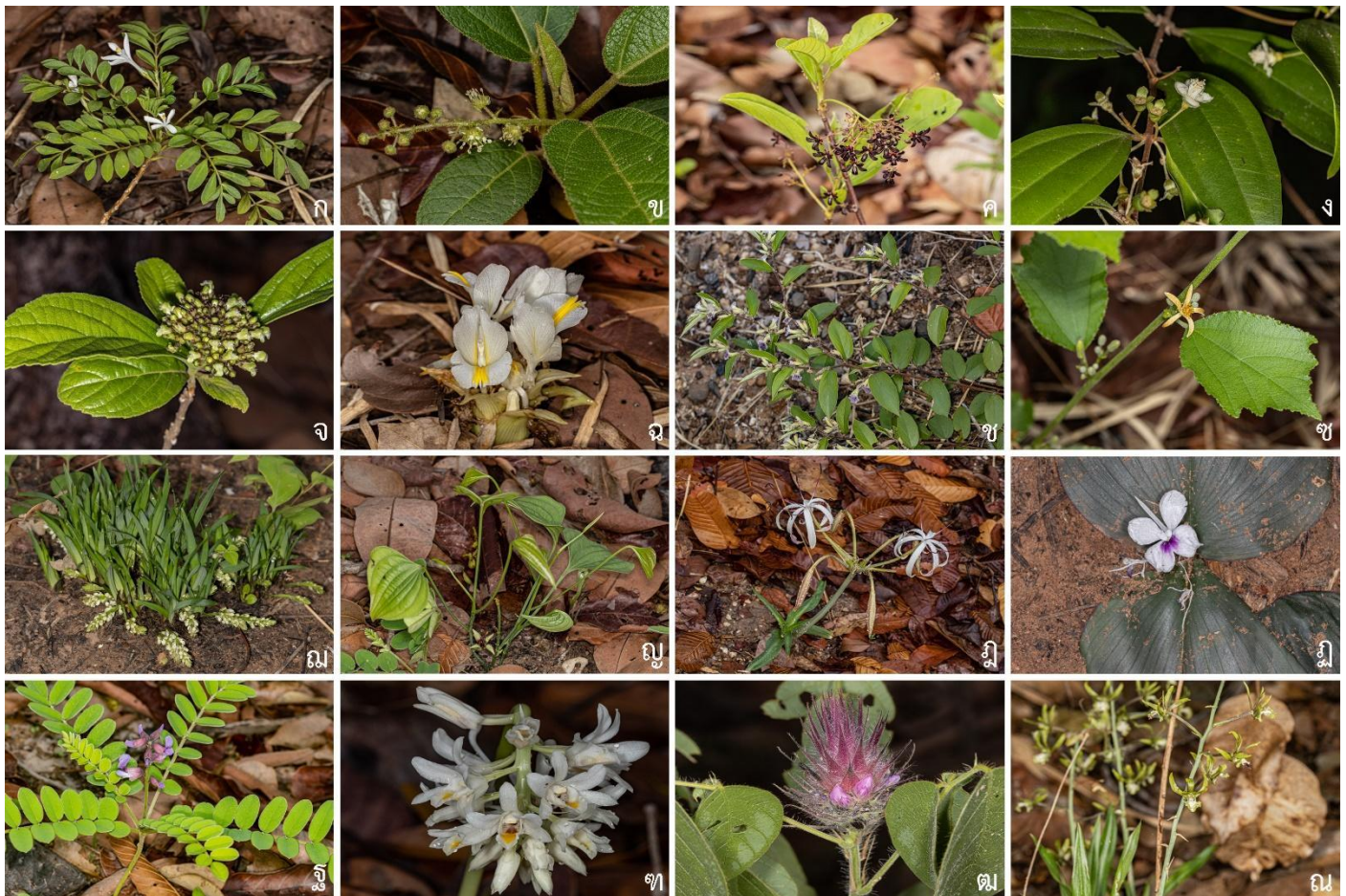
¹ RD = Relative density; RF = Relative frequency

เมื่อจำแนกพืชตามลักษณะวิสัย แบ่งพืชพื้นล่างที่สำรวจพบออกเป็น กล้าไม้และลูกไม้ของไม้ต้น/ไม้ต้นขนาดเล็ก จำนวน 78 ชนิด ไม้พุ่ม/ไม้พุ่มรอเลื้อย จำนวน 37 ชนิด ไม้ล้มลุก จำนวน 51 ชนิด ไม้เลื้อย จำนวน 31 ชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเจริญเติบโตของไม้ต้นรุ่นต่อรุ่นและการมีพืชขนาดเล็กกระจายปกคลุมในพื้นที่ในการช่วยรักษาหน้าดิน ป้องกัน/ชะลอการกัดเซาะและเก็บรักษาความชุ่มชื้นให้กับพื้นที่ และจากการตรวจสอบสถานภาพด้านการอนุรักษ์ตาม IUCN Red list พบพืชที่อยู่ในสถานะใกล้สูญพันธุ์อย่างยิ่ง (Critically Endangered; CR) 2 ชนิด ได้แก่ พะยุงและชิงชัน สถานะใกล้สูญพันธุ์ (Endangered; EN) 1 ชนิด ได้แก่ ประดู่ป่า สถานะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ (Vulnerable; VU) 1 ชนิด ได้แก่ ประดู่ป่า สถานะใกล้ถูกคุกคาม (Near threatened; NT) 3 ชนิด ได้แก่ กระพี้เขาควาย ยางเหียงและเต็ง [9]

นอกจากนี้ ยังมีพืชเฉพาะถิ่นของไทย (Endemic species) 2 ชนิด ได้แก่ พุดผา (*Gardenia saxatilis* E. T. Geddes) และไส้ไก่ (*Jasminum siamense* Craib) พืชหายากของไทย 1 ชนิด ได้แก่ คำมอกหลวง (*Gardenia sootepensis* Hutch.) [10, 19] แสดงให้เห็นว่าป่าชุมชนหุบใหญ่เป็นพื้นที่ป่าที่ควรค่าต่อการอนุรักษ์เพื่อรักษาความหลากหลายของพรรณพืช พันธุกรรมของพืชที่ถูกคุกคามตามบัญชีแดงของ IUCN รวมถึงพืชหายากและพืชเฉพาะถิ่นของไทยให้คงอยู่และกระจายพันธุ์กว้างขวางมากขึ้นในภูมิภาคและประเทศ

4. สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาพืชพื้นล่างในป่าชุมชนหุบใหญ่ พื้นที่ป่าเป็นป่าเต็งรัง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 5.8-7 ความสูงจากระดับน้ำทะเล ประมาณ 191-232 เมตร พืชเด่นประกอบด้วย เพ็ก พลองเหมือด ว่านข้าวเหนียว ส้มลม และกกกันดาร ดัชนีความหลากหลายของพืช เท่ากับ 4.3447 ค่าความสม่ำเสมอในการกระจายตัว เท่ากับ 0.8224 พืชที่พบจากการศึกษา 197 ชนิด จำแนกเป็นพืชกลุ่มเฟินและใกล้เคียง 2 ชนิด พืชเมล็ดเปลือย 1 ชนิด และพืชดอก 194 ชนิด จำแนกพืชดอกตามระบบการจัดจำแนกของ Angiosperm Phylogeny Group (APG IV) ออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ พืชดอกกลุ่ม Magnoliid 8 ชนิด พืชดอกกลุ่ม Monocots 35 ชนิด และพืชมีดอกกลุ่ม Eudicots 151 ชนิด [20] จำแนกได้ 4 ลักษณะวิสัย ได้แก่ ไม้ต้น/ไม้ต้นขนาดเล็ก ไม้พุ่ม/ไม้พุ่มรอเลื้อย ไม้ล้มลุก และไม้เลื้อย พืชที่มีความหนาแน่นสูงสุด 5 อันดับแรก ได้แก่ เพ็ก พลองเหมือด ว่านข้าวเหนียว ส้มลม และกกกันดาร พืชที่มีความถี่สูงสุด 5 อันดับแรก ได้แก่ เพ็ก พลองเหมือด มะค่าแต้ แกลบหนู และว่านข้าวเหนียว พืชบางชนิดอยู่ในสถานะถูกคุกคาม ได้แก่ พะยูง ชิงชัน ประดู่ป่า ปรงป่า บางชนิดอยู่ในสถานะใกล้ถูกคุกคาม ได้แก่ กระพี้เขาควาย ยางเหียงและเต็ง พืชเฉพาะถิ่นของไทย ได้แก่ พุดผาและไส้ไก่ พืชหายากของไทย ได้แก่ คำมอกหลวง



ภาพ 1 พืชพื้นล่างในป่าชุมชนหุบใหญ่ อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนครราชสีมา ก: กระดังเพี้ยก (*Munronia pinnata*) ข: พังคิ (*Croton crassifolius*) ค: โสจดทนง (*Trigonostemon reidioides*) ง: พลองแก้มอัน (*Rhodamnia dumetorum*) จ: ยาเข้าเย็น (*Premna nana*) ฉ: กระเจียวโคก (*Curcuma singularis*) ช: ชีอันเลื้อย (*Helicteres prostrata*) ซ: ยาบ (*Grewia abutilifolia*) ฅ: หญ้าแพรกหิน (*Ophiopogon intermedius*) ฎ: หนอนตายหายาก (*Stemona tuberosa*) ฏ: พลับพลึงป่า (*Crinum wattii*) ฐ: เปราะป่า (*Kaempferia galanga*) ฑ: ถั่วดินโคก (*Sophora exigua*) ฒ: ว่านจูงนาง (*Eulophia recurva*) ณ: ทางกระรอก (*Uraria acaulis*) ณ: ข้างผสมโขลง (*Eulophia andamanensis*)

กิตติกรรมประกาศ: ขอขอบคุณสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกว.) ประจำปีงบประมาณ 2568

เอกสารอ้างอิง

- [1] สมหญิง สุนทรวงษ์. (2554). ป่าชุมชนกับสังคมไทย. แหล่งที่มา: <https://www.recoftc.org/thailand/stories/ป่าชุมชนกับสังคมไทย>.
- [2] สำนักงานอุทยานธรณีโคราช. (2566). เอกสารสมัครอุทยานธรณีโลก: อุทยานธรณีโคราช จังหวัดนครราชสีมา. แหล่งที่มา: <https://www.khoratgeopark.com/ContentInfo.aspx?dataid=18c9297e-1212-4ee3-bd32-fcfab143b69b&ctype=book>
- [3] Srisanga, P., Muangsang, N., Choopan, T. Thangthong, J. Pratcharoenwanich, R. Watthana, S. (2021). *Maerua koratensis* (Capparaceae), a new species from Thailand. *Phytotaxa*. 498(3): 213-219.
- [4] Forest Herbarium. (2024). Thai plant names: Tem Smitinand (rev. ed. 2014). Source: <https://botany.dnp.go.th/mplant/index.html>
- [5] IPNI. (2024). International Plant Names Index. Source: <http://www.ipni.org>
- [6] POWO. (2024). Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Source: <https://powo.science.kew.org/>
- [7] ก่องกานดา ขยามฤต และ วรลตต์ แจ่มจำรูญ. (2559). คู่มือจำแนกพรรณไม้. กรุงเทพฯ: กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.
- [8] ธวัชชัย สันติสุข. (2555). ป่าของประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.
- [9] IUCN. (2024). The IUCN red list of threatened species Version 2024-1. Source: <https://www.iucnredlist.org/>
- [10] Forest Herbarium. (2017). Threatened plants in Thailand. Bangkok: Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation.
- [11] ดอกกรีก มารอด. (2554). เทคนิคการสุ่มตัวอย่างและการวิเคราะห์สังคมพืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [12] Pielou, E.C. (1975). *Ecological Diversity*. New York: Wiley.
- [13] Krebs, C.J. (1985). *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. New York: Harper & Row.
- [14] เทียมหทัย ชูพันธ์ และ วิไลลักษณ์ ชุมสไตอินน์. (2558). ความหลากหลายของพรรณไม้ในวนอุทยานภูผาล้อม อำเภอนาด่าง จังหวัดเลย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 34(4): 336-341.
- [15] เทียมหทัย ชูพันธ์ กนกวรรณ ขจีรัมย์ กรกมล ชูรัก จริยานันท์ ชูเดช และ พรพิมล สมจิตร์. (2560). ความหลากหลายของพรรณพืชกับปริมาณคาร์บอนสะสมในป่าชุมชน เทศบาลตำบลเมืองใหม่โคกกรวด อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา. รายงานสืบเนื่องการประชุมเครือข่ายงานวิจัยนิเวศวิทยาป่าไม้ประเทศไทย ครั้งที่ 6 ณ มหาวิทยาลัยมหิดล (ศาลายา) วันที่ 19-20 มกราคม 2560: 88-99.
- [16] เทียมหทัย ชูพันธ์ เสาวลักษณ์ จำเริญธรรม และ อัญชลี ลำพึง. (2560). ความหลากหลายและนิเวศวิทยาของไม้พื้นล่างในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา จังหวัดชัยภูมิ. รวมบทความวิจัยการประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 11 ณ มหาวิทยาลัยมหิดล วันที่ 14-16 มิถุนายน 2560: 30-36.
- [17] เทียมหทัย ชูพันธ์. (2562). พรรณพืชในป่าชุมชนภูประดู่เฉลิมพระเกียรติ อำเภอบรบือ จังหวัดนครราชสีมา. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 47(4): 673-690.
- [18] เทียมหทัย ชูพันธ์ นาริชา วาตี ศรีญาญ กล้าหาญ สุนิษา ยัมละมัย และสุวรรณี อุดมทรัพย์. (2563). ความหลากหลายของพรรณพืชในวัดป่าเขาคงคา อำเภอบรบือ จังหวัดนครราชสีมา. วารสาร PSRU Journal of Science and Technology. 5(3): 74-96.
- [19] ราชนันท์ ภูมา. (2551). พืชหายากของประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช.
- [20] Angiosperm Phylogeny Group IV. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181(1): 1 – 20. doi: 10.1111/boj.12385.

การศึกษาเบื้องต้นของสาหร่ายขนาดเล็กในลำไส้ของลูกน้ำยุงลายบ้านที่เก็บมาจากจังหวัดนครศรีธรรมราช ประเทศไทย

Preliminary study on microalgae in the gut of *Aedes aegypti* mosquitoes larvae collected from Nakhon Si Thammarat, Thailand

จิรัฐดา พรหมเพรา¹, ณัฐธา เสนีवास², เอกพันธ์ ไกรจักร², เสาวลักษณ์ แก้วมี³, เจมิชา ดุดธ⁴, อัญชิษฐา รุจิโรทัย⁵, กนก พฤตวิทย์⁴, แพตจ สิริยะเสถียร⁴, นริศรา จริยะพันธุ์^{4,*}
Jeerisuda Promprao¹, Nuttha Sanevas², Ekaphan Kraichak², Saowalak Kaewmee³, Jemisha Dudhat⁴, Anchittha Rujeerapaiboon⁵, Kanok Preativatanyou⁴,
Padet Siriyasatien⁴, Narissara Jariyapan^{4,*}

¹ สาขาปรสิตวิทยาทางการแพทย์, ภาควิชาปรสิตวิทยา, คณะแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร 10330, ประเทศไทย.

¹ Medical Parasitology Program, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

² หน่วยบ่มเพาะการวิจัยเฉพาะทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพและการตอบสนองต่อสภาพอากาศ, ภาควิชาพฤกษศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร 10900, ประเทศไทย

² Special Research Incubator Unit for Cryptogamic Biodiversity and Climate Responses, Department of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

³ สาขาเลขานุการการแพทย์และสาธารณสุข, วิทยาลัยสหเวชศาสตร์, มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา, สมุทรสงคราม 75000, ประเทศไทย.

³ Department of Medical and Public Health Secretary, College of Allied Health Sciences, Suan Sunandha Rajabhat University, Samut Songkhram 75000, Thailand.

⁴ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านชีววิทยาของพาหะนำโรคและโรคติดต่อมาโดยแมลง, ภาควิชาปรสิตวิทยา, คณะแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร 10330, ประเทศไทย.

⁴ Center of Excellence in Vector Biology and Vector-Borne Disease, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

⁵ หน่วยปฏิบัติการวิจัยพรรณไม้ประเทศไทย, ภาควิชาพฤกษศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร 10330, ประเทศไทย.

⁵ Plants of Thailand Research Unit, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

*Correspondence: narissara.j@chula.ac.th

บทคัดย่อ: ยุงลายบ้านเป็นพาหะสำคัญของโรคที่เกิดจากไวรัส เช่น ไข้เลือดออก ไข้ปวดข้อยุงลาย และโรคชิก้า ก่อให้เกิดการเจ็บป่วยและเสียชีวิตทั่วโลก ในไม่กี่ปีที่ผ่านมา สาหร่ายขนาดเล็กได้รับความสนใจเนื่องจากมีรายงานบ่งชี้ถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือกำจัดลูกน้ำยุง เพื่อศึกษาสาหร่ายขนาดเล็กในลำไส้ของลูกน้ำยุงลายบ้าน จากจังหวัดนครศรีธรรมราช ประเทศไทย ใน 3 ชุมชน คือ วัดมัมบ่อม วัดบุญรอบ และบ้านนาเคียน แต่ละพื้นที่ เก็บลูกน้ำระยะที่ 4 จากภาชนะ 9 ถึง 15 ชิ้น ที่ระบุชนิดเบื้องต้นด้วยตาเปล่าและยืนยันโดยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงในห้องปฏิบัติการ สาหร่ายขนาดเล็กที่แยกจากลำไส้ลูกน้ำยุงลายบ้านไม่น้อยกว่า 900 ตัว ได้รับการระบุชนิดโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบอย่างน้อย 8 สกุล คือ *Monoraphidium*, *Ankistrodesmus*, *Eudorina*, *Scenedesmus*, *Bracteacoccus*, *Pediastrum*, *Nannochloropsis* และ *Leptolyngbya* โดย *Scenedesmus* และ *Leptolyngbya* มีรายงานว่าเป็นพืชต่อลูกน้ำยุง การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการระบุชนิดและผลกระทบของสาหร่ายขนาดเล็กต่อยุงแต่ละชนิด มีความจำเป็นเนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กบางชนิดอาจมีผลกระทบที่แตกต่างกันในยุงแต่ละชนิด ความเข้าใจเกี่ยวกับผลของสาหร่ายขนาดเล็กต่อยุง สามารถช่วยพัฒนากลยุทธ์การควบคุมยุงที่ยั่งยืนและมีประสิทธิภาพได้

คำสำคัญ: สาหร่ายขนาดเล็ก, ยุงลายบ้าน, ประเทศไทย

Abstract: *Aedes aegypti* is a major vector of arboviral diseases such as dengue, chikungunya, and Zika, contributing to significant global morbidity and mortality. Microalgae have garnered interest in recent years due to reports indicating its capacity to impede the growth or eliminate mosquito larvae. This study aimed to investigate microalgae present in the gut of *Ae. aegypti* larvae collected from Nakhon Si Thammarat, Thailand. Three locations, Mum Pom Temple communities, Bun Na Rop Temple communities, and Ban Na Kian communities, were chosen. At each location, 9 to 15 containers with fourth-instar larvae were visually identified for preliminary species and subsequently confirmed using light microscopy in

the laboratory. Microalgae isolated from at least 900 larval gut contents were examined and identified using light microscopy. At least 8 genera were identified including *Monoraphidium*, *Ankistrodesmus*, *Eudorina*, *Scenedesmus*, *Bracteacoccus*, *Pediastrum*, *Nannochloropsis*, and *Leptolyngbya*. At least two genera, i.e., *Scenedesmus* and *Leptolyngbya*, have been reported to exhibit toxicity against mosquito larvae. Further studies on the identification of these microalgae to the species level and their effect on a specific mosquito species are essential, as some microalgae may have impacts on different mosquito species. Understanding how microalgae affect mosquitoes can help develop sustainable and effective mosquito control strategies.

Keywords: Microalgae, *Aedes aegypti*, Thailand

1. Introduction

Aedes aegypti mosquitoes serve as primary vectors for several arboviruses across tropical and subtropical regions worldwide [1], transmitting diseases such as dengue, chikungunya, and Zika, which are associated with high rates of morbidity and mortality [2]. The widespread and continuous use of chemical insecticides in mosquito control efforts has led to the development of insecticide resistance, modifications in mosquito feeding behavior, and numerous adverse effects on both human health and the environment [3]. As resistance to conventional insecticides escalates, there is an urgent demand for environmentally sustainable alternatives, including bioproducts, to support more effective and safer vector control strategies [4].

Microalgae are widespread photosynthetic microorganisms found in aquatic environments, playing key roles in nutrient cycling and ecosystem stability [5]. Besides their ecological importance, they are being explored as a tool for mosquito control, as they serve as a vital food source for mosquito larvae [6-8]. Studies have shown that feeding *Ae. aegypti* with certain algae can delay development and reduce size [9]. Moreover, genetically modified microalgae with HR3 RNAi were found to be lethal to mosquito larvae [6]. Understanding these interactions is essential for developing innovative mosquito control strategies and reducing mosquito-borne diseases. Charles *et al.*, 2011 identified at least 55 algal species in the gut contents of larvae from eight mosquito species in Mysore, India, using morphological analysis [10]. While this method is convenient, it has limitations in detecting small or cryptic microalgae. In Bangkok's metropolitan area, dominant algal groups include *Cyanophyta*, *Chlorophyta*, *Charophyta*, *Bacillariophyta*, and *Eustigmatophyta*, with *Chroococcidiopsis* sp. being the most prevalent [11].

Therefore, this study focused on identifying microalgae found in the gut of *Ae. aegypti* larvae collected from Nakhon Si Thammarat, Thailand, using light microscopy. The data obtained in this study would enhance understanding of the microalgal species present in the gut of *Ae. aegypti* mosquitoes, offering information for future research on selecting specific microalgae with potential use in mosquito control strategies.

2. Material and Methods

2.1. Study area and collection *Ae. aegypti* larvae

Three locations of *Ae. aegypti* breeding sites in Nakhon Si Thammarat Province, Thailand, were chosen including Mum Pom Temple communities (MP) [8°25'38.1"N; 99°57'56.9"E], Bun Na Rop Temple communities (BN) [8°25'06.4"N; 99°58'05.6"E], and Ban Na Kian communities (NK) [8°26'41.2"N; 99°54'07.1"E].

In each location, nine to fifteen containers such as tires, ceramic vases, glass bottles, or plastic containers were selected. The larvae from the selected containers were pooled to create a single larval sample consisting of not less than

900 larvae. Therefore, three larval samples called L-MP, L-BN, and L-NK were represent for larvae from each location. A total of 900 fourth-instar larvae from each sample were selected and dissected to obtain gut contents.

2.2. Dissection of larval gut and morphological identification of microalgae

The 900 fourth-instar larvae from each location were dissected in PBS under a dissecting microscopy for collecting the larval gut (Figure 1), resulting in a final volume of 100 μ L. Microalgae isolated from gut contents were examined under a microscope (ECLIPSE E100, Nikon Corporation, Tokyo, Japan) and morphologically identified using a freshwater algae identification key [12].

3. Results and Discussion

Microalgae are frequently found in mosquito breeding sites and can serve as a food source for mosquito larvae. *Chlorella* and *Scenedesmus* are common microalgae found in mosquito breeding sites. *Oscillatoria*, a type of cyanobacteria, can be abundant in these habitats. Other genera like *Synedra*, *Pinnularia*, *Cymbella*, *Meridium*, *Navicula*, and *Dictyosphaerium* have also been identified. Some microalgae, like *Picochlorum*, may even be specific to waters where mosquitoes breed [13]. Some Cyanobacteria (blue-green algae) provide food for mosquito larvae, while others are toxic and can cause larval mortality. Some Chlorococcales green algae are also indigestible and can lead to larval starvation [9]. Certain green algae species like *Kirchneriella*, *Scenedesmus*, *Coelastrum*, *Selenastrum*, *Dactylococcus*, and *Tetralantus* are difficult for *Culex*, *Aedes*, and *Anopheles* mosquito larvae to digest. This indigestibility reduces mosquito larval development and survival, particularly when these algae are the primary food source in their breeding habitats [14]. The presence of certain microalgae, particularly cyanobacteria, can reduce the effectiveness of some larvicides, such as *Bacillus thuringiensis* H-14 (BTI) [15]. Additionally, the presence of certain microalgae can influence the effectiveness of mosquito control methods, such as larvicides [13].

In this study, various microalgae were found in the gut content of the *Ae. aegypti* larvae (Figure 1). At least 8 genera were identified in all three gut content samples, L-MP, L-BN, and L-NK, including *Monoraphidium*, *Ankistrodesmus*, *Eudorina*, *Scenedesmus*, *Bracteacoccus*, *Pediastrum*, *Nannochloropsis*, and *Leptolyngbya*. Also, cyanobacteria, green algae, and diatoms were present. Our results suggested that these microalgae were commonly found in microbial communities of the breeding sites of *Ae. aegypti*. The identification of these microalgae to the species level and study the effect of each microalga on the mosquito species should be performed in the future. Understanding the role of microalgae in mosquito breeding sites is important for developing effective mosquito control strategies, including biological control methods using algae or their extracts.

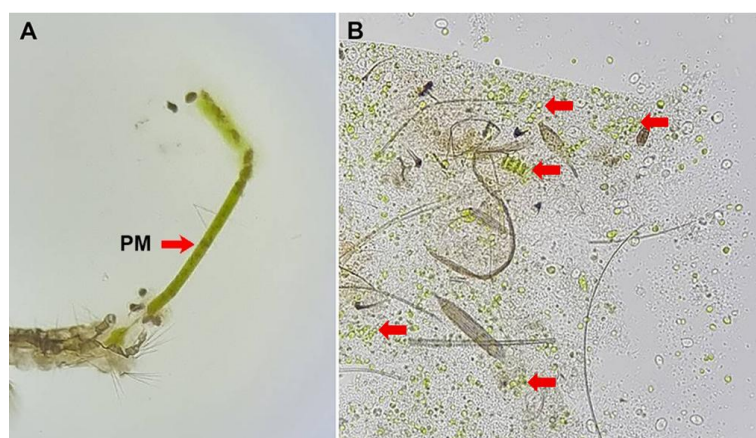


Figure 1 (A) Gut of an *Ae. aegypti* larva with intact peritrophic membrane (PM). (B) Microalgae present within the larval gut.

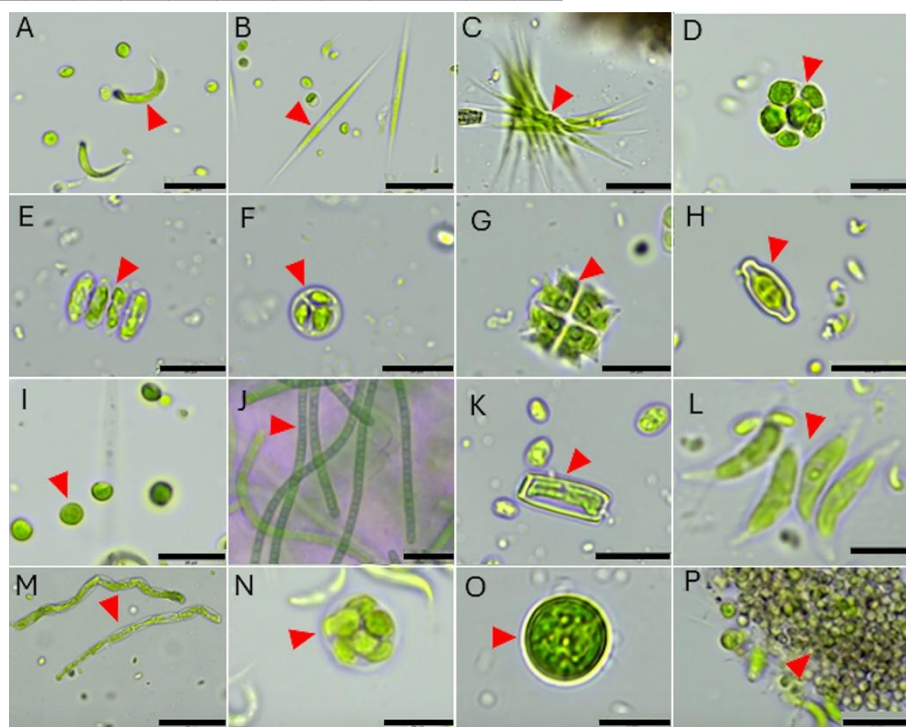


Figure 2 Microalgae collected from the gut of *Ae. aegypti* larvae. (A, B) *Monoraphidium*, (C) *Ankistrodesmus*, (D) *Eudorina*, (E) *Scenedesmus* sp.1, (F) *Bracteacoccus*, (G) *Pediastrum*, (H) unidentified diatom 1, (I) *Nannochloropsis*, (J) *Leptolyngbya*, (K) unidentified diatom 2, (L) *Scenedesmus* sp.2, (M) filamentous green alga, (N) *Eudorina*, (O) *Bracteacoccus*, (P) unidentified cyanobacteria. Bar = 20 μ m.

4. Conclusions

To our knowledge, this was the first study that investigated microalgae present in the *Ae. aegypti* larval guts in Thailand. In this study, at least 8 genera were identifiable by light microscopy, including *Monoraphidium*, *Ankistrodesmus*, *Eudorina*, *Scenedesmus*, *Bracteacoccus*, *Pediastrum*, *Nannochloropsis*, and *Leptolyngbya*. The information obtained from this study would lead to identifying these microalgae to the species level and studying the effect of each microalga on *Ae. aegypti* in order to develop an eco-friendly mosquito larvicide in the future.

Acknowledgements: This project was funded by National Research Council of Thailand (NRCT) and Chulalongkorn University (grant number N42A660641), Global Health Research Promotion Grant from the School of Global Health, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, and the 90th Anniversary of Chulalongkorn University Fund (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund) (grant number GCUGR1125661008M).

References

53. Gwee XWS, Chua PEY, Pang J (2021) Global dengue importation: a systematic review. *BMC Infect Dis* 21:1-10.
54. Naslund J, Ahlm C, Islam K, Evander M, Bucht G, Lwande OW (2021) Emerging mosquito-borne viruses linked to *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: global status and preventive strategies. *Vector Borne Zoonotic Dis* 21:731-746.
55. Ahmad MF, Ahmad FA, Alsayegh AA, Zeyaulah M, AlShahrani AM, Muzammil K, Saati AA, Wahab S, Elbendary EY, Kambal N, Abdelrahman MH, Hussain S (2024) Pesticides impacts on human health and the environment with their mechanisms of action and possible countermeasures. *Heliyon* 10:e29128.
56. Jemima P, Kumar TS (2023) Bio-efficiency of algal mat and algal extract as a larvicide against female *Anopheles* sp. mosquito larvae. *J Entomol Res* 47:253-257.
57. Tufan-Cetin O, Cetin H (2023) Use of micro and macroalgae extracts for the control of vector mosquitoes. *PeerJ* 11:e16187.

58. Fei X, Zhang Y, Ding L, Xiao S, Xie X, Li Y, Deng X (2021). Development of an RNAi-based microalgal larvicide for the control of *Aedes aegypti*. *Parasit Vectors* 14:387.
59. Gil MF, Fassolari M, Battaglia ME, Berón CM (2021). *Culex quinquefasciatus* larvae development arrested when fed on *Neochloris aquatica*. *PLoS Negl Trop Dis* 15:e0009988.
60. Perumal P, Dhanasundaram S, Aravinth A, Amutha V, Santhanam P (2022) Larvicidal property of the extracts of the seaweeds; *Sargassum wightii*, *S. ilicifolium* and *Gelidiella acerosa* against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Biocatal Agric Biotechnol* 43:102436.
61. Ahmad R, Chu WL, Ismail Z, Lee HL, Phang SM (2004) Effect of ten chlorophytes on larval survival, development and adult body size of the mosquito *Aedes aegypti*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 35:79-87.
62. Charles V, Vijayan VA, Ali Ashraf A, Hosmani SP (2011) Feeding habitats of mosquito larvae and their gut flora at Mysore. *Nat. Environ. Pollut. Technol.* 10:219-224.
63. Saraphol S, Rindi F, Sanevas N (2024) Diversity of epiphytic subaerial algal communities in Bangkok, Thailand, and their potential bioindicator with air pollution. *Diversity* 16:55.
64. Prescott GW (1964) Contributions of current research to algal systematics. In: Jackson DF (Ed) *Algae and Man*. Springer US 1-30.
65. Ranasinghe HAK, Amarasinghe LD (2020) Naturally occurring microbiota associated with mosquito breeding habitats and potential parasitic species against mosquito larvae: a study from Gampaha District, Sri Lanka. *Biomed Res Int* 2020:4602084.
66. Marten GG (1986). Mosquito control by plankton management: the potential of indigestible green algae. *J Trop Med Hyg* 89:213-222.
67. Abdel-Hameed A, Kiviranta J, Sivonen K, Niemelä S, Carlberg G (1993) Algae in mosquito breeding sites and the effectiveness of the mosquito larvicide *Bacillus thuringiensis* H-14. *World J Microbiol Biotechnol* 9:156-159.

การสำรวจเบื้องต้นของทรัพยากรพืชท้องถิ่นของชนเผ่ากะเหรี่ยงหมู่บ้านโล๊ะโคะ ตำบลโกสัมพีนคร อำเภอกอสนี จังหวัดกำแพงเพชร

Preliminary survey of ethnic Karen's local plants resources in Lo Kho Village, Kosamphi Subdistrict, Kosamphi Nakhon District, Kamphaeng Phet Province

อรรณูยา สมหวัง¹, ชลธิชา ภูแก้ว¹, อาทิตยา ใจเที่ยง¹, นิ่งฤทัย จักรศรี¹, ปราณี นางงาม² และธนากร วงษ์ศา^{1*}

Arunya Somwang¹, Chonthicha Pukaew¹, Athittaya Jaithiang¹, Nuengruethai Jucksri¹, Pranee Nangngam², and Thanakorn Wongsas^{1*}

¹ โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร กำแพงเพชร 62000

¹ Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University, Kamphaeng Phet, 62000

² ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

² Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok, 65000

Correspondence: thanakorn_wo@kpru.ac.th

บทคัดย่อ: ภูมิปัญญาด้านพฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชนเผ่ากะเหรี่ยง หมู่บ้านโล๊ะโคะ จังหวัดกำแพงเพชร กำลังสูญหายเนื่องจากการขาดความสนใจจากคนในชุมชน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อบันทึกองค์ความรู้การใช้ประโยชน์จากพืชของชุมชน โดยระบุชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชและจำแนกประเภทตามสถานภาพแหล่งกำเนิดและการใช้ประโยชน์ ดำเนินการโดยการสัมภาษณ์ผู้รู้ในชุมชนจำนวน 9 คน ที่มีอายุระหว่าง 65-80 ปี ร่วมกับการสำรวจพืชในพื้นที่เป็นระยะเวลา 10 เดือน วิเคราะห์ข้อมูลโดยการจัดกลุ่มพืชตามประเภทการใช้ประโยชน์และจำแนกตามการเป็นพืชท้องถิ่นหรือพืชต่างถิ่น พบพืชสมุนไพรที่มีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในชุมชน ได้แก่ *Biancaea sappan* (L.) Tod. สำหรับใช้บำรุงร่างกายและบำรุงเลือด พืชอาหารส่วนใหญ่นำมาใช้ในลักษณะการบริโภคผลสด ในขณะที่พืชสมุนไพรมักนำมาต้มดื่ม ข้อมูลที่ได้จะช่วยในการอนุรักษ์องค์ความรู้ภูมิปัญญาท้องถิ่นและความหลากหลายของพันธุ์พืชที่มีการใช้ประโยชน์ในชุมชน

คำสำคัญ: พฤกษศาสตร์พื้นบ้าน, กะเหรี่ยง, จังหวัดกำแพงเพชร

Abstract: The traditional ethnobotanical knowledge of the Karen ethnic group in Lo Kho Village, Kamphaeng Phet Province, Thailand, faces extinction due to declining community interest. This study aimed to document traditional plant utilization knowledge by identifying scientific names of plants and classifying them according to their origin status and utilization. The study was conducted through interviews with 9 knowledgeable community members aged 65-80 years, combined with field plant surveys over a period of 10 months. Data were analyzed by categorizing plants according to their utilization types and classifying them as either native or introduced species. Medicinal plants widely utilized in the community were identified, including plants of *Biancaea sappan* (L.) Tod. used for tonic. Most food plants are consumed as fresh fruits, while medicinal plants are typically prepared as herbal infusions. The obtained data will aid in the conservation of both traditional knowledge and the diversity of plant species utilized within the community.

Keywords: Ethnobotany, Karen, Kamphaeng Phet Province

1. บทนำ

ชุมชนชาวกะเหรี่ยงหมู่บ้านโล๊ะโคะ อำเภอกอสนี จังหวัดกำแพงเพชร ตั้งอยู่ในเขตอุทยานแห่งชาติคลองวังเจ้า ณ หมู่ 10 ตำบลโกสัมพีนคร อำเภอกอสนี จังหวัดกำแพงเพชร ลักษณะพื้นที่เป็นภูเขาสลับซับซ้อน หมู่บ้านตั้งอยู่ในหุบเขา มีคลองและภูเขาล้อมรอบ ความสูงของพื้นที่ประมาณ 500 เมตรจากระดับน้ำทะเล สภาพป่าเป็นป่าเบญจพรรณและป่าดิบแล้ง เป็นต้นน้ำของคลองวังเจ้าและแม่น้ำปิง และยังเป็นแหล่งน้ำที่สำคัญสำหรับการดำรงชีวิตของหมู่บ้านขนาดเล็กของชุมชนชาวกะเหรี่ยงหรือ ปกาเกอญอ ชาวกะเหรี่ยงที่อาศัยอยู่ในหมู่บ้านโล๊ะโคะเป็นกะเหรี่ยงสะกอ มีวิถีชีวิตแบบเรียบง่าย พอเพียง ดำรงชีพจากการใช้ทรัพยากรพืชตามธรรมชาติในท้องถิ่น มีการทำไร่แบบหมุนเวียน ปลูกข้าวเพื่อบริโภคเอง ยังมีการนำพืชที่เป็นสมุนไพรมาใช้ในการรักษาอาการเจ็บป่วยหรือล้างสารพิษ มีการพึ่งพาอาศัยกันระหว่างป่ากับคนในชุมชน เนื่องจากชุมชนมีความห่างไกลจากความเจริญในหลายด้าน ไม่มีไฟฟ้า ไม่มีสถานบริการทางด้านสาธารณสุข รวมถึงเส้นทางที่ค่อนข้างทุรกันดารในอดีต ในปัจจุบันมีการพัฒนาเพียงถนนขนาดประมาณ 1 เมตร จำนวน 2 ช่องทางเพื่อวิ่งสวนทางกันเป็นระยะทางประมาณ 30 กิโลเมตร จากหมู่บ้านไปยังโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพชุมชนบ้านหนองแดน อำเภอกอสนี จังหวัดกำแพงเพชร ทำให้จำเป็นต้องมีองค์ความรู้จากการใช้ประโยชน์หลากหลาย

ด้านของพืช เช่น พืชอาหาร และพืชสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาอาการเจ็บป่วย เป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นของคนในชุมชนสืบทอดกันมา เนื่องจากไม่มีการบันทึกเป็นลายลักษณ์อักษรและปัจจุบันสามารถเดินทางไปพบแพทย์ด้วยการเดินทางที่สะดวกและมียาแผนปัจจุบันส่งผลให้ไม่มีความจำเป็นที่ต้องสมุนไพร อีกทั้งพืชบางชนิดหายากจึงทำให้มีความต้องการใช้สมุนไพรที่ลดลง โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับองค์ความรู้ของชนเผ่ากะเหรี่ยง เป็นชนเผ่าที่มีวิถีชีวิตที่เกี่ยวกับป่าและธรรมชาติ ทั้งทางด้านความเชื่อ พิธีกรรม ที่อยู่อาศัย อาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ประโยชน์ในด้านยารักษาโรค ได้มีการศึกษารวบรวมองค์ความรู้ของพฤกษศาสตร์พื้นบ้านของกะเหรี่ยงในพื้นที่ต่าง ๆ เช่น หมู่บ้านห้วยน้ำหนัก ตำบลตนาหวะ อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี [1] บ้านขุนตื้นน้อย หมู่บ้านชาวกะเหรี่ยงในพื้นที่โครงการขยายผลโครงการหลวง [2] และการศึกษาพฤกษศาสตร์การแพทย์พื้นบ้านของชาวกะเหรี่ยงในหมู่บ้านห้วยโศภะ อำเภอท่าสองยาง จังหวัดตาก [3] ปัจจุบันความเป็นอยู่ของชนเผ่ากะเหรี่ยงมีการเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากป่าที่เป็นแหล่งที่อยู่ของชุมชนอยู่ในเขตอุทยานแห่งชาติคลองวังเจ้า ทำให้ไม่ได้ขยายพื้นที่อยู่อาศัย ไม่สามารถใช้ทรัพยากรจากป่าได้ดังเดิม ในปัจจุบันหมู่บ้านโละโคะมีการเปลี่ยนแปลงวิถีชีวิตตามรูปแบบของวัฒนธรรมจากสังคมเมืองเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ภูมิปัญญาของการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืชในด้านต่าง ๆ เช่น การใช้สมุนไพรในการรักษาอาการเจ็บป่วยให้ลดลง ไม่มีการบันทึกองค์ความรู้เป็นลายลักษณ์อักษร ไม่ถูกถ่ายทอดให้กับชนรุ่นหลังและมีการอพยพย้ายถิ่นที่อยู่หรือเลือกประกอบอาชีพในสังคมเมืองของกลุ่มวัยแรงงาน เพื่อเป็นการอนุรักษ์ภูมิปัญญาการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืช จึงได้รวบรวมองค์ความรู้ของการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืชจากผู้มีความรู้ในหมู่บ้านโละโคะ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำไปศึกษาและใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืชต่อไปได้ในอนาคต

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การวิจัยพฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวกะเหรี่ยงใน ตำบลโกสัมพี อำเภอโกสัมพีนคร จังหวัดกำแพงเพชร ณ หมู่บ้านโละโคะ (ภาพที่ 1) โดยรวบรวมข้อมูลโดยการสัมภาษณ์ผู้สูงอายุและบุคคลที่มีความรู้ประสบการณ์จำนวน 9 คน อายุระหว่าง 65-80 ปี เกี่ยวกับข้อมูลของพืชที่นำมาใช้ประโยชน์จากภูมิปัญญาท้องถิ่น การสำรวจและเก็บรวบรวมข้อมูลการดำเนินการตั้งแต่เดือนมกราคม 2563 ถึงเดือนตุลาคม 2563 คำถามหลักที่ใช้ในการสัมภาษณ์ พืชที่นำมาใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ ส่วนของพืชที่นำมาใช้ เช่น ราก ลำต้น ใบ ดอก หรือผล ประเภทของการนำไปใช้ บันทึกข้อมูลชื่อพืชภาษากะเหรี่ยง ชื่อพื้นเมือง สรรพคุณของพืชแต่ละชนิด พร้อมถ่ายภาพ ตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ในระดับวงศ์ (family) สกุล (genus) หรือระดับชนิด (species) จากเอกสารต้นไม้เมืองเหนือ คู่มือศึกษาพรรณไม้ในป่าภาคเหนือ ประเทศไทย และคู่มือศึกษาพรรณไม้ในประเทศไทย [4-16] จัดทำข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากพืชที่ชาวกะเหรี่ยงนำมาใช้ประโยชน์



ภาพที่ 1 พื้นที่การศึกษาบ้านโละโคะ ตำบลโกสัมพี อำเภอโกสัมพีนคร จังหวัดกำแพงเพชร
ที่มา: ปรับปรุงจาก <https://www.google.com/maps>

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

การสำรวจข้อมูลการใช้ประโยชน์จากพืชของชุมชนด้วยการสัมภาษณ์ผู้สูงอายุและบุคคลที่มีความรู้ประสบการณ์จำนวน 9 คน พบว่า ข้อมูลพืชที่นำมาใช้ประโยชน์ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ พืชอาหาร พืชสมุนไพร และกล้วยไม้ (พืชเพื่อพัฒนาเชิงเศรษฐกิจ) จำแนกชนิดของพืชที่รวบรวมได้จากการสำรวจในป่าชุมชนของชาวกะเหรี่ยงหมู่บ้านโล๊ะโคะ พบว่ามีการนำพืชมาใช้เป็นพืชอาหาร 50 ชนิด (ตารางที่ 1) เป็นพืชท้องถิ่นดั้งเดิม (native species) 31 ชนิด พืชต่างถิ่น (introduced species) 19 ชนิด แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับประกอบอาหาร จำนวน 27 ชนิด (ผักโขมหนาม มะกอกป่า ผักเชียงดา บุก ผือก บอน ค้อ ผักกูด เพกา กุ่มน้ำ ตำลึง ฟักทอง มะระขี้นก ฟักข้าว มันสำปะหลัง ส้มป่อย ชะอม ขี้เหล็ก มะขาม กล้วยป่า ผักหวานป่า ผักอีหนู ข้าวโพด ยอ มะเขือเทศราชินี และมะเขือเจ้าพระยา) เป็นเครื่องเทศ จำนวน 10 ชนิด (ผักชีใบเลื่อย โหระพา กะเพรา สะพัด ตะไคร้ มะนาว พริกกะเหรี่ยง ขมิ้นชัน ไพล และขิง) และรับประทานเป็นผลไม้ จำนวน 13 ชนิด (มะม่วง น้อยโหนด น้อยหน่า มะพร้าว มะละกอ แตงไทย ก่อหนาม กระบก กล้วยน้ำว้า มะเฟือง มะไฟป่า ส้มโอ และลำไย) สอดคล้องกับการใช้ประโยชน์ของชาวกะเหรี่ยง หมู่บ้านห้วยตอง ตำบลแม่วิน กิ่งอำเภอแม่วง จังหวัดเชียงใหม่ มีการใช้ประโยชน์จากพืชในท้องถิ่น เช่น มะไฟป่า กล้วยน้ำว้า และฝรั่ง นำมาใช้เป็นพืชอาหาร [17] รวมถึงรายงานการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืชของชุมชนไทใหญ่ กะเหรี่ยง ลาหู่แดง (มุเซอแดง) และลาหู่ดำ (มุเซอดำ) ในเขตอำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน คือมีรายงานการนำต้นฟักข้าว มะระขี้นก และขมิ้นชันมาใช้เป็นพืชอาหาร [18]

ตารางที่ 1 รายชื่อพืชอาหารที่สำรวจพบในบริเวณพื้นที่รอบหมู่บ้านโล๊ะโคะ (เครื่องหมาย * เป็นพืชต่างถิ่น)

ลำดับ	ชื่อวงศ์	ชื่อพื้นเมือง	ชื่อวิทยาศาสตร์	การนำไปใช้ (ส่วนที่นำมาใช้)
1	AMARANTHACEAE	ผักโขมหนาม*	<i>Amaranthus spinosus</i> L.	อาหาร (ยอดอ่อน)
2		มะม่วง	<i>Mangifera indica</i> L.	ผลไม้
3		มะกอกป่า	<i>Spondias pinnata</i> (L.f.) Kurz	อาหาร (ใบ/ผล)
4	ANNONACEAE	น้อยโหนด*	<i>Annona reticulata</i> L.	ผลไม้
5		น้อยหน่า*	<i>Annona squamosa</i> L.	ผลไม้
6	APIACEAE	ผักชีใบเลื่อย*	<i>Eryngium foetidum</i> L.	เครื่องเทศ (ใบ)
7	APOCYNACEAE	ผักเชียงดา	<i>Gymnema inodorum</i> (Lour.) Decne.	อาหาร (ใบอ่อน)
8	ARACEAE	บุก	<i>Amorphophallus paeoniifolius</i> (Dennst.) Nicolson.	อาหาร (ลำต้นใต้ดิน)
9		ผือก	<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott	อาหาร (ลำต้นใต้ดิน)
10		บอน	<i>Colocasia esculenta</i> var. <i>aquaticus</i> Hassk.	อาหาร (ก้านใบ)
11	ARECACEAE	มะพร้าว*	<i>Cocos nucifera</i> L.	ผลไม้
12		ค้อ	<i>Livistona speciosa</i> Kurz	อาหาร (ยอดอ่อน)
13	ASPLENIACEAE	ผักกูด	<i>Diplazium esculentum</i> (Retz.) Sw.	อาหาร (ยอดอ่อน)
14	BIGNONIACEAE	เพกา	<i>Oroxylum indicum</i> (L.) Kurz	อาหาร (ฝักอ่อน)
15	CAPPARACEAE	กุ่มน้ำ	<i>Crateva magna</i> (Lour.) DC.	อาหาร (ยอดอ่อน)
16	CARICACEAE	มะละกอ*	<i>Carica papaya</i> L.	ผลไม้
17	CUCURBITACEAE	ตำลึง	<i>Coccinia grandis</i> (L.) Voigt	อาหาร (ยอดอ่อน)
18		แตงไทย*	<i>Cucumis melo</i> L.	ผลไม้
19		ฟักทอง*	<i>Cucurbita moschata</i> Duchesne	อาหาร (ยอดอ่อน/ผล)
20		มะระขี้นก	<i>Momordica charantia</i> L.	อาหาร (ผลอ่อน)
21		ฟักข้าว	<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng.	อาหาร (ยอดอ่อน/ผล)
22	DIOSCOREACEAE	มันสำปะหลัง	<i>Dioscorea alata</i> L.	อาหาร

				(ลำต้นใต้ดิน)
23	EUPHORBIACEAE	มันสำปะหลัง*	<i>Manihot esculenta</i> Crantz	อาหาร
				(รากสะสมอาหาร)
24	FAGACEAE	ก่อหนาม	<i>Castanopsis</i> sp.	ผลไม้
25	FABACEAE	ส้มป่อย	<i>Senegalia rugata</i> (Lam.) Britton & Rose	อาหาร (ยอดอ่อน)
26		ชะอม*	<i>Senegalia pennata</i> (L.) Maslin	อาหาร (ยอดอ่อน)
27		ขี้เหล็ก	<i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S.Irwin & Barneby	อาหาร (ยอดอ่อน)
28		มะขาม*	<i>Tamarindus indica</i> L.	อาหาร (ยอดอ่อน)
29	IRVINGIACEAE	กระบก	<i>Irvingia malayana</i> Oliv. ex A.W.Benn.	ผลไม้
30	LAMIACEAE	โหระพา	<i>Ocimum basilicum</i> L.	เครื่องเทศ (ใบ)
31		กะเพรา	<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	เครื่องเทศ (ใบ)
32	MUSACEAE	กล้วยน้ำว้า	<i>Musa</i> (ABB group) 'Kluai Namwa'	ผลไม้
33		กล้วยป่า	<i>Musa acuminata</i> subsp. <i>siamea</i> N.W.Simmonds	อาหาร (ปลี)
34	OPILIACEAE	ผักหวานป่า	<i>Melientha suavis</i> Pierre	อาหาร (ยอดอ่อน)
35	OXALIDACEAE	มะเฟือง*	<i>Averrhoa carambola</i> L.	ผลไม้
36	PASSIFLORACEAE	ผักอีหนู	<i>Adenia viridiflora</i> Craib	อาหาร (ยอดอ่อน)
37	PHYLLANTHACEAE	มะไฟป่า	<i>Baccaurea ramiflora</i> Lour.	ผลไม้
38	PIPERACEAE	ชะพลู	<i>Piper sarmentosum</i> Roxb.	เครื่องเทศ (ใบ)
39	POACEAE	ตะไคร้*	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	เครื่องเทศ (ต้น)
40		ข้าวโพด*	<i>Zea mays</i> L.	อาหาร (ผล)
41	RUBIACEAE	ยอ	<i>Morinda citrifolia</i> L.	อาหาร (ใบ)
42	RUTACEAE	มะนาว*	<i>Citrus × aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	เครื่องเทศ (ผล)
43		ส้มโอ	<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.	ผลไม้
44	SAPINDACEAE	ลำไย	<i>Dimocarpus longan</i> Lour.	ผลไม้
45	SOLANACEAE	พริกกะเหรี่ยง*	<i>Capsicum frutescens</i> L.	เครื่องเทศ (ผล)
46		มะเขือเทศ	<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> (Alef.)	อาหาร (ผล)
		ราชินี*	Fosberg	
47		มะเขือ	<i>Solanum melongena</i> L.	อาหาร (ผล)
		เจ้าพระยา		
48	ZINGIBERACEAE	ขมิ้นชัน*	<i>Curcuma longa</i> L.	เครื่องเทศ
				(ลำต้นใต้ดิน)
49		ไพล	<i>Zingiber montanum</i> (J.Koenig) Link ex A.Dietr.	เครื่องเทศ
				(ลำต้นใต้ดิน)
50		ขิง*	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	เครื่องเทศ
				(ลำต้นใต้ดิน)



ภาพที่ 2 ตัวอย่างทรัพยากรพืชชนิดต่าง ๆ ที่พบในพื้นที่ศึกษา เช่น ผักโขมหนาม (ก) ผักกูด (ข) ตะไคร้ (ค) น้อยโหน่ง (ง) กระบก (จ) กล้วยไม้ดินบัวสันโดศ (ฉ) และค้อ (ช)

พืชที่นำมาใช้เป็นสมุนไพร 27 ชนิด (ตารางที่ 2) เป็นพืชท้องถิ่นดั้งเดิม 13 ชนิด (ขาไก่ดำ พลับพลึง ต้นตีนเป็ด ใบหนาด มะระขี้นก ผักแมะ กำแพงเจ็ดชั้น ฝรั่ง หามมูย กะเพราแดง นางพญาเสือโคร่ง หัวยาข้าวเย็น และสะพานกิน) พืชต่างถิ่น 14 ชนิด (รางจืด สาบเสือ กล้วยา ยาน้ำนมหาสีห์ มะขาม บอระเพ็ด ฝรั่ง ลูกใต้ใบ กล้วยาเอ็นยัด กล้วยากรดน้ำ มะเขือขื่น ขมิ้น ขิง และไพล) อีกทั้งยังพบการนำพืชบางชนิดมาใช้เพื่อเป็นอาหารและสามารถใช้เป็นสมุนไพรจำนวน 6 ชนิด คือ มะระขี้นก กะเพราแดง มะขาม ขมิ้น ขิง และไพล สำหรับพืชที่นำมาใช้เป็นสมุนไพรส่วนใหญ่มีสรรพคุณในการบำรุงร่างกายมีจำนวน 6 ชนิด (กำแพงเจ็ดชั้น ฝรั่ง บอระเพ็ด กล้วยาเอ็นยัด นางพญาเสือโคร่ง และหัวยาข้าวเย็น) บรรเทาอาการไข้จำนวน 4 ชนิด (ขาไก่ดำ ใบหนาด กะเพราแดง และลูกใต้ใบ) ซึ่งสอดคล้องกับการใช้ประโยชน์จากพืชของชุมชนไทใหญ่ กะเหรี่ยง ลาหู่แดง (มุเซอแดง) และลาหู่ดำ (มุเซอดำ) ในเขตอำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน คือมีรายงานการนำต้นพลับพลึง มะระขี้นก รางจืด สาบเสือ กล้วยา ยาน้ำนมหาสีห์ บอระเพ็ด กล้วยาเอ็นยัด กล้วยากรดน้ำ ขมิ้น และไพล มาใช้เป็นพืชสมุนไพร [18] มีพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในสรรพคุณที่เหมือนกัน เช่น พลับพลึงนำมาใช้เพื่อลดอาการฟกช้ำตามร่างกายหรือบริเวณเคล็ดขัดยอก หรือสาบเสือเพื่อใช้ห้ามเลือดเช่นเดียวกับรายงานของอังคณา อินตา [18] แต่มีการเรียกชื่อและสรรพคุณในการนำไปใช้ที่อาจแตกต่างกัน เช่น กล้วยา ยาน้ำนมหาสีห์ ในชุมชนกะเหรี่ยงหมู่บ้านโล๊ะโคะ เรียกว่าเนาะอะลู ถูกนำไปลดอาการท้องผูกและเป็นยาระบาย ซึ่งจากรายงานของ อังคณา อินตา [18] รายงานว่า กล้วยา ยาน้ำนมหาสีห์ มีชื่อเรียกว่า “บักโก้วเหมะ” มีการนำยามาใส่แผลปากนกกระจอก อีกทั้ง ชูศรี ไตรสนธิ และปริทรรศน์ ไตรสนธิ [17] รายงานการใช้ประโยชน์ของชาวกะเหรี่ยง หมู่บ้านห้วยตอง ตำบลแม่วิน อำเภอแม่เงา จังหวัดเชียงใหม่ มีการใช้ต้นเป็ด หนาด ขมิ้น สาบเสือ และกล้วยา เพื่อใช้เป็นพืชสมุนไพร

ตารางที่ 2 รายชื่อสมุนไพรที่สำรวจพบในบริเวณพื้นที่รอบหมู่บ้านโล๊ะโคะ (เครื่องหมาย * เป็นพืชต่างถิ่น)

ลำดับ	ชื่อวงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพื้นเมือง (ภาษากะเหรี่ยง)	ส่วนที่ใช้	วิธีใช้	สรรพคุณ
1	ACANTHACEAE	<i>Thunbergia laurifolia</i> Lindl.	รางจืด* (จอลอดิเดอหม้อ)	ใบ เถา	ต้ม	ล้างสารพิษในร่างกาย
2		<i>Rhinacanthus nasutus</i> var. <i>nasutus</i>	ขาไก่ดำ (พอทุตะเล)	ใบ	บด	บรรเทาอาการไข้
3	AMARYLLIDACEAE	<i>Crinum asiaticum</i> L.	พลับพลึง	ใบ	จีไฟ	ลดอาการฟกช้ำตามร่างกาย
4	APOCYNACEAE	<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R.Br.	ต้นตีนเป็ด (โนถิ)	ยาง	ตัดใบ	รักษาโรคน้ำกัดเท้า
5	ASTERACEAE	<i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC.	ใบหนาด (พอบัวละ)	ใบ	ต้มเพื่ออาบ จีไฟ	ขับของเสียออกจากร่างกาย ลดไข้ ลดอาการอักเสบของกล้ามเนื้อ

6		<i>Chromolaena odorata</i> (L.) R.M.King & H.Rob.	สาบเสือ* (เนาะลาคะ)	ใบ ราก	บด ต้ม	ห้ามเลือด แก้ปวด
7	CUCURBITACEAE	<i>Momordica charantia</i> L.	มะระขี้นก (คอคคา)	ผล	ต้ม	แก้เบาหวาน
8		<i>Momordica subangulata</i> Blume	ผักแมะ (ดอกเหมือ)	ใบ ผล	ต้ม	บำรุงเลือด
9	CELASTRACEAE	<i>Salacia chinensis</i> L.	กำแพงเจ็ดชั้น (เซะคินยกะบรี)	ลำต้น ใบ ผล	ต้ม	บำรุงร่างกาย
10	EUPHORBIACEAE	<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	หญ้ายาง* (เนาะอะลู่)	ยอดใบ	บด	ลดอาการท้องผูก เป็นยาระบาย
11		<i>Euphorbia hirta</i> L.	น้านมราชสีห์*	ยาง	ตัด	แก้โรคน้ำกัดเท้า
12	FABACEAE	<i>Biancaea sappan</i> (L.) Tod.	ฝาง (เมะขะแกล)	ลำต้น กิ่ง	ต้ม	บำรุงร่างกายและบำรุงเลือด
13		<i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC.	หมามุ่ย (ปล่อยื่อเหมือ)	ราก	ต้ม	บรรเทาอาการปวดศีรษะ
14		<i>Tamarindus indica</i> L.	มะขาม* (เซะหมะเกร)	เปลือกผล มะขาม	บด	อุดฟันแก้ปวด
15	LAMIACEAE	<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	กะเพราแดง (พอนาที่ซู)	ใบ	บด	ลดอาการไข้
16	MENISPERMACEAE	<i>Tinospora cordifolia</i> (Willd.) Hook.f. & Thomson	บอระเพ็ด*	ลำต้น	ต้ม	บำรุงร่างกาย
17	MYRTACEAE	<i>Psidium guajava</i> L.	ฝรั่ง* (สะเวลโล)	ยอดใบ	บด	ลดอาการท้องเสีย
18	PHYLLANTHACEAE	<i>Phyllanthus niruri</i> L.	ลูกใต้ใบ*	ทั้งต้น	ต้ม	บรรเทาอาการไข้ แก้โรคเบาหวาน
19	PLANTAGINACEAE	<i>Plantago major</i> L.	หญ้าเอ็นยืด*	ทุกส่วน	ต้ม	บำรุงร่างกาย
20		<i>Scoparia dulcis</i> L.	หญ้าครดน้ำ* (เนาะกะเซะอะ)	ราก	บด	แก้ปวดฟัน
21	ROSACEAE	<i>Prunus cerasoides</i> Buch.-Ham. ex D.Don	นางพญาเสือโคร่ง	เปลือก	ต้ม	บำรุงร่างกาย
22	SMILACACEAE	<i>Smilax</i> sp.	ห้วยขาแข้ง	ทั้งต้น	ต้ม	บำรุงร่างกาย เจริญอาหาร
23	SOLANACEAE	<i>Solanum capsicoides</i> All.	มะเขือขื่น (ตะก้อฮอ)	ผล	หั่นเป็นชิ้น	นำลึ่งสกรอกออกจากแผลตะปูตำ
24	VIBURNACEAE	<i>Sambucus javanica</i> Reinw. ex Blume	สะพานกัน (เซะก้าจื่อ)	ใบ	จีไฟ	ลดอาการฟกช้ำตามร่างกาย
25	ZINGIBERACEAE	<i>Curcuma longa</i> L.	ขมิ้น* (ตะยอ)	เหง้า ดอก	บด ต้ม	ลดอาการคันตามผิวหนัง แก้ท้องอืด
26		<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	ขิง* (ตะเอ)	เหง้า	ต้ม	แก้ไอ
27		<i>Zingiber montanum</i> (J.Koenig) Link ex A.Dietr.	ไพล* (แปล้โคะ)	เหง้า	บด	ลดอาการแน่นหน้าอก

ชุมชนของชาวกระเหรี่ยงได้นำกล้วยไม้มาใช้ประดับตกแต่งบ้าน ต้นไม้บริเวณหน้าบ้านและต้นไม้ริมถนนภายในชุมชนโดยพบว่าเอื้องจำปา (*Dendrobium moschatum* (Buch.-Ham.) Sw.) เป็นกล้วยไม้ที่นำมาปลูกเลี้ยงไว้ในหมู่บ้านจำนวนมาก และสามารถติดผลได้เป็นจำนวนมาก แสดงถึงความเหมาะสมของพื้นที่ เนื่องจากเอื้องจำปามีระยะการบานของดอกในระยะเวลาสั้น ดอกมีกลิ่นหอมอ่อน ๆ และบานพร้อมกันเพียง

ช่วงระยะเวลาเข้าเป็นจำนวนมากในแต่ละกอ โดยมีรายงานการวิจัยพบสารระเหยง่าย coumarin ปริมาณสูงมากร้อยละ 48.8 (2157.1 µg/g fresh weight) ของตัวอย่างดอกสด รวมถึงสารระเหยง่ายอื่น ๆ อีกจำนวนมาก เช่น ethyl esters และ methyl ketones เป็นสารหลักที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับระหว่างพืชกับแมลงที่เป็นพาหะถ่ายเรณู [19] ดังนั้นการติดฝักของเอื้องจำปาอาจเกิดจากพาหะถ่ายเรณูหรือปัจจัยต่าง ๆ ที่มีความเหมาะสมช่วยส่งเสริมให้เกิดความสำเร็จของการถ่ายกลุ่มเรณูของเอื้องจำปา อาจจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อรวบรวมข้อมูลในพื้นที่ศึกษาต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าในพื้นที่โดยรอบหมู่บ้านสำรวจพบกล้วยไม้ทั้งกล้วยไม้ดิน (9 ชนิด) และกล้วยไม้อิงอาศัย (24 ชนิด) จำนวน 33 ชนิด (ตารางที่ 3) จำแนกได้ 2 วงศ์ย่อย (วงศ์ย่อย Orchidoideae และ Epidendroideae) 21 สกุล ระบุชนิดที่แน่นอนได้ 23 ชนิด และระบุได้เพียงระดับสกุลจำนวน 10 ชนิด เนื่องจากไม่พบดอกในช่วงระยะเวลาของการสำรวจ การสำรวจครั้งนี้ยังพบกล้วยไม้ที่ถูกจัดให้อยู่ในสถานะพืชที่ถูกคุกคาม [20] จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เอื้องคำปอน (*Dendrobium dioxanthum* Rchb.f.) สิงโตก้ามม้า (*Bulbophyllum reclusum* Seidenf.) เอื้องกุหลาบมาลัยแดง (*Aerides multiflora* Roxb.) เอื้องกุหลาบกระเปาะเปิด (*A. falcata* Lindl. & Paxton.) และพราหมณ์ญ (*Holcoglossum amesianum* (Rchb.f.) Christenson)

ตารางที่ 3 รายชื่อกล้วยไม้ที่สำรวจพบในบริเวณพื้นที่รอบหมู่บ้านโล๊ะโคะ (Terrestrial คือ กล้วยไม้ดิน และ Epiphytic คือ กล้วยไม้อิงอาศัย)

ลำดับ	วงศ์ย่อย	เผ่า	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพื้นเมือง	ลักษณะวิสัย
1	Orchidoideae	Orchideae	<i>Brachycorythis</i> sp.	ว่านนางบัวป่อง	Terrestrial
2			<i>Habenaria lucida</i> Wall. ex Lindl.	เอื้องหอมเตย	Terrestrial
3			<i>Peristylus goodyeroides</i> (D.Don) Lindl.	เอื้องนางตาย	Terrestrial
4	Lower Epidendroideae	Arethuseae	<i>Coelogyne trinervis</i> Lindl.	เอื้องหมาก	Epiphytic
5			<i>Coel. schultesii</i> S.K.Jain & S.Das	เอื้องเทียนหนู	Epiphytic
6		Nervilieae	<i>Nervilia plicata</i> (Andrews) Schltr.	แผ่นดินเย็น	Terrestrial
7			<i>Nervilia</i> sp.	บัวสันโดศ	Terrestrial
8		Podochileae	<i>Pinalia bractescens</i> (Lindl.) Kuntze	เอื้องนึ่งดอกเหลือง	Epiphytic
9		Maxillarieae	<i>Oberonia</i> sp.	เอื้องแพน	Epiphytes
10		Tropidieae	<i>Tropidia curculigoides</i> Lindl.	ขาวดง	Terrestrial
11		Dendrobieae	<i>Dendrobium moschatum</i> (Buch.-Ham.) Sw.	เอื้องจำปา	Epiphytic
12			<i>Den. signatum</i> Rchb.f.	เอื้องคำกั่ว	Epiphytic
13			<i>Den. lindleyi</i> Steud.	เอื้องผึ้ง	Epiphytic
14			<i>Den. exile</i> Schltr.	แส้พระอินทร์	Epiphytic
15			<i>Den. dioxanthum</i> Rchb.f.	เอื้องคำปอน	Epiphytic
16			<i>Bulbophyllum reclusum</i> Seidenf.	สิงโตก้ามม้า	Epiphytic
17			<i>Bulb. lasiochilum</i> C.S.P.Parish & Rchb.f.	สิงโตนกกล้าม	Epiphytic
18			<i>Dendrobium</i> sp.	เอื้องขาไก่	Epiphytic
19	Higher Epidendroideae	Eulophiinae	<i>Eulophia andamanensis</i> Rchb.f.	ช้างผสมโคลง	Terrestrial
20			<i>Eulophia</i> sp. 1	ว่านจุนนาง 1	Terrestrial
21			<i>Eulophia</i> sp. 2	ว่านจุนนาง 2	Terrestrial
22		Cymbidieae	<i>Cymbidium</i> sp.	กะเหรี่ยงร้อน	Epiphytic
23		Vandeae	<i>Aerides multiflora</i> Roxb.	เอื้องกุหลาบมาลัยแดง	Epiphytic

24	<i>Aer. falcata</i> Lindl. & Paxton.	เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด	Epiphytic
25	<i>Holcoglossum amesianum</i> (Rchb.f.) Christenson	พราหมณ์ญ	Epiphytic
26	<i>Micropera pallida</i> (Roxb.) Lindl.	แมลงปอทอง	Epiphytic
27	<i>Papilionanthe teres</i> (Roxb.) Schltr.	เอื้องโมก	Epiphytic
28	<i>Phalaenopsis deliciosa</i> Rchb.f.	ตากล่อ	Epiphytic
29	<i>Pomatocalpa maculosum</i> var. <i>andamanicum</i> S. Watthana	เอื้องเสือเผ่นน้อย	Epiphytic
30	<i>Rhynchostylis retusa</i> (L.) Blume	ไอยเรศ	Epiphytic
31	<i>Robiquetia succisa</i> (Lindl.) Seidenf.	เอื้องพวงอุ้งน	Epiphytic
32	<i>Thrixspermum flammeum</i> Toolmal, Schuit. & Culham	เอื้องแมงมุม	Epiphytic
33	<i>Trichoglottis fasciata</i> Rchb.f.	เอื้องเสือโคร่ง	Epiphytic

4. สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการสืบทอดภูมิปัญญาพื้นบ้านเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืช การสำรวจพรรณพืชเบื้องต้นและรวบรวมองค์ความรู้จากผู้มีความรู้ในหมู่บ้านโละโคะเป็นระยะเวลา 10 เดือน พบว่ามีการใช้ทรัพยากรพืชต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นพืชอาหาร พืชที่นำมาใช้เป็นสมุนไพร และมีการนำกล้วยไม้มาปลูกเลี้ยงไว้บริเวณหมู่บ้าน รวมพืชที่สำรวจพบครั้งนี้จำนวน 110 ชนิด ข้อมูลการสำรวจรวบรวมองค์ความรู้ของการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพืชจากผู้มีความรู้ในหมู่บ้านโละโคะ มีประโยชน์เพื่อเป็นการอนุรักษ์ภูมิปัญญาการใช้พืชให้กับคนรุ่นต่อไปได้ศึกษาเรียนรู้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ: ขอขอบคุณชุมชนของชาวกะเหรี่ยง บ้านโละโคะ หมู่ที่ 10 ตำบลโกสัมพ อำเภอกอสัมพินคร จังหวัดกำแพงเพชร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่และข้อมูลของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงนายจุก ศรพฤษชา และนายจรงค์ กาญจนะโชค สำหรับความอนุเคราะห์ในการรวบรวมข้อมูลและช่วยสำรวจพื้นที่โดยรอบของพื้นที่ศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. กรกนา ตั้งจิตมั่น (2560) พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวกะเหรี่ยง หมู่บ้านห้วยน้ำหนัก ตำบลตะนาวศรี อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย 9(2):253-272.
2. สุขุมารณ์ แก้วแสงใส, วิทยา ปองอมรกุล, ประทีป ปัญญาดี, อังคณา อินตา (2560) พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวกะเหรี่ยงในพื้นที่ขยายผลโครงการหลวงบ้านขุนตื้นน้อย อำเภออมก๋อย จังหวัดเชียงใหม่. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย 9(2):219-251.
3. Kantasila, R., Pongamornkul, W., Panyadee, P., Inta, A. (2017) Ethnobotany of medicinal plants used by Karen, Tak province in Thailand. Thai Journal of Botany 9(2):193-216.
4. ก่องกานดา ชยามฤต (2559) คู่มือจำแนกพรรณไม้. กรุงเทพฯ : กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช
5. ไชมอน การ์ดเนอร์, พินดา สิทธิสุนทร, วิไลวรรณ อนุสารสุนทร (2549) ต้นไม้เมืองเหนือ คู่มือศึกษาพรรณไม้ในป่าภาคเหนือ ประเทศไทย. กรุงเทพฯ: โครงการจัดพิมพ์คบไฟ.
6. เต็ม สมิตินันท์ (2557) ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย = Thai plant names. กรุงเทพฯ : สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กรมป่าไม้.
7. Seidenfaden, G. (1975) Orchid genera in Thailand III. *Coelogyne* Lindl. Dansk Botanisk Arkiv 29(4):1-94.
8. Seidenfaden, G. (1977) Orchid Genera in Thailand V. Orchidoideae. Dansk Botanisk Arkiv 31(3):1-149.
9. Seidenfaden, G. (1978) Orchid Genera in Thailand VI. Neottioideae Lindl. Dansk Botanisk Arkiv 32:1-195.
10. Seidenfaden, G. (1978) Orchid genera in Thailand VII. *Oberonia* Lindl. & *Malaxis* Sol. ex. Sw. Dansk Botanisk Arkiv 33(1):1-94.
11. Seidenfaden, G. (1979) Orchid genera in Thailand IIIV *Bulbophyllum* Thou. Dansk Botanisk Arkiv 33(3):1-288.
12. Seidenfaden, G. (1980) Orchid genera in Thailand IX. *Flickingeria* hawkes & *Epigeneium* Gagnep. Dansk Botanisk Arkiv 34(1):1-104.
13. Seidenfaden, G. (1982) Orchid Genera in Thailand X. *Trichotosia* Blume and *Eria* Lindl. Opera Botanica 62:1-157.

14. Seidenfaden, G. (1983) Orchid genera in Thailand XI. Cymbidieae Pfitz. Opera Botanica 72:1-124.
15. Seidenfaden, G. (1985) Orchid Genera in Thailand XII. *Dendrobium* Sw. Opera Botanica 83:1-295.
16. Seidenfaden, G. (1988) Orchid genera in Thailand XIV. Fifty-nine Vandoid genera. Opera Botanica 95:1-398.
17. ชูศรี ไตรสนธิ, ปรีทรรณ ไตรสนธิ (2538) พฤกษศาสตร์พื้นบ้านชาวกะเหรี่ยง: รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. มูลนิธิโครงการหลวง.
18. อังคณา อินตา (2557) การศึกษาเปรียบเทียบพฤกษศาสตร์พื้นบ้านของกลุ่มชาติพันธุ์ในอำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน: รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม.
19. Cuna, F.S.R., Boselli, C., Papetti, A., Mannucci, B., Calevo, J., Tava, A. (2018) Composition of volatile fraction from inflorescences and leaves of *Dendrobium moschatum* (Orchidaceae). Natural Product Communications 13(1):93-96.
20. Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation (2017) Threatened Plants in Thailand. Bangkok: Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation.

ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกของต้นรัก

Antimicrobial activity of bark extracts from *Calotropis gigantea*

นาริลักชน นาก้าว^{1,2*}, ภัทรสุดา เรืองเดช¹, มาลินี ธรรมชาติ¹, ชนาภนต์ ชัยลอม³, สุภาวดี พาหิระ³

Nareeluk Nakaew^{1,2*}, Malinee Thummachat¹, Phattharasuda Ruangdech¹, Chanakarn Chailom³, Supawadee Parhira³

¹ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

¹ Faculty of Medical Science, Naresuan University, Muang District, Phitsanulok Province 65000

² สถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านเห็ดและรา มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

² Center of Excellence in Fungal Research, Naresuan University, Muang District, Phitsanulok Province 65000

³ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

³ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Muang District, Phitsanulok Province 65000

Correspondence: nareelukn@nu.ac.th

บทคัดย่อ: ต้นรัก (*Calotropis gigantea*) มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายด้าน รวมถึงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ดังกล่าวจากส่วนต่างๆ เช่น ใบ ดอก และยาง แต่ยังไม่มียางงานการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์จากส่วนของเปลือกต้นรักซึ่งอาจจะมีความเป็นไปได้สูงที่จะประกอบด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเช่นเดียวกับส่วนอื่นๆ จึงนำมาสู่งานวิจัยนี้ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกของต้นรัก โดยนำเปลือกต้นรักมาสกัดด้วยเอทานอล 95% ได้สารสกัดชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากระจายตัวในน้ำและสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนตามด้วยเอทิลอะซิเตตได้สารสกัดชั้น (CGB-DCM) และ ชั้นเอทิลอะซิเตต (CGM-EtOAc) ตามลำดับชั้นน้ำที่เหลือนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer ได้สารสกัดในชั้นน้ำ (CGB-W) จากนั้นนำสารสกัดในชั้นต่าง ๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี broth dilution เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ (Minimal Lethal Concentration, MLC) และแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบในแต่ละชั้นด้วย Thin layer chromatography (TLC) นำแผ่น TLC มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี bioautography ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบ CGB-EtOH มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่แบคทีเรียแกรมบวก (*Bacillus subtilis* DMST 5040 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) และยีสต์ (*Candida albicans* TISTR 5554) โดยมีค่า MLC เท่ากับ 1500 ug/ml สารสกัด CGB-W, CGB-EtOH และ CGB-DCM สามารถยับยั้ง *C. albicans* TISTR 5554 ได้โดยมีค่า MLC เท่ากับ 1500 ug/ml การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Bioautography พบว่าสารสกัดทุกชั้นไม่ให้อาการยับยั้งเนื่องด้วยมีปริมาณสารที่น้อยเกินกว่าจะยับยั้งเชื้อทดสอบได้

คำสำคัญ: ต้นรัก, เปลือกต้นรัก, สารยับยั้งจุลินทรีย์, จุลินทรีย์ดื้อยา, พืชสมุนไพร

Abstract: *Calotropis gigantea* has a variety of pharmacological activities. The most remarkable activity is its antimicrobial activity, which has not been reported in studies on the bark of *C. gigantea*. This is interesting to study for further development in combating microorganisms that are resistant to current antibiotics. This research aimed to study the antimicrobial activity of extracts from the bark of *C. gigantea*. The bark of *C. gigantea* was extracted with 95% ethanol to obtain a crude extract (CGB-EtOH), which was then dispersed in water and further extracted with dichloromethane (CGB-DCM). The remaining aqueous layer was subsequently extracted with ethyl acetate (CGB-EtOAc), and then dried using a freeze dryer to obtain the aqueous fraction (CGB-W). The extracts from each layer were tested for antimicrobial activity by determining the minimal lethal concentration (MLC). In addition, the antimicrobial activity of the TLC-separated fractions was evaluated using the bioautography method. Among the extracts, the crude ethanol extract (CGB-EtOH) has the effect of inhibiting many types of microorganisms. These included gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis* DMST 5040 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) and yeast (*Candida albicans* TISTR 5554) with an MBC value of 1500 µg/mL. Crude extracts (CGB-W, EtOH, DCM) inhibited *C. albicans*, indicating bioactive compounds across solvent polarities. However, the bioautography results showed that none of the TLC-separated extract fractions exhibited any visible inhibition zones. Because the amount of substance is not enough to inhibit the test organism.

Keywords: *Calotropis gigantea*, bark of *Calotropis gigantea*, antimicrobial, Drug-resistant microorganisms, phytochemical

1. บทนำ

ปัจจุบันจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทั้งในมนุษย์ สัตว์ และพืช มีการพัฒนาและปรับตัวเพื่อสามารถต้านทานต่อสารปฏิชีวนะที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย ส่งผลให้ประสิทธิภาพของการรักษาลดลงและเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขและการเกษตรกรรม [1] จึงนำไปสู่การค้นหาและพัฒนาสารปฏิชีวนะรวมทั้งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่อย่างต่อเนื่อง การพัฒนาดังกล่าวอาจทำได้โดยการสังเคราะห์ทางเคมี (chemical synthesis) และหรือการปรับเปลี่ยนโครงสร้างพื้นฐานของยาด้วยวิธีทางเคมีและหรือชีวเคมี เช่น การใช้วิธีทางเทคโนโลยีเอนไซม์ (enzyme technology) เพื่อให้ยามีกลไกใหม่ในการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค [2] แต่เนื่องจากโครงสร้างพื้นฐานของยาที่ถูกนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการพัฒนานั้นมีลักษณะไม่ต่างจากเดิมทำให้ยาที่ได้นั้นไม่มีความหลากหลายและมีประสิทธิภาพไม่เปลี่ยนไปจากเดิมมากนัก ดังนั้น การค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีโครงสร้างพื้นฐานใหม่จากแหล่งธรรมชาติ เช่น พืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ จึงเป็นทางเลือกที่ได้รับความสนใจอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากสารจากธรรมชาติเหล่านี้ โดยเฉพาะที่ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน มีแนวโน้มที่จะมีโครงสร้างพื้นฐานที่แตกต่างจากสารเดิม หรือมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แปลกใหม่ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ถึงแม้ว่าในปัจจุบัน ยาหลายชนิดที่ใช้ในทางการแพทย์จะมีต้นกำเนิดจากจุลินทรีย์ แต่พืชสมุนไพรก็ยังมีความน่าสนใจในด้านความปลอดภัยในการนำมาพัฒนา อีกทั้งมีรายงานว่า ยาที่ใช้ในปัจจุบันมากกว่า 25% มาจากพืช [3]

ต้นรัก (*Calotropis gigantea* (L.) W. T. Aiton) พืชวงศ์ Apocynaceae เป็นพืชที่มีประวัติการใช้ในทางการแพทย์พืชบ้านในหลายประเทศ เช่น ไทย จีน และอินเดีย [4] ส่วนต่าง ๆ ของพืชชนิดนี้ เช่น ใบ ดอก เปลือกของลำต้น เปลือกของราก น้ำยาง และผล ถูกนำมาใช้เพื่อบำบัดและรักษาโรคและอาการที่หลากหลาย เช่น โรคผิวหนังอักเสบจากระบบประสาท โรคเรื้อน หอบหืด เบาหวาน ข้ออักเสบรูมาตอยด์ ซิฟิลิส และมะเร็ง [5,6] และจากรายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆของ ต้นรักสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus typhii*, และ *Micrococcus luteus* [7,8] สารสกัดจากใบของต้นรักสามารถยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus mutans* และ *Lactobacilli casei* ได้ [9] สารสกัดจากดอกก็สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* ได้ [10] ยางของต้นรักสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุได้ เช่น *Actinomyces viscosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mitis* และ *Streptococcus mutans* [11] จึงนำมาสู่คำถามงานวิจัยที่ว่า ส่วนต่างๆของต้นรักล้วนแต่มีสรรพคุณหรือฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายแต่ในปัจจุบันยังไม่พบรายงานการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกของต้นรัก ซึ่งอาจจะมีความเป็นไปได้สูงที่จะประกอบด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีโครงสร้างพื้นฐานใหม่ จึงนำมาสู่งานวิจัยนี้ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกของต้นรัก เพื่อนำองค์ความรู้ที่ได้ไปต่อยอดในการวิจัยและพัฒนานวัตกรรมทางการแพทย์และอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1. การเตรียมสารสกัดจากเปลือกต้นรัก

2.1.1 การสกัดเปลือกต้นรักด้วย 95% ethanol

นำผงของเปลือกต้นรัก ในสัดส่วน 1 กิโลกรัมผงแห้ง มาสกัดด้วย 95% เอทานอล ประมาณ 10 ลิตร โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัด จากนั้นนำมารองอย่างง่ายด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่ได้จากการกรองมาระเหยแห้งโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ส่วนที่เป็นผงนำไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง สารสกัดที่ระเหยแห้งแล้ว เรียกสารสกัดหยาบ ขึ้นเอทานอล (CGB-EtOH)

2.1.2 Liquid-liquid partition

นำสารสกัดหยาบ CGB-EtOH ของเปลือกต้นรักในสัดส่วนประมาณ 100 กรัม มากระจายตัวในน้ำกลั่น 2 ลิตร นำมาสกัดด้วย ไดคลอโรมีเทน 4 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น แยกชั้นน้ำและชั้นไดคลอโรมีเทนออกจากกัน นำชั้นน้ำไปสกัดต่อโดยใช้ไดคลอโรมีเทนซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารในชั้นไดคลอโรมีเทนจากการสกัดทั้งสามครั้งมารวมกันนำไประเหยแห้งโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดชั้นไดคลอโรมีเทน (CGB-DCM) ต่อมานำชั้นน้ำไปสกัดต่อโดยใช้เอทิลอะซิเตต 4 ลิตรโดยวิธีเหมือนกับไดคลอโรมีเทน นำสารในชั้นเอทิลอะซิเตตมารวมกันนำไประเหยแห้ง เรียกสารที่แห้งแล้วว่าสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตต (CGM-EtOAc) สำหรับชั้นน้ำที่เหลือนำไปแยกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้ว ทำให้ง่ายได้ความดัน โดยใช้เครื่อง freeze dryer เรียกสารที่แห้งแล้วนี้ว่าสารสกัดชั้นน้ำ (CGB-W)

2.2. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ (Minimal Lethal Concentration, MLC)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดในชั้นต่างๆ ของเปลือกต้นรัก ด้วยหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ทำการทดสอบด้วยวิธี broth dilution โดยใช้จุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด 13 สายพันธุ์ ได้แก่ ยีสต์ 4 สายพันธุ์ (*Candida albicans* TISTR 5554, *Candida parapsilosis* TISTR 5126, *Candida tropicalis* TISTR 5136 และ *Candida krusei* TISTR 5351) แบคทีเรียแกรมบวก 5 สายพันธุ์

(*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* DMST 5040, *Enterococcus hirae* ATCC 10541, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Staphylococcus aureus* NU 139) และแบคทีเรียแกรมลบ 4 สายพันธุ์ (*Escherichia coli* TISTR 887, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 1467, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 และ *Acinetobacter baumannii* (AB98))

นำสารสกัดหยาบในทุกชั้น มาเจือจางด้วยอาหารเหลว Mueller-Hinton ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ใน Microtiterplate (96-well plate) เติมเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่เจริญในอาหารเหลวโดยมีความขุ่นเท่ากับ Mcfarland standard No. 0.5 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มีชุดควบคุมคือ อาหารเหลว Mueller-Hinton และอาหารเหลวที่เติมเชื้อแบคทีเรีย บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลายในทุกลุมมาหยดลงบนจานอาหาร Mueller-Hinton agar (MHA) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อตรวจการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหาร โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อถือเป็นค่า MLC

2.3 การแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค Thin-layer chromatography (TLC)

สารสกัดในชั้นต่าง ๆ ละลายในสารละลายอินทรีย์ที่สามารถละลายได้ทั้งหมดให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มา spot ลงในแผ่น TLC plate ขนาด 5 เซนติเมตร x 5 เซนติเมตร แบบ normal phase ประมาณ 5 ไมโครลิตร นำไปแช่ใน TLC tank ที่มี developing solvent ที่เหมาะสม ที่ให้จุดที่แสดงบน TLC plate มีค่า Rf value อยู่ในช่วง 0.3-0.8 ตัวอย่างของ developing solvent สำหรับ normal phase หลังจากนั้นนำไปเป่าให้แห้ง นำไปส่องหาลักษณะและตำแหน่งของจุดที่แยกได้ภายใต้ UV lamp ที่ความยาวคลื่น 254 nm และ 365 nm ถ่ายรูปเพื่อใช้อ้างอิง ทำสัญลักษณ์โดยใช้ดินสอแสดงตำแหน่งของสาร นำ TLC plate ไปพ่นด้วย 10% sulfuric acid in ethanol แล้วให้ความร้อน ที่ 110 องศาเซลเซียส จนลักษณะของแต่ละจุดปรากฏ ถ่ายรูปและทำสัญลักษณ์ของแต่ละจุดไว้เพื่อใช้อ้างอิง

2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารหยาบที่ถูกทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยเทคนิค bioautography

นำแผ่น TLC ที่ได้จากข้อ 2.3 มาวางบนจานอาหารที่ปราศจากเชื้อ เททับด้วยอาหาร MHA ทำการป้ายสารละลายแบคทีเรียที่มีความขุ่นของเชื้อเท่ากับ Mcfarland standard No. 0.5 ที่ผิวหน้าแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สังเกตโซนยับยั้ง (Inhibition zone) โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียเจริญ (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) เปรียบเทียบกับแผ่น TLC ที่ได้ทำสัญลักษณ์ไว้ บันทึกผล สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

3.1 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Lethal Concentration, MLC)

จากการนำสารสกัดหยาบของเปลือกต้นรักในชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) ไปแยกส่วนด้วยของเหลว (Liquid-Liquid Partition) โดยนำสารสกัดไปกระจายตัวในน้ำ แล้วสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (CGB-DCM) ต่อด้วยเอทิลอะซิเตต (CGB-EtOAc) และนำชั้นน้ำที่เหลือนำไปแช่แข็งแล้วทำให้แห้งโดยวิธี freeze dry ได้สารสกัดชั้นน้ำ (CGB-W) นำสารสกัดทั้งหมดมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum Lethal concentration; MLC) ผลพบว่าสารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในชั้นตัวทำละลายอื่น โดยสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ 3 สายพันธุ์ ได้แก่แบคทีเรียแกรมบวก 2 สายพันธุ์ (*B. subtilis* DMST 5040 และ *S. aureus* ATCC 6538) และยีสต์ 1 สายพันธุ์ (*C. albicans* TISTR 5554) โดยมีค่า MLC เท่ากับ 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า *C. albicans* TISTR 5554 ถูกยับยั้งด้วย สารสกัดจากเปลือกต้นรักในชั้นน้ำ (CGB-W) ชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) และชั้นไดคลอโรมีเทน (CGB-DCM) โดยมีค่า MLC เท่ากับ 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตาราง 1)

ตาราง 1 ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Lethal Concentration; MLC) ของสารสกัดจากเปลือกต้นรัก

จุลินทรีย์ทดสอบ	MLC (ug/ml)			
	CGB-EtOH	CGB-W	CGB-EtOAc	CGB-DCM
<i>Bacillus subtilis</i> DMST 5040	1500	>1500	1500	>1500
<i>Candida albicans</i> TISTR 5554	1500	1500	>1500	1500
<i>Escherichia coli</i> TISTR 887	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1500	1500	>1500	>1500
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> TISTR 1467	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 1466	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Staphylococcus aureus</i> NU 139	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Candida parapsilosis</i> TISTR 5126	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Candida tropicalis</i> TISTR 5136	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Candida krusei</i> TISTR 5351	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	>1500	>1500	>1500	>1500
<i>Acinetobacter baumannii</i> (AB98)	>1500	>1500	>1500	>1500

จากการที่สารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ผลลัพธ์ดังกล่าวบ่งชี้ว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่สามารถดึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากเปลือกต้นรักได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าไดคลอโรมีเทนและเอทิลอะซิเตต ซึ่งเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายได้ทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้วบางส่วน โดยเฉพาะกลุ่มสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ หรือสารแทนนิน ที่มีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยมีกลไกต่างๆ เช่น การยับยั้งเอนไซม์ การทำลายผนังเซลล์ หรือการรบกวนการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์ [12,13] นอกจากนี้การที่สารในชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) มีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียและยีสต์ แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของสารออกฤทธิ์ภายในสารสกัดดังกล่าว ซึ่งมีนัยสำคัญต่อการพัฒนาเป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตภัณฑ์ยาหรือเครื่องสำอางด้านจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในยุคที่เชื้อดื้อยากำลังเป็นปัญหาระดับโลก

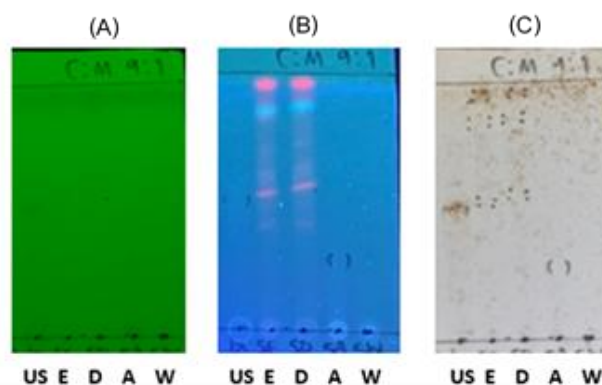
การที่สารสกัดในชั้นอื่นๆ เช่น CGB-DCM, CGB-EtOAc และ CGB-W มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้น้อยชนิดกว่า อาจเนื่องมาจากชนิดของสารที่ละลายได้ในตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน โดยสารออกฤทธิ์หลักอาจอยู่ในกลุ่มที่มีขั้วบางส่วนซึ่งเอทานอลสามารถสกัดออกมาได้ดีที่สุด ดังนั้นผลการทดลองนี้ไม่เพียงแต่ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของเปลือกต้นรักในการเป็นแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์เท่านั้น แต่ยังแสดงให้เห็นว่ากระบวนการแยกสารสกัดตามขั้วสามารถช่วยในการระบุแหล่งที่มีองค์ประกอบของสารสำคัญ และนำไปสู่การศึกษาต่อเชิงลึกเพื่อแยกบริสุทธิ์สารออกฤทธิ์

ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ในส่วนของใบ ดอก และยางของต้นรักที่พบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม การที่เปลือกต้นรักยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาในด้านนี้มาก่อน ผลการวิจัยในครั้งนี้จึงสามารถเสนอเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของเปลือกต้นรักในฐานะแหล่งของสารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และควรได้รับการศึกษาต่อเนื่อง ทั้งในด้านการประกอบทางเคมี กลไกการออกฤทธิ์ และความปลอดภัยในการใช้

สารสกัดจากเปลือกต้นรักในชั้นน้ำ (CGB-W) ชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) และ ไดคลอโรมีเทน (CGB-DCM) สามารถยับยั้ง *C. albicans* TISTR 5554 ได้ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเปลือกของต้นรักอาจมีองค์ประกอบของสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้าน *C. albicans* อยู่ในหลายช่วงขั้วของตัวทำละลาย *C. albicans* เป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในมนุษย์ และมักมีความต้านทานต่อยาในกลุ่ม azole ซึ่งใช้กับเชื้อกลุ่มนี้มากที่สุดในการรักษาการติดเชื้อแคนดิดา [14] จึงทำให้ผลการทดลองนี้มีนัยสำคัญ เนื่องจากแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านอย่างต้นรักในการพัฒนาเป็นสารต้านยีสต์ชนิดใหม่ กลไกที่เป็นไปได้ในการออกฤทธิ์ของสารสกัดอาจเกี่ยวข้องกับสารฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ หรือแทนนิน ซึ่งมีรายงานว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ได้ในระดับเซลล์โดยยับยั้งการสังเคราะห์เยื่อหุ้มเซลล์ และการสร้างไบโอฟิล์ม [15] ผลการศึกษานี้สามารถนำไปต่อยอดในการวิเคราะห์สารสำคัญเฉพาะกลุ่มที่อยู่ในแต่ละชั้นของตัวทำละลาย และประเมินศักยภาพเชิงพาณิชย์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์รักษาโรคผิวหนังหรือเชื้อราในช่องปาก ที่มีสาเหตุมาจาก *C. albicans* ได้อีกในอนาคต

3.2 การแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค Thin-layer chromatography (TLC)

สารสกัดเปลือกต้นรักทั้ง 4 ชั้นถูกนำมาทำ TLC โดยใช้ TLC Silica gel 60 F254 aluminum plate (Merck, Germany) เป็น stationary phase และ chloroform: methanol เป็น mobile phase ในอัตราส่วน 9:1 ได้ลักษณะของ TLC fingerprint ดังภาพ 1



ภาพ 1 TLC fingerprint ของสารสกัดจากเปลือกต้นรัก เมื่อสังเกตภายใต้แสง UV 254 nm , 365 nm (B) และ สเปรย์ 10% sulfuric acid solution in ethanol แล้วให้ความร้อน 110 °C (C) เมื่อ US = uscharin standard, E= CGB-EtOH, D = CGB-DCM, A = CGB-EtOAc และ W = CGB-W

การใช้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ chloroform: methanol ในอัตราส่วน 9:1 ถือเป็นระบบที่มีความขั้วปานกลางถึงต่ำ เนื่องจาก chloroform มีขั้วน้อย ขณะที่ methanol มีขั้วสูง อัตราส่วนดังกล่าวเอื้อให้สามารถแยกสารที่มีความขั้วปานกลางได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการทดลองที่พบว่า สารสกัดสามารถกระจายตัวได้ดีบนแผ่นซิลิกาเจล (ซึ่งเป็นเฟสอยู่กับที่ที่มีขั้ว) สะท้อนว่าสารประกอบภายในมีความขั้วหลากหลาย แต่ไม่จัดอยู่ในกลุ่มที่มีขั้วสูงมาก ตัวอย่างเช่น ฟลาโวนอยด์บางชนิด สารฟีนอลิก หรือแทนนินที่มีคุณสมบัติละลายในไขมัน ซึ่งสามารถเคลื่อนที่ได้ดีในระบบตัวทำละลายนี้ [16]

3.3 การแยกองค์ประกอบของสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค Thin-layer chromatography (TLC)

ผลจากการนำสารสกัดในแต่ละส่วน (CGB-EtOH, CGB-DCM, CGB-EtOAc และ CGB-W) มาแยกองค์ประกอบด้วย Thin layer chromatography (TLC) และนำแผ่น TLC ที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี bioautography พบว่าสารสกัดทุกชั้นไม่ให้โซนยับยั้ง อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารในแต่ละ spot ที่ถูกแยกออกมา มีปริมาณไม่มากพอที่จะยับยั้งจุลินทรีย์ได้

4. สรุปผลการทดลอง

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์โดยหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดจากเปลือกต้นรักในชั้นน้ำ (CGB-W) ชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) และ ไดคลอโรมีเทน (CGB-DCM) สามารถยับยั้ง *C. albicans* TISTR 5554 ได้ นอกจากนี้สารสกัดหยาบในชั้นเอทานอล (CGB-EtOH) ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* DMST 5040 และ *S. aureus* ATCC 6538) ได้อีกด้วย โดยมีค่า MBC เท่ากับ 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดที่ผ่านการแยกองค์ประกอบของสารด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) ด้วยวิธี Bioautography พบว่าสารสกัดทุกชั้นไม่ให้โซนยับยั้ง อาจเนื่องจากสารมีความเข้มข้นน้อยเกินไป

กิตติกรรมประกาศ: งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชาวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี (266494) ของนิสิตสาขาจุลชีววิทยา ในปีการศึกษา 2565 และได้รับงบประมาณสนับสนุนงานวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ ปีงบประมาณ 2566 (รหัสสัญญา R2566B052)

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad I, Malak HA, Abulreesh HH (2021) Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. J. Glob. Antimicrob. Resist. 27:101–111.
- Hughes JP, Rees S, Kalindjian SB, Philpott KL (2011) Principles of early drug discovery. Br. J. Pharmacol. 162:1239–1249. doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01127.x
- Newman DJ, Cragg GM, Snader KM (2000) The influence of natural products upon drug discovery. Nature Product Reports 17(3):215-234.

4. Snehal L, Priya SR, Dattaprasad NV (2021) *Calotropis gigantea*- A Review. Research Journal of Science and Technology. 2021; 13(4):261-4. doi: 10.52711/2349-2988.2021.00041
5. Kumar G, Karthik L, Bhaskara Rao KV (2011) Antibacterial activity of aqueous extract of *Calotropis gigantea* leaves – an in vitro study. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 4(2): 141-144
6. Chitme HR, Chandra R, Kaushik S (2004) Studies on anti-diarrhoeal activity of *Calotropis gigantea* r. br. in experimental animals. J PharmPharmaceut Sci. 7(1):70-75.
7. Rani R, Sharma D, Chaturvedi M, Yadav JP (2019) Phytochemical Analysis, Antibacterial and Antioxidant Activity of *Calotropis procera* and *Calotropis gigantea*. The Natural Products Journal 9(1):47–60.
8. Seniya C, Trivedia SS, Verma SK (2011) Antibacterial efficacy and phytochemical analysis of organic solvent extracts of *Calotropis gigantea*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 3(6):330-336.
9. Sharma M, Tandon S, Aggarwal V, Bhat KG, Kappadi D, Chandrashekhar P, Dorwal R (2015) Evaluation of antibacterial activity of *Calotropis gigantea* against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An in vitro comparative study. Journal of Conservative Dentistry 18(6):457-460.
10. Patil, SM (2012) Antimicrobial activity of flower extracts of *Calotropis gigantea*. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research 1(1):142-145.
11. Kalpesh B, Ishnavajenabhai B, Chauhan A, GargArpit A, Thakkar M (2012) Antibacterial and phytochemical studies on *Calotropis gigantea* (L.) R. Br. Latex against selected cariogenic bacteria. Saudi Journal of Biological Sciences 19(1):87-91.
12. Kumar S, Malhotra R, Kumar D (2013) Pharmacological review on natural anti-diarrhoea agents. Der Pharmacia Lettre 5(2):158-165.
13. Julius OO, Oluwasusi VO, Ibiyemi M.F, Oluwatobi FB (2021) Antibacterial activities and phytochemical screening of crude extracts of *Calotropis gigantea* (Giant Milk Weed). South Asian Journal of Research in Microbiology, 9(3):24–31. <https://doi.org/10.9734/sajrm/2021/v9i330218>
14. Gao J, Wang H, Li Z, Wong AHH, Wang YZ, Guo y, Lin x Zeng G, Liu H, wang Y, Wang J (2018) *Candida albicans* gains azole resistance by altering sphingolipid composition. Nat Commun 9:4495.
15. Ivanov M, Kannan A, Stojković DS, Glamočlija J, Cathelha RC, Ferreira ICFR, Sanglard D, Soković M (2021) “Flavones, Flavonols, and Glycosylated Derivatives -Impact on *Candida albicans* Growth and Virulence, Expression of CDR1 and ERG11, Cytotoxicity,” Pharmaceuticals. 14(1):1–12, doi: 10.3390/PH14010027
16. Sajewicz M, Kowalska T, Sherma J. (2017) Sample preparation for thin layer chromatography. Adv Chromatogr 53:301–329.

ผลของสารเร่งเชิงชีวภาพจากไคตินหมักต่อการเติบโตของกล้าข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Fermented Chitin Biostimulant on Growth of ‘Benjanil3’ Rice Seedlings under Sterile Condition

สรวิชัย วงศ์วรชาติ¹, ธิตี สุทธิยุทธ์¹, ศุภจิตรา ชัชวาลย์^{1,*}

Sorawit Wongworachart¹, Thiti Suttiyut¹, Supachitra Chadchawan^{1,*}

¹ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร, 10330

Center of Excellence in Environment and Plant Physiology, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

*Correspondence: s_chadchawan@hotmail.com; Supachitra.ca@chula.ac.th

บทคัดย่อ: ไคตินหมัก (FC) ที่ได้สังเคราะห์และทดลองในแปลงทดลองที่ผ่านมาเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตในข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล 3’ และพบว่า FC เป็นสารเร่งเชิงชีวภาพและส่งผลต่อประชากรของจุลินทรีย์ในดินนำไปสู่การส่งเสริมการเจริญและผลผลิต ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงดำเนินการทดลองภายในสภาพปลอดเชื้อเพื่อศึกษาผลที่มาจากไคตินหมักเพียงอย่างเดียวโดยปราศจากจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ โดยใช้ต้นกล้าข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ที่อายุ 7 วันทดสอบเพื่อประเมินผลการให้ไคตินหมักที่ 200 และ 400 ppm พบว่าการให้ไคตินหมักที่ 400 ppm เป็นเวลาอย่างน้อย 14 วัน สามารถเพิ่มชีวมวลของต้นได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ 21 วันหลังให้ไคตินหมักที่ 400 ppm สามารถส่งเสริมการเติบโตของรากได้อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับสารสี พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* ของกล้าข้าวเพิ่มขึ้นเฉพาะในชุดการทดลองที่ได้รับไคตินหมัก 400 ppm เป็นเวลา 21 วัน ขณะที่การให้ไคตินหมักทั้ง 200 และ 400 ppm สามารถเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ *b* ให้มากขึ้น ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นหลังจากการให้ไคตินหมัก 200 และ 400 ppm เป็นเวลา 14 วัน อย่างไรก็ตาม ที่ระยะเวลา 21 วันหลังการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในทุกชุดการทดลองมีค่าคล้ายคลึงกัน จากข้อมูลดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าไคตินหมักเพียงอย่างเดียวสามารถส่งเสริมการเติบโตของต้นกล้าข้าวได้โดยไม่มีผลเกี่ยวข้องกับผลของประชากรแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์

คำสำคัญ: ไคตินหมัก, ข้าว, การศึกษาในหลอดทดลอง, ชีวมวล, การเจริญเติบโต, การเจริญของราก, สารสีที่ใช้สังเคราะห์แสง

Abstract: Fermented chitin (FC) was synthesized and previously tested in the field to enhance ‘Benjanil 3’ growth and yield. It was found that FC act as bio-stimulant affecting microbial population in soil leading to growth and yield enhancement. This experiment was performed *in vitro* in sterile condition to see the effects of FC alone, without the beneficial microbes’ effects. Seven-day old ‘Benjanil3’ seedlings were used to evaluate the effects of FC at 200 and 400 ppm on plant growth and photosynthetic pigment contents. The results showed that the addition of 400 ppm FC for at least 14 days could enhance shoot biomass significantly, while after 21 days, FC at 400 ppm significantly enhanced root growth. Chlorophyll *a* content was increased by 400 ppm of FC after 21 days of treatment, while both 200 ppm and 400 ppm FC enhanced chlorophyll *b* content. Total carotenoid content was increased by 200 and 400 ppm FC after 14 day of the treatment. However, at 21 days, total carotenoid contents in all experimental set-up were similar. This data demonstrated that FC alone could enhance rice seedling growth without the effects on beneficial bacteria populations.

Keywords: *In vitro* study, Biomass, Root growth, Photosynthetic pigments

1. บทนำ

ไคติน (Chitin) เป็นพอลิเมอร์สายยาวของมอนอเมอร์เอ็น-แอซิติล กลูโคซามีน (*N*-acetylglucosamine) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ในรูปแบบเอไมด์ของกลูโคสที่ต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์แบบเบตา-1,4 [68] เป็นองค์ประกอบที่พบได้ทั่วไปในโครงสร้างเปลือกแข็งภายนอกของสัตว์จำพวกแมลง ครัสเตเชียน [69] และผนังเซลล์ของสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรฟังไจ [70] โดยพอลิเมอร์ของไคตินเมื่อถูกกำจัดหมู่แอซิติลจะเกิดเป็นพอลิเมอร์ของไคโทซานซึ่งการย่อยของจุลินทรีย์ในดินบางชนิดที่มีเอนไซม์ deacetylase สามารถทำให้เกิดไคโทซานได้ [71] ทั้งไคติน และไคโทซานมีบทบาทในการเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ไคตินจึงได้ถูกนำมาปรับใช้เป็นส่วนหนึ่งของปุ๋ยอินทรีย์ โดยไคตินมีคุณสมบัติเป็นอีลิซิเตอร์ (Elicitor) กระตุ้นให้พืชแข็งแรงขึ้นในแง่การป้องกันตัวเองจากความเครียดทางชีวภาพ [72,73] ช่วยปรับสภาพดินเพื่อยกระดับผลผลิตทางเกษตร ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์และส่งเสริมการฟื้นตัวจากภาวะเครียดได้ดีขึ้น [74] มีงานวิจัยที่สนับสนุนที่ใช้ไคตินสายสั้น ในการเพาะเลี้ยงต้นอะราบิโดปซิส

(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) ในหลอดทดลอง สามารถเพิ่มความยาวราก ความสูงต้นและน้ำหนักสด รวมทั้งไคตินสังผลในทิศทางเดียวกันกับต้นพ็อปลาร์ (*Populus* spp.) [75] นอกจากนี้ การใช้ไคตินและไคโทซานยังมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจอื่น ๆ เช่น พริกขี้หนู (*Capsicum annuum* L.) หัวหอม (*Allium cepa* L.) ผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) และข้าวโพด (*Zea mays* L.) เป็นต้น [76-79]

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตหลักสำหรับประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในทวีปเอเชียและ 90% ของผลผลิตของข้าวทั้งหมดทั่วโลกมาจากประเทศในแถบเอเชีย โดยข้าวแตกต่างกันไปตามลักษณะของความยาวของเมล็ด สี รสสัมผัส กลิ่น ขึ้นอยู่กับแต่ละพันธุ์ สภาพแวดล้อมการเจริญเติบโต รวมถึงวิธีการผลิตสามารถส่งผลกระทบต่อคุณภาพและสารอาหารในเมล็ดของข้าวเช่นกัน [80] ในปีพุทธศักราช 2565 ประเทศไทยผลิตข้าวได้ทั้งหมด 34 ล้านตัน [81,82] ถือได้ว่าเป็นแหล่งผลิตรายใหญ่แห่งหนึ่งของโลก แต่ข้าวไทยบางพันธุ์ยังคงมีปัญหาปริมาณผลผลิตต่อไร่ ข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ เป็นพันธุ์ข้าวที่พัฒนาโดยบริษัท เจริญโภคภัณฑ์ โปรดัคส์ จำกัด เป็นข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง มีปริมาณโปรตีนและสารต้านอนุมูลอิสระสูง มีปริมาณแอมิโลสต่ำจึงมีศักยภาพสำหรับการบริโภค แต่ให้ผลผลิตเฉลี่ยเพียงแค่ 696 กิโลกรัมต่อไร่ [83] ซึ่งการทดลองในข้าวที่ผ่านมาพบว่าการแช่เมล็ดข้าวพันธุ์เหลืองประทิว 123 ในสารละลายไคโทซานก่อนเพาะเมล็ด รวมถึงฉีดพ่นทางใบลงบนต้นกล้าด้วยสารละลายไคโทซาน กระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตทางรากและใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง รวมทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* คลอโรฟิลล์ *b* และแคโรทีนอยด์ในใบเพิ่มขึ้น [84] การใช้สารเร่งเชิงชีวภาพที่มีส่วนประกอบของไคตินหมักในระดับเรือนทดลอง มีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโต และเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าวพันธุ์ ‘ทับทิมชุมแพ’ (กข69) และพันธุ์ ‘หอมกุหลาบแดง’ อย่างมีนัยสำคัญ [85] และจากการศึกษาในระดับแปลงทดลอง พบว่าไคตินหมักสามารถส่งเสริมการเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ได้ [19] แต่ทั้งนี้ไม่สามารถระบุได้ว่าการส่งเสริมการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นนี้เป็นผลโดยตรงของไคตินหมัก หรือ เป็นผลโดยอ้อมที่ไคตินหมักไปมีผลต่อจุลินทรีย์ในดินที่เป็นประโยชน์ (Beneficial microbes) แล้วส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช หรือเป็นผลร่วมกันจากทั้งสองปัจจัย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษา ผลของไคตินหมักที่มีต่อการเติบโตของข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ในภาวะปลอดเชื้อ เพื่อตอบสมมติฐานว่าไคตินหมักนี้มีผลต่อการเติบโตของข้าวพันธุ์นี้โดยตรงหรือไม่

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 การออกแบบการทดลอง

ออกแบบการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) จำนวนอย่างน้อย 4 ซ้ำ เพื่อเปรียบเทียบผลของไคตินหมัก (FC) ที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวในระยะต้นกล้าในภาวะปลอดเชื้อ โดยชุดการทดลองประกอบด้วย

- (1) ชุดควบคุม (Control) คือ อาหารรุ้นสูตร Yoshida [87]
- (2) ชุดการทดลองที่มี FC ปริมาณ 200 ppm เติมนลงในอาหารรุ้นสูตร Yoshida
- (3) ชุดการทดลองที่มี FC ปริมาณ 400 ppm เติมนลงในอาหารรุ้นสูตร Yoshida

2.2 การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเมล็ด

การเตรียมอาหารรุ้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเมล็ดจะใช้ขั้นตอนตาม Yoshida และคณะ [87] เติมน้ำตาลที่ความเข้มข้น 1% และเติมวุ้น (Agar) ที่ความเข้มข้น 0.8% เติมน FC ให้ได้ความเข้มข้นที่กำหนด แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที ปั่นย่อยให้อาหารอาหารรุ้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเย็นและแข็งตัว แล้วนำไปใช้เพาะเลี้ยงเมล็ดต่อไป

2.3 การฟอกการฟอกฆ่าเชื้อบนเนื้อเยื่อพื้นผิวของตัวอย่างเมล็ด

ล้างตัวอย่างเมล็ดด้วยน้ำประปาแบบไหลผ่านแล้วนำไปฟอกในขวดแก้วที่บรรจุสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70 % (v/v) เป็นเวลา 1 นาที แล้วฟอกในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Haiter®, Kao, Thailand) เข้มข้น 6% (v/v) พร้อมกับเติมสารจับใบ (Tween-20) ที่ความเข้มข้น 0.1% (v/v) เป็นเวลา 5 นาที แล้วฟอกอีกครั้งในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 6% (v/v) พร้อมเขย่าโดยใช้ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที แล้วล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเป็นเวลา 3 นาที จำนวน 5 ครั้ง เทน้ำกลั่นที่ใช้ล้างทำความสะอาดในน้ำสุดท้ายออก แล้วนำตัวอย่างเมล็ดเพาะลงในอาหารที่เตรียมไว้

2.4 การเพาะเมล็ด

วางเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ววางลงบนอาหารสูตร Yoshida จำนวน 10 เมล็ดต่อขวด นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วย้ายกล้าข้าวลงในอาหารทดลองทั้ง 3 สูตรตามแผนการทดลองที่กำหนด ขวดละ 1 ต้น

2.5 การวัดการเจริญเติบโตของรากและลำต้น

วัดการเจริญเติบโตของกล้าข้าวในชุดการทดลองต่างๆ ทุก 7 วัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ดังนี้

(1) ความสูงของต้นและความยาวของราก วัดด้วยไม้บรรทัดโดยวัดความสูงของลำต้นของกอหลักจากฐานกอถึงปลายใบที่ยาวที่สุดและวัดความยาวของรากจะวัดจากฐานกอถึงปลายรากที่มีความยาวมากที่สุด

(2) น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและราก โดยทำการแยกส่วนต้นและราก นำมาชั่งน้ำหนักสดด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง แล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลาอย่างน้อย 48 ชั่วโมง จนน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วนำมาชั่งน้ำหนักแห้งด้วยเครื่องชั่งอีกครั้ง

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารสีในใบ

ปริมาณสารสีในใบในชุดการทดลองต่าง ๆ ทุก 7 วัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ วิเคราะห์ปริมาณสารสีในใบ ได้แก่ คลอโรฟิลล์ *a* คลอโรฟิลล์ *b* คลอโรฟิลล์ทั้งหมดและแคโรทีนอยด์ทั้งหมด จากใบอ่อนที่สุกเต็มที่ (first fully expanded leaf) ตามวิธีการของ Arnon [88]

2.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics version 29.1.1 (IBM; USA) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ $p < 0.05$

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

3.1. ผลของ FC ต่อการเจริญเติบโตของรากและลำต้นในสภาพปลอดเชื้อ

หลังการได้รับ FC ทั้งสองความเข้มข้น (200 ppm และ 400 ppm) เป็นเวลา 14 วัน ทำให้กล้าข้าวมีการเติบโตทางต้นสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับ FC ที่ความเข้มข้น 400 ppm ซึ่งมีค่าน้ำหนักสดของต้น (ภาพ 1A) และน้ำหนักแห้งของต้น (ภาพ 1B) สูงที่สุด (291.6 และ 78.7 มิลลิกรัมตามลำดับ) แต่ไม่แตกต่างกับกล้าข้าวที่ได้รับ FC ที่ความเข้มข้น 200 ppm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม หลังการเลี้ยงในอาหารที่มีการเติม FC เป็นเวลา 21 วัน น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งส่วนต้นของทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพ 1A และ 1B)

สำหรับการตอบสนองของรากต่อการได้รับ FC ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่ากล้าข้าวที่ได้รับ FC มีน้ำหนักสดรากต่ำกว่าในชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพ 1C) แต่น้ำหนักแห้งรากทั้งสามชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน (ภาพ 1D) แต่เมื่อเวลาผ่านไป ในชุดการทดลองที่มีการให้ FC ทั้งที่ระดับ 200 ppm และ 400 ppm มีผลทำให้ทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรากมีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าการทดลองในชุดควบคุม และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่เวลา 21 วัน พบว่า กล้าข้าวที่ได้รับ FC ที่ความเข้มข้น 400 ppm มีน้ำหนักแห้งสูงกว่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากข้าวของชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพ 1C และ 1D)

ความยาวของรากนั้นเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา ในกลุ่มที่ได้รับ FC ทั้งสองปริมาณมีความเข้มข้นมีความยาวรากมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) หลังจากได้รับ FC เป็นระยะเวลาที่ 21 วัน (ภาพ 1E) ในขณะที่ความสูงต้น (ภาพ 1F) ในวันที่ 7 หลังจากได้รับ FC ความสูงของต้นในกลุ่มที่ได้รับ FC 400 ppm มีค่าความสูงมากกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (12.3 เซนติเมตร) แต่หลังจากวันที่ 7 เป็นต้นไป ความสูงของต้นที่ได้รับ FC 400 ppm เริ่มคงที่ ในขณะที่ชุดการทดลองอื่น ๆ มีความสูงต้นเพิ่มขึ้น เป็นผลให้ความสูงต้น ในช่วงเวลา 14 – 21 วันของทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพ 1F) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการจำกัดความสูงของขวดที่ใช้ในการทดลอง ทำให้ไม่สามารถขยายความสูงขึ้นไปได้อีกขึ้น

จากผลที่กล่าวมาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li และคณะ [89] ที่มีการใช้ทั้งไคตินและไคโทซานในปริมาณ 15 mg/L ในการเลี้ยงกล้าข้าวสาธิตด้วยสารละลายสูตร Hoagland สามารถที่เพิ่มน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น รวมทั้งความยาวของรากและความสูงของลำต้นได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม งานวิจัยของ Qu และคณะ [90] แสดงให้เห็นว่าการใช้ไคโทซานปริมาณ 100 mg/L ลงในสารละลายสูตร Hoagland ในการเลี้ยงกล้าของข้าวโพด (*Zea mays* L.) สามารถเพิ่มน้ำหนักสดต้นและราก และความยาวของรากได้อย่างมีนัยสำคัญ งานวิจัยของ Endo และคณะ [91] กล่าวว่า การให้ไคตินนาโนไฟเบอร์ที่ความเข้มข้น 0.01%(w/v) และ 0.05%(w/v) ในผักกวางตุ้ง (*Brassica rapa* var.

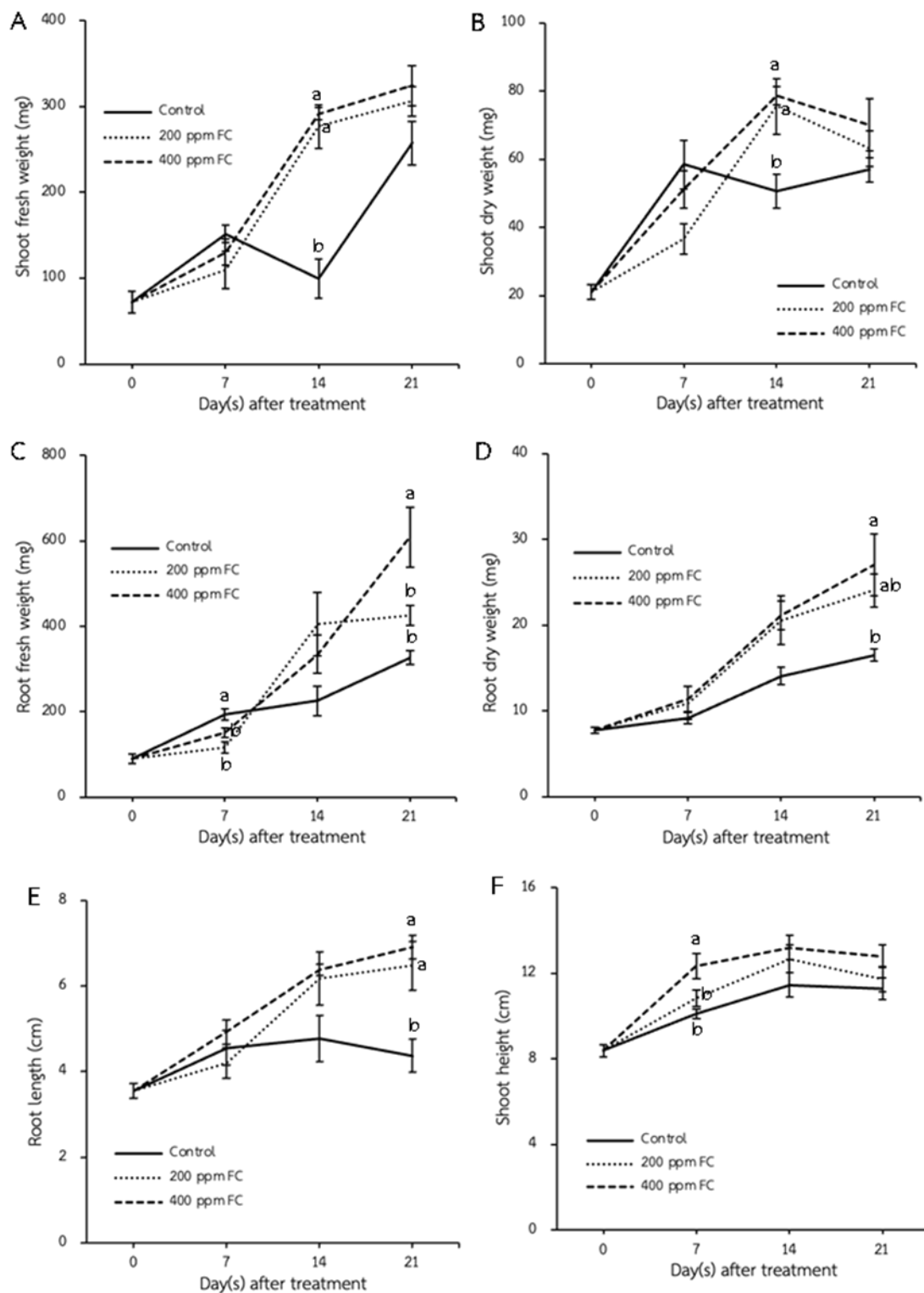
perviridis) สามารถเพิ่มความยาวของราก ความสูงและน้ำหนักแห้งของต้นได้ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคตินนาโนไฟเบอร์ มีรายงานว่า สารเร่งเชิงชีวภาพที่มีส่วนประกอบของไคติน / ไคโทซานมีบทบาทในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การขยายตัวของเซลล์พืชและช่วยส่งเสริมการ พัฒนาและขยายตัวของระบบราก [92,93] ทำให้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมธาตุอาหารให้กับพืช [94,95] และส่งเสริมกระบวนการสังเคราะห์ ด้วยแสงและสะสมสารชีวมวลในต้นของพืช [96] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่มีการให้ FC ซึ่งมีส่วนประกอบของไคติน

3.2. ผลของ FC ต่อปริมาณสารสีในใบ

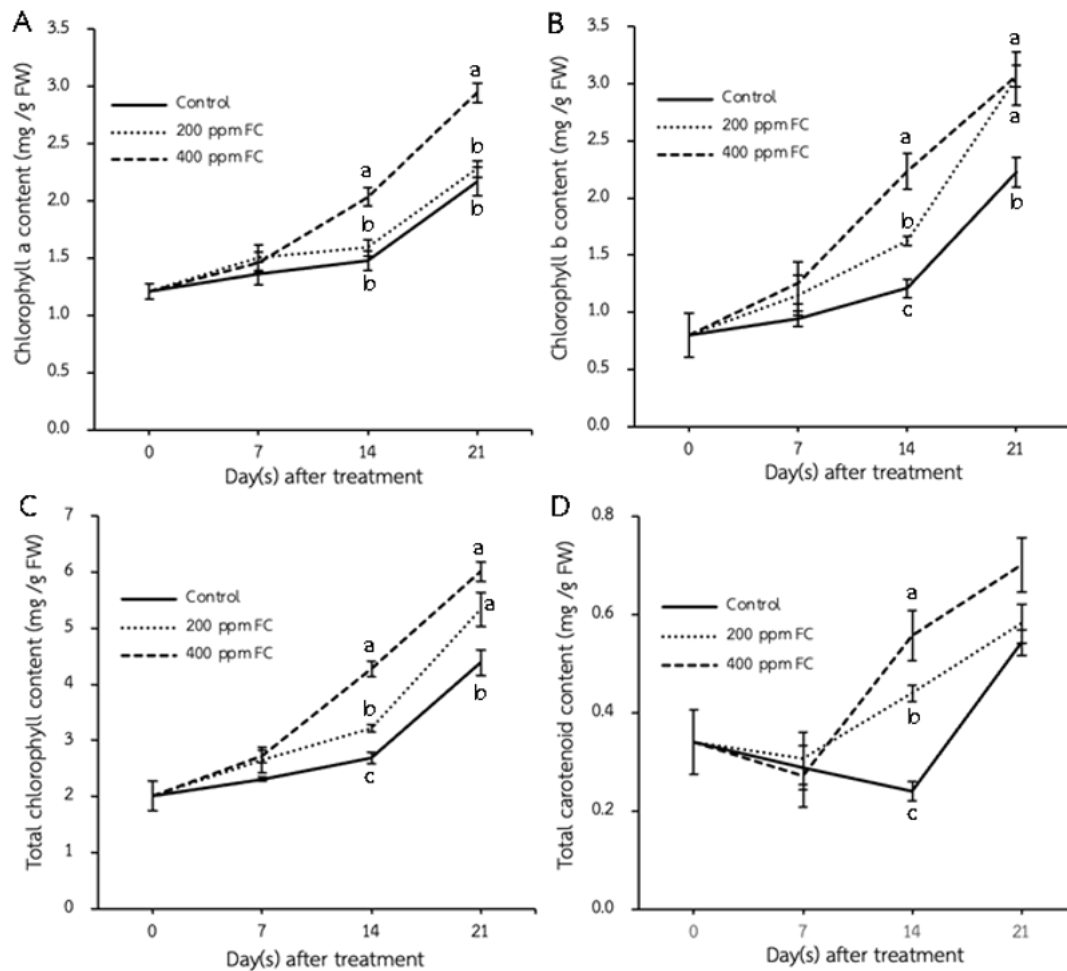
จากผลการทดลองของ FC ต่อปริมาณสารสีในใบ แสดงให้เห็นว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกกลุ่มตามระยะเวลา การทดลอง (ภาพ 2A) โดยเฉพาะในวันที่ 14 และ 21 หลังการให้ FC พบว่ากลุ่มที่ได้รับ FC ที่ปริมาณ 400 ppm มีค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* สูง กว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ *b* คล้ายคลึงกับปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* โดยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังจากเริ่มทดลอง หลังจากการได้รับ FC เป็นเวลา 14 และ 21 วัน ปริมาณคลอโรฟิลล์ *b* ในต้นกล้าที่ได้รับ FC ทั้งสองระดับความเข้มข้นสูงกว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ *b* ในการทดลองชุดควบคุมที่ไม่ได้ รับ FC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพ 2B) จากผลดังกล่าวทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total chlorophyll content) เพิ่มขึ้น อย่างต่อเนื่องในทุกกลุ่มตามระยะเวลาหลังการให้ FC ด้วย (ภาพ 2C) ซึ่งในวันที่ 14 และ 21 หลังการให้ FC โดยกลุ่มที่ได้รับ FC 400 ppm มี ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมีค่าสูงสุด (4.27 และ 6 มิลลิกรัม/กรัมของน้ำหนักสด ตามลำดับ) ซึ่งผลของ FC ที่ทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kananont และคณะ [97] ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้ FC ที่ความเข้มข้น 0.5% (w/w) ลงในดินที่ในระหว่างปลูกข้าว พันธ์ุ ‘ขาวดอกมะลิ 105’ (KDML105) สามารถเพิ่มปริมาณของสารสีคลอโรฟิลล์ *a* และคลอโรฟิลล์ *b* ในใบได้ รวมถึงในงานวิจัยของ Percival และคณะ [98] ปลูกต้นแอปเปิ้ลป่า (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) และแพร์ (*Pyrus communis* L.) ในดินที่มีการให้ไคตินที่ความเข้มข้น 0.5%(w/v) และ 1%(w/v) พบว่าเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดภายในใบอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสะท้อนได้ถึงบทบาทของไคติน-ไคโทซานในการ ส่งเสริมกระบวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์และเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของพืชทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ [99-104]

สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (ภาพ 2D) มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างจากคลอโรฟิลล์ โดยในช่วง 7 วันแรก หลังได้รับ FC ทุกชุด การทดลองมีปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลงเล็กน้อย แต่หลังจากเริ่มการทดลองเป็นเวลา 14 วัน กลุ่มที่ได้รับ FC มีปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นอย่างมี นัยสำคัญ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ไม่ได้รับ FC (ชุดควบคุม) มีปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง โดยชุดการทดลองที่ได้รับ FC 400 ppm เป็นชุดการ ทดลองที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด (0.56 มิลลิกรัม/กรัมของน้ำหนักสด) ในช่วงเวลานี้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในกล้าข้าวในแต่ละชุดการทดลองมี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งบ่งชี้ว่า FC ช่วยกระตุ้นการสะสมของแคโรทีนอยด์ได้ (ภาพ 2D) ซึ่งสอดคล้องกับ งานวิจัย Acemi [105] พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของมอร์นิ่งกลอรี่ (*Ipomoea purpurea* (L.) Roth) ในอาหาร MS ที่มีการเติมไคโทซานทั้ง รูปแบบโพลิเมอร์และพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้น 5-20 mg/L มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของสารสีในใบ ได้แก่ คลอโรฟิลล์ *a* คลอโรฟิลล์ *b* และแคโรที นอยด์ทั้งหมด และในงานวิจัยของ Gürsoy [106] ยังแสดงให้เห็นว่าการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้น 0.2%(w/v) 0.4%(w/v) และ 0.6%(w/v) ใน การเพาะกล้าจากเมล็ดของคำฝอย (*Carthamus tinctorius* L.) สามารถช่วยเพิ่มปริมาณของแคโรทีนอยด์ เบต้า-แคโรทีน และไลโคปีนในใบได้ เช่นกัน โดยแคโรทีนอยด์เป็นสารสีที่มีบทบาทสำคัญในเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสงและการปกป้องพืชจากความเครียด ออกซิเดชัน [107,108]



ภาพ 1 ผลของเคตินหมัก (FC) ต่อการเจริญเติบโตทางด้านรากและลำต้นของข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ในสภาวะปลอดเชื้อ (A) น้ำหนักสดของต้น (B) น้ำหนักแห้งของต้น (C) น้ำหนักสดของราก (D) น้ำหนักแห้งของราก (E) ความยาวของราก และ (F) ความสูงของต้น ข้อมูลที่ได้จากค่าเฉลี่ยจากตัวอย่างเป็นจำนวน 4 ซ้ำโดยที่ Error bar แสดงค่า $\pm$ SE โดยตัวอักษรที่แตกต่างกัน ณ ที่ระยะเวลาใดๆ แสดงถึงความแตกต่างของทรีทเมนต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ด้วยวิธี DMRT



ภาพ 2 ผลของไคตินหมัก (FC) ต่อปริมาณสารสีในใบของข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ในสภาวะปลอดเชื้อ (A) ปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* (B) ปริมาณคลอโรฟิลล์ *b* (C) ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (D) ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ข้อมูลที่ได้จากค่าเฉลี่ยจากตัวอย่างเป็นจำนวน 4 ซ้ำโดยที่ Error bar แสดงค่า $\pm$ SE โดยตัวอักษรที่แตกต่างกัน ณ ที่ระยะเวลาใด ๆ แสดงถึงความแตกต่างของทรีตเมนต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ด้วยวิธี DMRT

4. สรุปผลการทดลอง

FC ส่งผลต่อการเติบโตของกล้าข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ภายใต้สภาพปลอดเชื้อโดยเฉพาะในวันที่ 14 และ 21 หลังการให้ FC ในกลุ่มที่ได้รับ FC ที่ปริมาณ 400 ppm โดย FC กระตุ้นการเพิ่มขึ้นของชีวมวลทั้งในต้นและราก รวมถึงการเพิ่มปริมาณสารสีในใบ ได้แก่ คลอโรฟิลล์ *a*, คลอโรฟิลล์ *b* และแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ดังนั้น การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า FC สามารถส่งเสริมการเติบโตของข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ ได้สอดคล้องกับการวิจัยในแปลง ดังนั้น การส่งเสริมการเติบโตที่เกิดขึ้นในแปลงนั้นเป็นผลโดยตรงของ FC ที่มีต่อข้าวพันธุ์นี้ แต่จะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานวิทยาในดินด้วยหรือไม่คงจะต้องทำการศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ: ขอขอบคุณบริษัท เจริญโภคภัณฑ์ โปรตีน จำกัด ที่สนับสนุนเมล็ดตัวอย่างของข้าวพันธุ์ ‘เบญจนิล3’ สำหรับงานวิจัย และศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนพื้นที่ในการวิจัย และ สนับสนุนทุนในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

68. Nelson DL, Cox MM (2017) in Lehninger Principles of Biochemistry (7th ed.). McMillan Learning. New York, NY.
69. Capinera JL (2008) Chitin. In Encyclopedia of Entomology. Springer, Dordrecht.
70. Gooch JW (2011) Chitin. In Encyclopedic Dictionary of Polymers. Springer, New York, NY.
71. Kou SG, Peters LM, Mucalo MR (2021) Chitosan: A review of sources and preparation methods. Int. J. Biol. Macromol. 169: 85–94.
72. El Hadrami A, Adam LR, El Hadrami I, Daayf F (2010) Chitosan in plant protection. Mar. Drugs 8: 968–987.
73. Ochoa-Meza et al. (2021) Oligosaccharins as elicitors of defense responses in wheat. Polymers 13: 3105.
74. Debode et al. (2016) Chitin mixed in potting soil alters lettuce growth, the survival of zoonotic bacteria on the leaves and associated rhizosphere microbiology. Front. Microbiol. 7: 565.
75. Winkler et al. (2017) Short-chain chitin oligomers: Promoters of plant growth. Mar. Drugs 15: 40.
76. Asgari-Targhi G, Iranbakhsh A, Ardebili ZO (2018) Potential benefits and phytotoxicity of bulk and nano-chitosan on the growth, morphogenesis, physiology, and micropropagation of *Capsicum annuum*. Plant Physiol. Biochem. 127: 393–402.
77. Abd El-Aziz et al. (2019) Preparation and characterization of chitosan/polyacrylic acid/copper nanocomposites and their impact on onion production. Int. J. Biol. Macromol. 123:856–865.
78. Martin-Saldaña et al. (2018). Salicylic acid loaded chitosan microparticles applied to lettuce seedlings: recycling shrimp fishing industry waste. Carbohydr. Polym. 200:321–331.
79. Choudhary et al. (2019) Zinc encapsulated chitosan nanoparticle to promote maize crop yield. Int. J. Biol. Macromol. 127:126–135.
80. Fukagawa NK, Ziska LH (2019) Rice: Importance for global nutrition. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 65 (Supplement): S2–S3.
81. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2567) ร้อยละผลผลิตข้าวนาปี : ร้อยละและปริมาณผลผลิตจากการเก็บเกี่ยวรายเดือนเป็นรายภาค และรายจังหวัด ปีเพาะปลูก 2566/67. สืบค้น 1 กุมภาพันธ์ 2568. จาก <https://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/percent%20rice%20product%2066.pdf>
82. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2567) ร้อยละผลผลิต : ร้อยละและปริมาณผลผลิตจากการเก็บเกี่ยวรายเดือน ระดับประเทศ ภาค และจังหวัด ปี 2566. สืบค้น 1 กุมภาพันธ์ 2568. จาก <https://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/percent%20production%2066.pdf>
83. กรมวิชาการเกษตร (2564) โฆษณาคำขอให้ออกหนังสือรับรองพันธุ์พืชขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518 . สืบค้น 15 กุมภาพันธ์ 2567. จาก https://www.doa.go.th/pvp/wp-content/uploads/2021/03/AnnoDOA_Public237.pdf
84. Chamnanmanoontham et al. (2015) Chitosan enhances rice seedling growth via gene expression network between nucleus and chloroplast. Plant Growth Regul. 75:101–114.
85. Chokiwatukul et al. (2024) Enhancing Productivity and Antioxidant Activities in Thai Colored Rice Cultivars ‘RD69’ and ‘Hawm Gulahb Deang’ Using Chitin-Based Material and Rice Husk. Agronomy 14:2886.
86. รัชตา โชควัฒน์กุล (2567) ผลของวัสดุฐานไคติน-ไคโทซานต่อผลผลิตข้าว สมบัติของแป้ง และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวพื้นเมืองไทยบางพันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทระดับบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
87. Yoshida S, Cock J, Forno DA (1976) In Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. International Rice Research Institute. Los Baños, Laguna.
88. Arnon DI (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24:1.
89. Li et al. (2020) Effect of chitin and chitosan hexamers on growth and photosynthetic characteristics of wheat seedlings. Photosynthetica 58:819–826.
90. Qu et al. (2019) Role of chitosan in the regulation of the growth, antioxidant system and photosynthetic characteristics of maize seedlings under cadmium stress. Russ. J. Plant Physiol. 66:140–151.
91. Endo et al. (2023) Effects of chitin nanofiber application on plant growth and its differences by soil type. Asian J. Agric. Rural Dev. 13:163–172.
92. Schlaman et al. (1997) Chitin oligosaccharides can induce cortical cell division in roots of *Vicia sativa* when delivered by ballistic microtargeting. Development 124:4887–4895.
93. Suwanchaikasem et al. (2023) Effects of chitin and chitosan on root growth, biochemical defense response and exudate proteome of *Cannabis sativa*. Plant-environ. Interact. 4:115–133.
94. Zhang et al. (2017) Metabolite profiling of wheat seedlings induced by chitosan: Revelation of the enhanced carbon and nitrogen metabolism. Front. Plant Sci. 8:2017.
95. Zhan et al. (2021) Chitin combined with selenium reduced nitrogen loss in soil and improved nitrogen uptake efficiency in Guanxi pomelo orchard. Sci. Total Environ. 799:149414.
96. Lin FW et al. (2020) Effects of betaine and chitin on water use efficiency in lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata*). HortScience 55:89–95.
97. Kananont et al. (2015) Improving the rice performance by fermented chitin Waste. Int. J. Agric. Biol. 18:9–15.
98. Percival et al. (2023) The Influence of chitin-and chitosan-Based soil amendments on pathogen severity of apple and pear. Scab. Arboric. Urban For. 49:64–74.
99. Xue et al. (2017) Effects of nanochitin on the enhancement of the grain yield and quality of winter wheat. J. Agric. Food Chem. 66: 6637–6645.
100. Liu et al. (2020) Enhanced photosynthesis, carbohydrates, and energy metabolism associated with chitosan-induced drought tolerance in creeping bentgrass. Crop Sci. 60:1064–1076.
101. Phothi R, Theerakarunwong CD (2017) Effect of chitosan on physiology, photosynthesis and biomass of rice (*Oryza sativa* L.) under elevated ozone. Aust. J. Crop Sci. 11:624–630.

102. Li et al. (2024) Chitosan induced cold tolerance in *Kobresia pygmaea* by regulating photosynthesis, antioxidant performance, and chloroplast ultrastructure. *Front. Plant Sci.* 15:1441564.
103. Xu C, Mou B (2018) Chitosan as soil amendment affects lettuce growth, photochemical efficiency, and gas exchange. *Horttechnology* 28:476–480.
104. Li et al. (2023) Assessment of transcriptional reprogramming of lettuce roots in response to chitin soil amendment. *Front. Plant Sci.* 14: 1158068.
105. Acemi R, Acemi A (2019) Polymerization degree-dependent changes in the effects of in vitro chitosan treatments on photosynthetic pigment, protein, and dry matter contents of *Ipomoea purpurea*. *Eurobiotech J.* 3: 197-202
106. Gürsoy M (2020) Effect of chitosan pretreatment on seedling growth and antioxidant enzyme activity of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under saline conditions. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 18:6589-6603.
107. Rasheed et al. (2020) Interactive effects of chitosan and cadmium on growth, secondary metabolism, oxidative defense, and element uptake in pea (*Pisum sativum* L.). *Arab. J. Geosci.* 13:1–14.
108. Heidari J, Amooaghaie R, Kiani S (2020) Impact of chitosan on nickel bioavailability in soil, the accumulation and tolerance of nickel in *Calendula tripterocarpa*. *Int. J. Phytoremediation* 22: 1175–1184.

ผลของวิธีการต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้หว้าจิมฟันควายในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of culture methods on *in vitro* growth and development of *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr. seedlings

เครือวัลย์ พิพัฒน์สวัสดิกุล^{1,2}, ธนากร วงษ์ศา³, สุภินันท์ ศิรินันท์⁴ และ อนุพันธ์ กงบังเกิด^{4,*}

Khruawan Phiphatsawatdikun^{1,2}, Thanakorn Wongsas³, Suphinan Sirinan⁴ and Anupan Kongbangkerd^{4,*}

¹ สวนรุกขชาติไม้เมืองหนาว สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช ตำบลบ่อสสี อำเภอฮอด จังหวัดเชียงใหม่ 50240

¹ Mai Muang Nao Arboretum, Forest and Plant Conservation Research Office, Bo Sali, Hot, Chiang Mai, 50240

² โครงการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารีอินทนนท์ ตามพระราชดำริ ในพื้นที่ภาคเหนือ (ดอยอินทนนท์) ตำบลบ้านหลวง อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ 50160

² The Royal Conservation Project for the Lady's Slipper Orchid Northern Region (Doi Inthanon), Ban Luang, Chom Thong, Chiang Mai, 50160

³ โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ตำบลนครชุม อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร 62000

³ Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University, Nakorn Chum, Muang, Kamphaeng Phet 62000

⁴ หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

⁴ Plant Tissue Culture Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University, Tapho, Muang, Phitsanulok 65000

*Correspondence: anupank@nu.ac.th

บทคัดย่อ: การศึกษาทดลองผลของชนิดอาหารและจำนวนต้นอ่อนเริ่มต้นต่อการเจริญและพัฒนาต้นอ่อนกล้วยไม้หว้าจิมฟันควาย โดยนำต้นอ่อนหว้าจิมฟันควายเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงกึ่งแข็งและอาหารเหลวสูตร Vacin and Went 1949 (VW) ที่เติมซูโครส 20 กรัมต่อลิตร, น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิตรต่อลิตร และมันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร ปริมาณอาหาร 15 มิลลิตรต่อภาชนะเพาะเลี้ยง โดยเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน ได้แก่ เลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารกึ่งแข็ง (1 ต้นต่อขวด) และในอาหารเหลว (1, 2 และ 3 ต้นต่อฟลasks) นานเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า การเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารเหลวมีแนวโน้มเจริญและพัฒนาดีกว่าบนอาหารกึ่งแข็ง และการเลี้ยงต้นอ่อน 3 ต้นต่อ ฟลask ในอาหารเหลว สามารถชักนำให้จำนวนยอด (2.40 ยอด) และจำนวนราก ใหม่ต่อชิ้นส่วนมากที่สุด (4.21 ราก) มากที่สุด และให้ค่าเฉลี่ยความสูงยอดต่อชิ้นส่วน (1.57 ซม.) เพิ่มขึ้นสูงที่สุด ในขณะที่ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนใบ (5.28 ใบ) และความยาวราก (1.89 ซม.) มากที่สุด และมีการรอดชีวิตสูงที่สุด 100%

คำสำคัญ: กล้วยไม้ดินหว้าจิมฟันควาย, สถานะอาหาร, พัฒนาการ

Abstract: Effect of medium types and explant number on growth and development of *In vitro* seedlings of *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr. were studied. Seedlings were cultured on 15 mL/vessel of semi-solid and liquid Vacin and Went (1949) medium added with sucrose 20 g/L coconut water 150 mL/L and potato 50 g/L. One explants were cultured on the semi-solid medium compared to the liquid medium cultured with one, two and three explants/vessel for 12 weeks. The results found that liquid medium trended to improve better growth and development of seedlings than semi-solid medium. The highest shoot (2.40 shoots), root (4.21 roots) induction number, and longest shoot length (1.57 cm) could obtain when three seedling explants were applied to the liquid medium whereas the highest number of leaves (5.28 leaves), longest root length (1.89 cm), and the highest survival percentage (100 %) could induce on the semi-solid culture medium.

Keywords: *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr., Types of medium, Development

1. บทนำ

กล้วยไม้หว้าจิมฟันควายเป็นกล้วยไม้ดินสกุล *Arundina* มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr. อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) ในธรรมชาติพบได้ในพื้นที่โล่ง และชายป่า จากระดับน้ำทะเลประมาณ 2000 เมตร มีการกระจายพันธุ์อยู่ในเขตร้อนในทวีปเอเชีย เช่น อินเดีย, เนปาล, ไทย, มาเลเซีย, สิงคโปร์, จีนตอนใต้ถึงอินโดนีเซีย และคาบสมุทรแปซิฟิก [1] ในประเทศไทยพบได้ในทุกภาค [2] ในประเทศจีนพบว่ากล้วยไม้ชนิดนี้สามารถนำมาทำเป็นยารักษาโรคได้ อาทิเช่น สลายลิ่มเลือด (Dispersing blood) และบรรเทาอาการปวด

(Relieving pain) เป็นต้น [3] ไโรโซมของหญ้าจิมฟันควายยังเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Anti-bacterial agent) สารสกัดจากรากใช้เป็นยาลดเบาหวาน (Anti-diabetes), ลดภาวะไขมันในเลือดสูง (Anti-hyperlipositis), ยาด้านไวรัสตับอักเสบบี (Anti-hepatitis) และยาด้านเอชไอวี (Anti-HIV) ได้อีกด้วย [4] อย่างไรก็ตามกล้วยไม้ดินหญ้าจิมฟันควายก็อาจเสี่ยงสูญพันธุ์ไปจากพื้นที่กระจายพันธุ์ได้ [5] เนื่องจากสภาพแวดล้อมปัจจุบันที่เปลี่ยนแปลงไป การคุกคามป่า การเก็บกล้วยไม้ออกจากป่า [6] เพื่อนำมาทำเป็นยา [3] นำไปใช้เป็นอาหารให้แก่ศัตรู และการนำมาเป็นไม้ประดับ [7] โดยธรรมชาติแล้วเมล็ดของกล้วยไม้มีการสะสมของอาหารสำหรับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เองในปริมาณที่น้อยหรือไม่มีการสะสมของอาหารอยู่เลย จึงทำให้มีโอกาสน้อยมากที่เมล็ดกล้วยไม้จะงอกและพัฒนาไปเป็นต้นอย่างสมบูรณ์ ส่วนต้นอ่อนกล้วยไม้ที่สามารถเจริญเติบโตได้นั้นอาจเกิดมาจากการเจริญเติบโตพร้อมกับเชื้อราไมคอร์ไรซา [8] อีกทั้งกล้วยไม้ดินหญ้าจิมฟันควายเองยังเจริญได้ในพื้นที่ที่จำกัดอย่างในบริเวณซอกหินที่มีชั้นดินน้อยและต้องการแสงมาก [9] ดังนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นวิธีหนึ่งที่จะอนุรักษ์พันธุ์กรรมกล้วยไม้ดินหญ้าจิมฟันควายที่เสี่ยงสูญพันธุ์ให้คงมีอยู่ อีกทั้งสามารถเพิ่มจำนวนได้มากภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว [10] สำหรับอาหารการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้โดยทั่วไปนิยมสูตร Vacin and Went [11] โดยสถานะของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงมีด้วยกัน 2 สถานะ คือ อาหารกึ่งแข็ง (Semi-solid medium) และ อาหารเหลว (Liquid medium) ซึ่งชั้นส่วนกล้วยไม้บางชนิดจะเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างได้ในอาหารกึ่งแข็ง แต่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหารเหลว ในขณะที่กล้วยไม้บางชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งบนอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลว [12] นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมนั้น เป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยส่งเสริมการทวีจำนวนต้นเพื่อการขยายพันธุ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวด้วย [13] ดังนั้นสถานะของอาหารเพาะเลี้ยงมีความจำต่อการเปลี่ยนแปลงและพัฒนากล้วยไม้ในแต่ละชนิดและชิ้นส่วนแตกต่างกัน ทั้งนี้ทั้งนี้ยังไม่พบผลการศึกษาของสถานะอาหารต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วย ไม้หญ้าจิมฟันควายมาก่อน จึงเป็นที่มาและวัตถุประสงค์ในการทำวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาสถานะอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและพัฒนากล้วยไม้จิมฟันควายในสภาพปลอดเชื้อ

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1. พืชที่ใช้ในการทดลอง

ต้นอ่อนกล้วยไม้หญ้าจิมฟันควายที่เจริญและพัฒนาจากเมล็ดที่เพาะในสภาพปลอดเชื้ออายุประมาณ 6 เดือน ที่มีความสูงประมาณ 1.0–1.5 เซนติเมตร มีใบ 2 ใบ และมีราก 1 ราก ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Vacin and Went (1949) [14] ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร ร่วมกับมันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร

2.2. วิธีการทดลอง

2.2.1 นำต้นอ่อนกล้วยไม้หญ้าจิมฟันควายมาทำการเลี้ยงลงบนอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิตรต่อลิตร ร่วมกับมันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร เลี้ยงในอาหารที่มีสถานะและจำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้นที่แตกต่างกัน เพื่อศึกษาผลของความหนาแน่นของจำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้นต่อปริมาณอาหารเหลวที่แตกต่างกัน ดังตาราง 1

ตาราง 1 สถานะของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินหญ้าจิมฟันควายจำนวนแตกต่างกัน

วิธีที่	สถานะอาหาร	ปริมาตรอาหาร (ml)	ภาชนะทดลอง	จำนวนชิ้นส่วนต้นอ่อนเริ่มต้น	รูปแบบการเลี้ยง
1	กึ่งแข็ง	15	ขวดแก้วขนาด 4 oz.	1	-
2	เหลว	15	พลาสติก ขนาด 50 ml	1	เขย่าเลี้ยงความเร็วรอบ 90 รอบต่อนาที
3	เหลว	15	พลาสติก ขนาด 50 ml	2	เขย่าเลี้ยงความเร็วรอบ 90 รอบต่อนาที
4	เหลว	15	พลาสติก ขนาด 50 ml	3	เขย่าเลี้ยงความเร็วรอบ 90 รอบต่อนาที

2.2.2. สภาวะการเพาะเลี้ยง นำไปเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในห้องที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง $40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน เลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

2.2.3. โดยแต่ละวิธีทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แล้วบันทึกผลการทดลอง อัตราการรอดชีวิต และการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน ฯลฯ

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ SPSS

3. ผลการทดลองและการอภิปราย

จากการศึกษาผลของสถานะอาหารต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของชิ้นส่วนเริ่มต้นหญ้าจิมฟันควาย เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลว มีอัตราการรอดชีวิต และลักษณะทางสัณฐานที่ผิดปกติที่แตกต่างกันออกไป โดยต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง จะมีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด และไม่พบความผิดปกติทางสัณฐาน ในขณะที่อัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวนั้น มีแนวโน้มไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนต้นอ่อนในอาหารเพาะเลี้ยงที่เป็นอาหารเหลว กลับมีแนวโน้มทำให้เกิดความผิดปกติทางสัณฐานมากขึ้นตามจำนวนชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงที่เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยลักษณะที่ผิดปกตินั้น คือ อาการฉ่ำน้ำ ของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยง (ตาราง 2) เมื่อพิจารณาถึงการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงพบว่า การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนจำนวน 2 ต้น ในอาหารเหลว มีแนวโน้มชักนำให้เกิดการสร้างยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน (2.40 ± 0.05 ยอด) และความสูงยอดต่อชิ้นส่วน (1.57 ± 0.04 ซม.) ได้ดีที่สุด ในขณะที่ต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งมีแนวโน้มชักนำให้ต้นอ่อนมีการสร้างจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด (5.28 ± 0.35 ใบ) อีกทั้งชักนำให้รากที่เกิดขึ้นมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด (1.89 ± 0.06 ซม.) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของจำนวนรากที่สร้างขึ้นจากต้นอ่อนทั้งที่เลี้ยงในอาหารเหลว และบนอาหารกึ่งแข็ง (ตาราง 3 ภาพ 1) ซึ่งผลการศึกษา สอดคล้องกับรายงานการศึกษาวัยเปรียบเทียบการเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกระชายดำบนอาหารกึ่งแข็งและในอาหารเหลว เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ในอาหารเหลวสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนได้ดีที่สุด เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลวจำเป็นต้องเลี้ยงบนเครื่องเขย่า โดยการเขย่านั้นจะทำให้ออกซิเจนละลายลงในอาหาร ซึ่งเป็นผลดีต่อการเจริญเติบโตของพืช ในขณะที่อาหารกึ่งแข็งนั้นมักเจริญเติบโตได้ช้ากว่า เพราะมีพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับอาหารได้น้อยกว่า [15] รวมไปถึงรายงานการศึกษาลงของจำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้นต่อปริมาณอาหารเหลวที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนไอยเรศน่าน ที่พบว่า ต้นอ่อนเอื้องไอยเรศน่านมีการเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับปริมาณอาหารต่อจำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสม โดยต้นอ่อนจำนวน 2 ต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลวปริมาณ 40 มิลลิลิตร สามารถเจริญและพัฒนาเกิดเป็นโปรโตคอร์มใหม่ได้ดีที่สุด และมีความผิดปกติน้อยที่สุด ในขณะที่การเลี้ยงต้นอ่อนจำนวนมากกว่า 2 ต้นในอาหารเหลว มีผลทำให้ต้นอ่อนเกิดความผิดปกติทางสัณฐานและเกิดการตายมากขึ้น เนื่องจากเกิดแรงเค้นที่เกิดขึ้นในระหว่างที่มีการเขย่าเลี้ยงต้นอ่อนที่มีความหนาแน่นในอาหารเหลวมากเกินไป [16] และจากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารเหลวต้องคำนึงถึงคุณภาพของต้นอ่อน เนื่องจากต้นอ่อนหญ้าจิมฟันควายที่เลี้ยงในอาหารเหลวนั้น มีแนวโน้มทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น อาทิ อาการฉ่ำน้ำ ซึ่งเป็นอาการที่พบได้ในกรณีที่เลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารเหลว ซึ่งมีตัวอย่างรายงานการศึกษาสังเกตลักษณะการฉ่ำน้ำของต้นอ่อนเอื้องคำฝักปราบที่เลี้ยงในอาหารเหลวเปรียบเทียบกับอาหารแข็งและพบว่า ต้นอ่อนเอื้องคำฝักปราบที่เลี้ยงในอาหารเหลวมีแนวโน้มชักนำให้เกิดอาการฉ่ำน้ำมากกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง [17]

ตาราง 2 อัตราการรอดชีวิต การเกิดโปรโตคอร์ม และลักษณะทางสัณฐานที่ผิดปกติของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงต้นอ่อนหญ้าจิมฟันควาย ที่เวลา 12 สัปดาห์

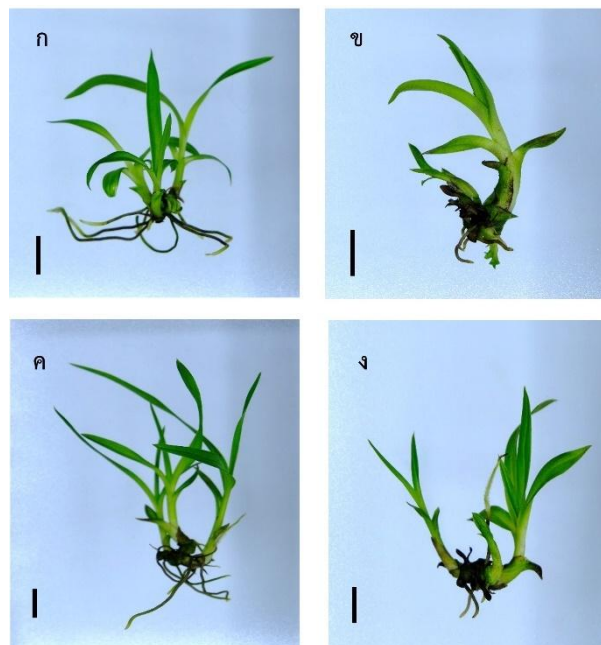
วิธีที่	สถานะอาหาร	จำนวน ต้นอ่อน เริ่มต้น	การรอดชีวิต (%)	โปรโตคอร์ม (%)	ลักษณะผิดปกติ (%)
1	กึ่งแข็ง	1	100.0 $\pm$ 0.0 a	8.3 $\pm$ 4.6	0.0 $\pm$ 0.0 c
2	เหลว	1	63.0 $\pm$ 5.0 ab	1.0 $\pm$ 2.2	36.7 $\pm$ 1.8 a
3	เหลว	2	80.0 $\pm$ 3.0 ab	0.0 $\pm$ 0.0	11.7 $\pm$ 1.6 b
4	เหลว	3	78.0 $\pm$ 2.0 b	0.0 $\pm$ 0.0	6.3 $\pm$ 1.1 bc

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan New Multiple Range Test

ตาราง 3 การเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนหญ้าจิมฟันควายที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับอาหารเหลว ที่เวลา 12 สัปดาห์

วิธีที่	สถานะอาหาร	จำนวนต้นอ่อนเริ่มต้น	จำนวนยอด (Mean $\pm$ SE)	จำนวนใบ (Mean $\pm$ SE)	จำนวนราก (Mean $\pm$ SE)	ความสูงยอด (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
1	กึ่งแข็ง	1	1.78 $\pm$ 0.25 ab	5.28 $\pm$ 0.35 a	3.45 $\pm$ 0.35 ns	1.23 $\pm$ 0.08 b	1.89 $\pm$ 0.06 a
2	เหลว	1	1.08 $\pm$ 0.14 b	2.72 $\pm$ 0.22 b	2.83 $\pm$ 0.40	1.06 $\pm$ 0.10 ab	1.14 $\pm$ 0.13 b
3	เหลว	2	2.40 $\pm$ 0.05 a	3.81 $\pm$ 0.11 b	4.30 $\pm$ 0.17	1.46 $\pm$ 0.05 ab	1.47 $\pm$ 0.07 ab
4	เหลว	3	1.83 $\pm$ 0.08 ab	4.01 $\pm$ 0.07 ab	4.21 $\pm$ 0.11	1.57 $\pm$ 0.04 a	1.40 $\pm$ 0.02 ab

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan New Multiple Range Test



ภาพ 1 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้หญ้าจิมฟันควายบนอาหารสูตร VW เป็นเวลา 12 สัปดาห์
ภาพ ก. อาหารกึ่งแข็ง ภาพ ข.-ง. อาหารเหลว (วิธีที่ 2-4 ตามลำดับ) สเกลบาร์ = 0.5 ซม.

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลสถานะอาหารต่อการเจริญและพัฒนาต้นอ่อนกล้วยไม้หญ้าจิมฟันควาย แสดงให้เห็นว่า ต้นอ่อนหญ้าจิมฟันควายสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวในจำนวนต้นอ่อนต่อปริมาณอาหารที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม คุณภาพและอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนหญ้าจิมฟันควายที่เลี้ยงในอาหารเหลว ต้องมีการศึกษาต่อเนื่องต่อไป เนื่องจากยังคงมีแนวโน้มให้อัตราการความผิดปกติทางสัณฐานที่สูง อีกทั้งมีแนวโน้มทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลงเมื่อใช้จำนวนต้นอ่อนต่อปริมาณอาหารเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ: บทความวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาทดลองในโครงการวิจัยเรื่อง การขยายระดับการผลิตกล้วยไม้ดินหญ้าจิมฟันควาย (*Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr.) เพื่อผลิตต้นพันธุ์จำนวนมากในระบบอาหารเหลว ที่ได้รับการจัดสรรงบประมาณประจำปี พ.ศ. 2564 ตามแผนงานพื้นฐานด้านการสร้างการเติบโตบนคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผลผลิตที่ 1: พื้นที่ป่าอนุรักษ์ได้รับการบริหารจัดการกิจกรรมองค์ความรู้ด้านการอนุรักษ์ป่าไม้และสัตว์ป่า กิจกรรมการวิจัยด้านป่าไม้และสัตว์ป่า ผู้วิจัยขอขอบคุณกลุ่มงานพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ที่จัดสรรงบประมาณสำหรับการดำเนินโครงการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- [1] Thomas, S. and Blakey, S. (1993). *Arundina graminifolia*: clarifying the taxonomy of the bamboo orchid. *Orchid Soc. Bull.*, 62, 380-385.
- [2] Pedersen, H.Æ. (2014). Orchidaceae (*Arundina*). In *Flora of Thailand*, 12(2), 327-330.
- [3] Su, J. (1986). *Dictionary of Chinese Traditional Medicine*. Shanghai Science and Technology Press: Shanghai, China. 455-456.
- [4] Hu, Q.F., Zhou, B., Ye, Y.Q., Jiang, Z.Y., Huang, X.Z., Li, Y.K., Du, G., Yang, G.Y., and Gao, X.M. (2013). Cytotoxic deoxybenzoins and Diphenylethylenes from *Arundina graminifolia*. *Nat. Prod. Res.*, 76(10), 1854-1859.
- [5] Chowdhury, H.J. and Multi, S.K. (2000). Plant diversity and conservation in India An overview. Bishen Singh and Mahendra Pal Singh, Dehra Dun.
- [6] Seidenfaden, G. (1985). Orchid Genera in Thailand XII. Copenhagen: Council for Nordic Publications in Botany.
- [7] Bharadwaj, B., Raj, R.K. and Raskoti B.B. (2015). *Inventory of Orchids in the Hanspokhari area of Kolbun VDC, Ilam District: Eastern Nepal*.
- [8] สมปอง เตชะโต. (2538). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเศรษฐกิจ. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [9] ปิ่นพวัน วัฒนอัมพวัน. (2559). ความหลากหลายของชนิดกล้วยไม้ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าโดนงาช้าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [10] Hountongkam, J., Ratanasuk, S. and Promwong, R. (2017). *In vitro* seed germination and regeneration of *Rhynchostylis coelestis* Rchb.f. *Koch Cha Sam J. Sci.*, 39(1). 1-12.
- [11] จิตราพรรณ พิสิท. (2558). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. ข่าวสารเกษตรศาสตร์ ปีที่ 60, (3), 26.
- [12] เพชรรัตน์ จันทรทิน. (2556). เอกสารประกอบการสอน: เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการเกษตร. กรุงเทพฯ: สาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี.
- [13] Adelberg, J.W. (2016). Micropropagation in liquid culture using partial immersion systems. *Acta Hortic.* 1113, 35-46.
- [14] Vacin, E.F. and Went, E.W. (1949). Some pH changes in nutrient solutions. *Bot. Gaz.* 110, 605-613.
- [15] กมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง, สมปอง เตชะโต และ ทศนี ขาวเนียม. (2561). การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกระชายดำในหลอดทดลอง. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ปีที่ 5*, 13-18.
- [16] เจนจิรา เงินตะ. (2556). ผลของปริมาณอาหารและจำนวนชิ้นส่วนต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนไอยเรศน่าน (*Rhynchostylis retusa* (L.) Blume) ในสภาพปลอดเชื้อ. การศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง วท.บ., มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก.
- [17] อนุพันธ์ กงบังเกิด, ธนากร วงษ์ศา และแสงเดือน วรณชาติ. (2555). ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.) ที่เลี้ยงในระบบแช่ชั่วคราว. *วารสารพฤกษศาสตร์ไทย* 4 (ฉบับพิเศษ), 159-168.

