

# วารสาร JTIA

## เทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตร

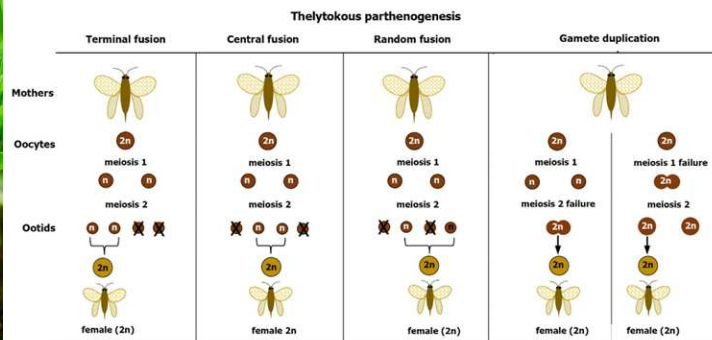
### บทความวิจัย

• ผลของสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศต่อการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp.  
Effect of Crude Extracts of Soursop Leaves on Controlling *Colletotrichum* sp.

• ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลที่มีต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง  
Effect of Nutrition from Sea Fish Oil for High of *Ipomoea aquatica* Seedling

### บทความวิชาการ

• โครโมโซม: สัญญาณเบื้องต้นในการกำหนดเพศแมลง  
Chromosomes: Primary Signals of Insect Sex Determination



ISSN xxxx-xxxx (Print)  
ISSN xxxx-xxxx (Online)

คณะเกษตรศาสตร์  
FACULTY OF AGRICULTURE

# ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2565

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อสร้างความเข้มแข็งทางวิชาการของบุคลากร คณาจารย์ และนักศึกษา
2. เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการและวิจัยของบุคลากรของมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ และหน่วยงานจากภายนอก
3. เพื่อเผยแพร่และถ่ายทอดเทคโนโลยีผลงานวิชาการและวิจัย ในรูปแบบออนไลน์
4. เพื่อสนับสนุนการนำผลงานวิชาการ และวิจัยไปใช้ให้เกิดประโยชน์
5. เพื่อสร้างเครือข่ายการเผยแพร่ผลงานวิชาการและวิจัย ระหว่างมหาวิทยาลัยกับหน่วยงานภายนอกทั้งภาครัฐและเอกชน
6. เพื่อสนองนโยบายการวิจัยและบริการวิชาการ ของมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

## สำนักงาน

คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

อำเภอเมืองนราธิวาส จังหวัดนราธิวาส

โทร 088 7884457

<http://jtiapnu.org>

E-mail: [jtia@pnu.ac.th](mailto:jtia@pnu.ac.th)

## ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2565

### ที่ปรึกษา

รศ.ดร.รสสุคนธ์	แสงมณี
พศ.ทวี	บุญภิรมย์
พศ.ดร.ปรีชา	สะแลแม
พศ.ดร.สายทอง	แก้วฉาย
พศ.ดร.จักรพันธ์	พิชญพิพัฒน์กุล

### บรรณาธิการ

พศ.ดร.สุนเสฏฐ์	ทองใสเกลี้ยง
----------------	--------------

### รองบรรณาธิการ

พศ.ดร.ภัทราวดี	ศรีมีเทียน
ดร.สุไลมาน	เจี๊ยะอาบู
ดร.เปลื้อง	บุญแก้ว
ดร.ภณิดา	เกาประดิษฐ์

### เจ้าหน้าที่ประจำวารสาร

นางสาวสุรัตนา	เทพแข
นายอนุอำหัดอาร์เพ็ญ	มัยเซ่ง

### กองบรรณาธิการ

ศ.ดร.ชาญวิทย์	วัชรพุกก์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
ศ.ดร.ชัยภูมิ	บัญชาศักดิ์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
รศ.ดร.จินตนา	สและน้อย	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
รศ.ดร.เลิศลักษณ์	เงินศิริ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
รศ.ดร.สมเกียรติ	ประสานพานิช	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
รศ.ดร.ชนเชฎ์	มาลำพอง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
รศ.เสาวณิต	คู่ประเสริฐ	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
พศ.ดร.ระวี	เจียรวิภา	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
พศ.ดร.ชนินันท์	พรสุริยา	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
รศ.ดร.ชุกรี	หะยีสาแม	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี
พศ.ดร. จิตีมา	สุวรรณมาลา	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี
พศ.ดร.สุรศักดิ์	คชภักดี	มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
ดร.ภควรรณ	เศรษฐมงคล	มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี
ดร.พิรวิทย์	เชื้อบุญวงศ์	มหาวิทยาลัยศิลปากร
ดร.อาภากร	สกุลสถาพร	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ดร.จิระศักดิ์	วิชาสวัสดิ์	มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร
พศ.ดร.อิสริยาภรณ์	ดำรงรักษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา
พศ.ดร.นราธิชน	หมวกรอง	มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์
พศ.ดร.ราฮิมา	วาแม่ดีชา	มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์
พศ.ดร.ชารีนา	สื่อแม	มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์
พศ.ดร.นิรันดร์	หนักแดง	มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์



วารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตร Journal of Technological and Innovative Agriculture (JTIA) มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ เป็นวารสารที่มีผู้ทรงคุณวุฒิตรวจสอบเนื้อหาของบทความเพื่อลงตีพิมพ์ ไม่ต่ำกว่า 3 ท่านต่อบทความ ซึ่งข้อคิดเห็น ข้อความตลอดจน ตาราง กราฟ และภาพต่าง ๆ ที่ปรากฏอยู่ในบทความวิจัย และบทความทางวิชาการของวารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตร Journal of Technological and Innovative Agriculture (JTIA) มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ เป็นความรับผิดชอบโดยตรงของผู้เขียนโดยเฉพาะ ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับข้อคิดเห็นใด ๆ ของคณะผู้จัดทำ และมีใช้ความรับผิดชอบของ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ผู้ใดประสงค์จะนำข้อความหรือส่วนใดส่วนหนึ่ง ไปเผยแพร่ในรูปแบบหนึ่งรูปแบบใด ต้องได้รับอนุญาตจากวารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตร (JTIA) และผู้เขียนตามกฎหมายว่าด้วยการละเมิดลิขสิทธิ์นั้น หากมีการฟ้องร้องจะเป็นความรับผิดชอบของผู้เขียนแต่เพียงผู้เดียว วารสารฯ จะไม่รับผิดชอบใด ๆ ทั้งสิ้น



ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนเสฐฎี กองใสเกลี้ยง

บรรณาธิการ

วารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตร Journal of Technological and Innovative Agriculture (JTIA) Online ฉบับนี้เป็นปีที่ 1 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม – ธันวาคม 2565 เป็นวารสารที่จัดทำขึ้นเพื่อเผยแพร่ผลงานการค้นคว้าวิจัยทางวิชาการทาง ด้านวิทยาศาสตร์การเกษตร พืชศาสตร์ สัตวศาสตร์ สัตวแพทยศาสตร์ ประมง การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เทคโนโลยีทางการเกษตร นวัตกรรมทางการเกษตร วิทยาศาสตร์ชีวภาพ เกษตรกรรมยั่งยืน และวิทยาศาสตร์แขนงต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับเกษตรในรูปแบบวารสารออนไลน์

สำหรับวารสารฉบับนี้ มีบทความวิจัย จำนวน 2 บทความ คือ สาขาพืชศาสตร์ และบทความวิชาการ จำนวน 1 บทความ ซึ่งเต็มเปี่ยมไปด้วยคุณภาพทั้งสิ้นกองบรรณาธิการวารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตร ขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิ (Peer review) ทุกท่านที่ได้ช่วยตรวจสอบความถูกต้องของเนื้อหาบทความเป็นอย่างดี

วารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตร Journal of Technological and Innovative Agriculture (JTIA) Online มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ขอเชิญชวนคณาจารย์ นิสิต นักศึกษา นักวิชาการ ตลอดจนประชาชนทั่วไป หากท่านมีผลงานวิจัย หรือบทความทางวิชาการที่ เกี่ยวข้องกับการเกษตร ที่ต้องการตีพิมพ์เผยแพร่ สามารถส่งบทความ และสอบถามข้อมูลเพิ่มเติมได้ที่ <http://jtiapnu.org> หรือสามารถติดต่อมายังกองบรรณาธิการได้ที่ E-mail : [jtia@pnu.ac.th](mailto:jtia@pnu.ac.th)

## สารบัญ

### บทความวิจัย

#### สาขาพืชศาสตร์

	หน้าที่ (Page)
ผลของสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Colletotrichum</i> sp. Effect of Crude Extracts of Soursop Leaves on Controlling <i>Colletotrichum</i> sp.	1
จักรพงษ์ จิระแพทย์ สายทอง แก้วฉาย ฮาติม นิกาเรียง อุสมาน เจ๊ะลาเตะ	

ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลที่มีต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง Effect of Nutrition from Sea Fish Oil for High of <i>Ipomoea aquatica</i> Seedling	12
จิระศักดิ์ วิชาสวัสดิ์ วชิระวิชญ์ จารุพัฒน์วานิช สิทธรัชย์ สิมมาลา	

### บทความวิชาการ

โครโมโซม: สัญญาณเบื้องต้นในการกำหนดเพศแมลง Chromosomes: Primary Signals of Insect Sex Determination	21
ธนเสฏฐ์ ทองใสเกลี้ยง	

## ผลของสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศต่อการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. Effect of Crude Extracts of Soursop Leaves on Controlling *Colletotrichum* sp.

จักรพงษ์ จิระแพทย์<sup>1\*</sup> สายทอง แก้วฉาย<sup>1</sup> ฮากีม นิการัง<sup>1</sup> และอูสมาน เจ๊ะลาเตะ<sup>1</sup>  
Jakkrapong Jirapaet<sup>1</sup>, Saithong Kaewchai<sup>1</sup>, Hakeem Nikareng<sup>1</sup> and Ausman Chelateh

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบในใบทุเรียนเทศ และเพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราโรคแอนแทรกโนสของสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศ การศึกษาครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบ 4×4 Factorial in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ตัวทำละลาย และความเข้มข้น โดยตัวทำละลายมี 4 ชนิด (เมทานอล เอทิลอะซิเตท เฮกเซน และน้ำ) และความเข้มข้นที่ 4 ระดับ (0 5,000 10,000 และ 15,000 ppm) ผลการศึกษาพบว่า ลักษณะสารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีเขียวเข้ม โดยตัวทำละลายน้ำ ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด เท่ากับ 38.78 กรัม สำหรับประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบว่า สารสกัดหยาบในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ดีที่สุดในที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 10,000 และ 15,000 ppm มีค่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สูงที่สุด เท่ากับ 42.20 และ 43.57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $p < 0.01$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองอื่น ๆ

**คำสำคัญ:** โรคแอนแทรกโนส สารสกัดหยาบ ใบทุเรียนเทศ เชื้อรา *Colletotrichum* sp.

### Abstract

This research were aimed to investigate the solvents for extracting the crude extract from soursop leaves, and to study the efficiency of those extracts to control *Colletotrichum* sp. The experiment design was 4 x 4 factorial in CRD with two factors including solvents and concentrations. Four solvents (methanol, ethyl acetate, hexane, and water) and 4 different concentrations (0, 5000, 10,000, and 15,000 ppm) were used to evaluate. The crude extract was greenish-black and viscous and the highest amount of crude extract was obtained from water solvent at 38.78 grams. For the effectiveness of inhibiting the growth of fungi, *Colletotrichum* sp., the study showed that the crude extract in ethyl acetate solvent gave the highest percentage of inhibiting mycelium at concentrations of 10,000 ppm (42.20%) and 15,000 ppm (43.57%) respectively, which significant difference ( $p < 0.01$ ) from other treatments.

**Keywords:** Anthracnose disease, Crude extract, Soursop leaves, *Colletotrichum* sp.

<sup>1</sup>คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย 96000.

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture, Princess of Naradhiwas University, Mueang District, Narathiwat Province, Thailand. 96000.

\*Corresponding author: Jakkrapong.j@pnu.ac.th

## บทนำ (Introduction)

ทุเรียนเทศ (Soursop) จัดเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์กระดังงา (Annonaceae) เช่น น้อยหน่า จำปี นมแมว และกระดังงา เป็นต้น มีสมาชิกประมาณ 130 สกุล และ 2,300 ชนิด โดยมีสกุล *Annona* และ *Rollinia* เป็นกลุ่มพืชที่มีขนาดใหญ่ และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยชนิดที่มีศักยภาพด้านการตลาดภายในประเทศ มีจำนวน 7 ชนิด และพันธุ์ลูกผสมอีก 1 ชนิด (Badrie & Schauss, 2009) สำหรับการแพร่กระจายพันธุ์ของทุเรียนเทศในแถบเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบว่า ทุเรียนเทศมีการเจริญเติบโตในหลายพื้นที่ตั้งแต่ประเทศอินเดีย ศรีลังกา บังคลาเทศ ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย เวียดนาม รวมถึงบริเวณตอนใต้ของจีน และประเทศไทย ทุเรียนเทศจัดเป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่มีคุณประโยชน์ที่หลากหลายเช่นเดียวกับไม้ผลเมืองร้อนอื่น ๆ ซึ่งอุดมไปด้วยสารอาหาร และวิตามินต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ เช่น คาร์โบไฮเดรต เส้นใย ธาตุเหล็ก และฟอสฟอรัส เป็นต้น (Morton, 1987; Love & Paul, 2011) รวมถึงการนำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ โดยผลทุเรียนเทศถูกนำมารับประทานเพื่อรักษาโรคเลือดออกตามไรฟัน ผลดิบใช้รักษาโรคบิด เมล็ดใช้สมานแผล ใช้เป็นยาเบื่อปลา และกำจัดแมลง ไบรรักษาโรคผิวหนัง แก้ไอ และปวดตามข้อ รากและเปลือก ใช้ชงดื่ม ลดอาการเครียด ลดอาการนอนไม่หลับ และบรรเทาอาการปวดเกร็งตามร่างกาย (Homthong, 2013) นอกจากนี้ยังมีการนำสารออกฤทธิ์ซึ่งเป็นสารประกอบทางเคมีในส่วนต่าง ๆ ของทุเรียนเทศมาใช้ประโยชน์ทั้งในทางการแพทย์ และภาคการเกษตร ซึ่งเป็นแนวทางการส่งเสริมการใช้สารธรรมชาติ เพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

การนำสารประกอบทางเคมีมาใช้ประโยชน์ นิยมสกัดสารจากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ราก เปลือก ใบ ดอก ผล และเมล็ด ในรูปของสารสกัดหยาบ (crude extracts) เพื่อให้ได้เนื้อสารที่มีความเข้มข้นสูง ก่อนนำไปใช้สำหรับการศึกษาและพัฒนาในระดับสูงที่มีความละเอียดและซับซ้อน เช่น ด้านเวชศาสตร์ ด้านเภสัชวิทยา และด้านการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น ซึ่งพืชตระกูล Annonaceae มีสารพฤษเคมีกลุ่มใหญ่ ๆ 3 กลุ่ม คือ ไฮโคเลเฮกซะเปปไทด์ อะซีโตจีนิน และแอนโนนาเซียส อะซีโตจีนิน ที่มีแทนนิน สเตอรอยด์ และคาร์ดิแอก โกลโคไซด์ เป็นองค์ประกอบ (Gajalakshmi et al., 2012) แม้ว่าในพืชเหล่านี้จะมีสารประกอบที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรค กำจัดเชื้อที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ และมีศักยภาพในการใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืชได้ แต่ปริมาณและความเข้มข้นของสารประกอบที่สกัดได้จากพืชในแต่ละส่วนประกอบอาจมีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพที่แตกต่างกันอีกด้วย เช่น สควอโมซิน ที่แยกได้จากส่วนสกัดอีเทอร์จะมีมากในเมล็ดน้อยหน่า สารอะซิโบลิน นอร์นูซิเฟอริน และแอนโนนาอิน ที่แยกได้ในปริมาณมากจากส่วนของผลทุเรียนเทศ เป็นต้น (Rayanil, 2012) และพบว่าสารอะซีโตจีนินที่สกัดได้จากใบและเปลือกของทุเรียนเทศ สามารถระงับเซลล์มะเร็งบางชนิดได้ เช่น มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม และมะเร็งปากมดลูก (Choosingh van Beem, 2012) ทั้งนี้ Liaw et al. (2010) รายงานว่ามีการนำสารสกัดที่ได้จากทุเรียนเทศไปทดลองการต้านเซลล์มะเร็งเต้านมในหนูทดลองโดยให้สาร 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นต้น นอกจากนี้ ยังพบการออกฤทธิ์ต่อต้านปรสิต (antiparasitic) ฤทธิ์กดภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) และฤทธิ์การฆ่าแมลง (insecticide) ซึ่งจากการศึกษาของ Vanichpakorn & Vanichpakorn (2015) ทดสอบฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดปีโตรเลียมอีเทอร์ สารสกัดเอทิลอะซีเตท สารสกัดอะซีโตน และสารสกัดเอทานอลจากเมล็ดและใบทุเรียนเทศต่อหนอนใยผักในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธีจุ่มใบ พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบทุเรียนเทศมีศักยภาพสูงในการนำมาใช้ควบคุมหนอนใยผักในแปลงปลูกผักคะน้า ซึ่งนอกจากจะมีการนำเอาสารออกฤทธิ์ทางเคมีจากพืชมาใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในกระบวนการผลิตทางการเกษตรแล้ว ยังพบว่ามีมีการนำมาใช้สำหรับการ



ควบคุมกำจัดเชื้อสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคพืชได้ มีการศึกษาทดลองในพืชหลายชนิด เช่น สารสกัดข้าวด้วยตัวทำละลายอะซีโตน และเฮกเซน และสารสกัดชะพลูด้วยอะซีโตนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าของชมพู *C. gloeosporioides* และ *Pestalotiopsis guepinii* (Trakulsukrat, Thipanyakom, & Siwakon, 2013) โดยเฉพาะเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนส (anthracnose) หรือโรคกุ้งแห้ง ซึ่งเกิดจากเชื้อรา 2 ชนิด คือ เชื้อรา *C. gloeosporioides* และเชื้อรา *C. capsici* ซึ่งเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ สามารถเข้าโจมตีและทำลายพริกได้ ทุกส่วนของลำต้นเหนือดิน และมีความสามารถในการเข้าทำลายพืชแบบแฝง (latent infection) กล่าวคือเชื้อราสาเหตุโรคสามารถ เข้าทำลายพืชตั้งแต่ระยะที่ยังอ่อนโดยไม่ปรากฏอาการให้เห็นจนกระทั่งพืชเข้าสู่ระยะสุกแก่จึงพบการระบาดของโรค มีผลทำให้ไม่สามารถป้องกันกำจัดได้ทันทั่วทั้งที่ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรามักเข้าทำลายในผลอ่อน และผลที่แก่จัดแต่ยังคงเป็นสีเขียว (Hong & Hwang, 1998) ลักษณะอาการของโรคขึ้นกับชนิดของพริก ในพริกใหญ่ เกิดจุดฉ่ำน้ำ ขยายเป็นวง หรือรี เชื้อจะสร้างสปอร์ในตุ่มเล็ก ๆ สีครีมหรือสีน้ำตาล แล้วเปลี่ยนเป็นสีดำเรียงเป็นวงซ้อนกัน ถ้าอากาศเย็น ขึ้น สปอร์เป็นเมือกเยิ้มสีครีม หรือสีส้มอ่อนอยู่บริเวณแผล ส่วนพริกเล็ก แผลจะเน่าในลักษณะฉ่ำน้ำ แผลสีน้ำตาล สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเกิดโรค คือสภาพอากาศที่ร้อนชื้น อุณหภูมิประมาณ 30-32 องศาเซลเซียส และปริมาณฝนตกเล็กน้อย เชื้อรานี้สามารถปลิวตามลม และตกค้างในดิน เมื่อสภาพเหมาะสม เชื้อจะเจริญแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว (Tropical Vegetable Research and Development Center, 2013) โรคนี้สร้างความเสียหายให้แก่พริกได้ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุดังกล่าว สามารถใช้เป็นแนวทางสำหรับการส่งเสริมให้เกษตรกรนำมาใช้ในการผลิตสินค้าเกษตรและลดการใช้สารเคมีที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงสนใจศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบในใบทุเรียนเทศ และศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราโรคแอนแทรคโนสในพริกของสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศต่อไป

## วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)

### ขั้นตอนการสกัดสารสกัดจากใบทุเรียนเทศ

เก็บตัวอย่างใบทุเรียนเทศระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่ นำมาล้างให้สะอาด และผึ่งให้แห้งในที่ร่ม หลังจากนั้นนำซังน้ำหนัสด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 36-48 ชั่วโมง หรือจนกว่าตัวอย่างจะแห้งสนิทแล้วบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น ซังตัวอย่างใบทุเรียนเทศน้ำหนัก 500 กรัม แخلลงในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ 85% เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และ 95% เมทานอล ปริมาณพอท่วม เก็บทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำมากรองตะกอนออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำส่วนของเหลวไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator (ยี่ห้อ EYELA รุ่น Botany N-1000) ทำให้แห้ง และเก็บไว้เพื่อทดสอบต่อไป ส่วนสารสกัดจากน้ำทำได้โดยนำตัวอย่างใบไปต้มจนเดือดที่อุณหภูมิ 200-230 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองตะกอนออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำไปแช่ให้แข็งในตู้แช่ แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบเยือกแข็ง (Freeze dry) ทำให้แห้ง และนำไปทดสอบในชุดการทดลองถัดไป (Figure 1)





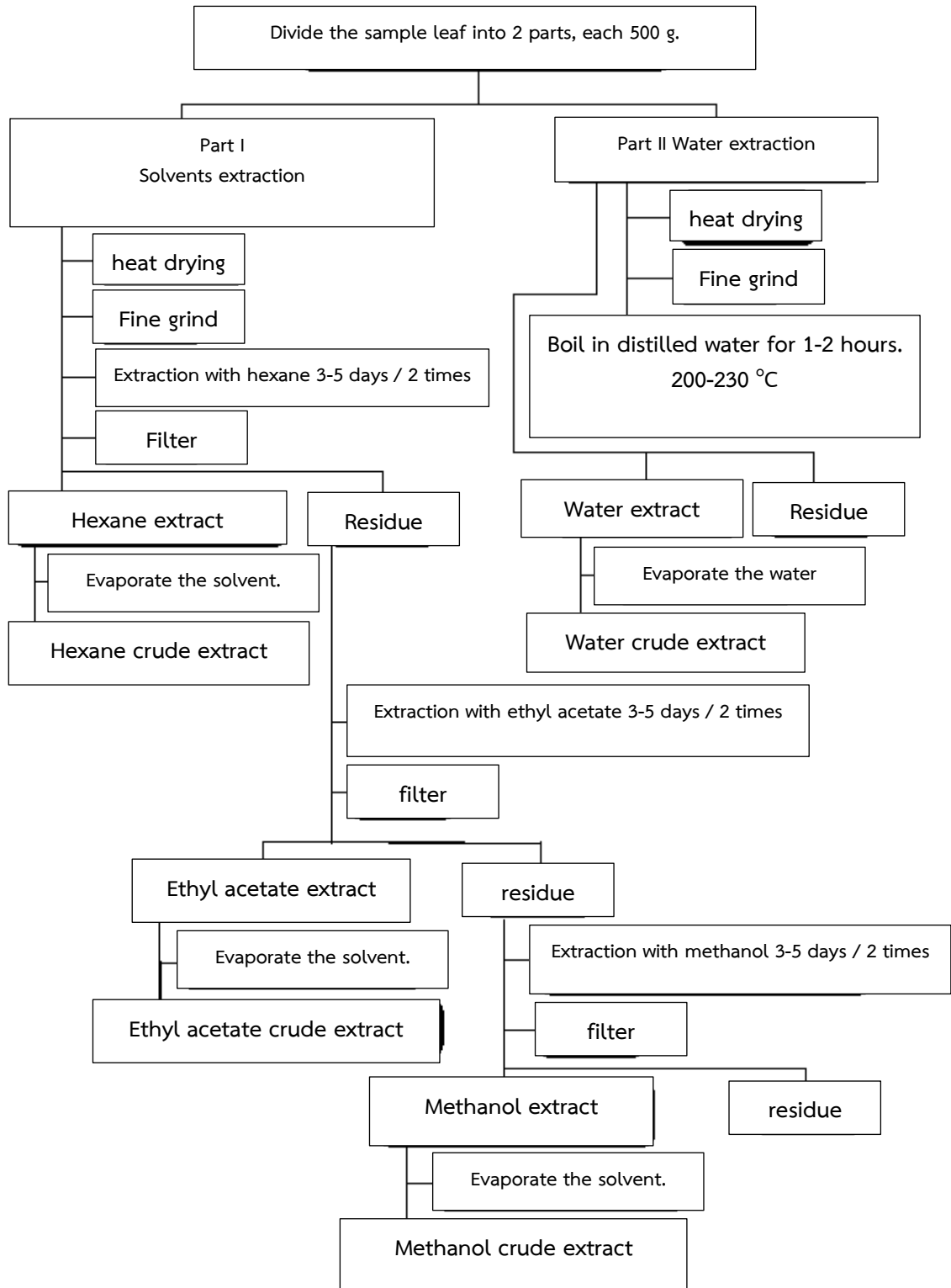


Figure 1 The process of extraction on soursop leaf extract



### การทดสอบเชื้อสาเหตุโรค

ดำเนินการทดสอบโดยใช้แผนการทดลองแบบ  $4 \times 4$  Factorial in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ชนิดตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ เมทานอล เอทิลอะซิเตท เฮกเซน และน้ำ และระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ต่างกัน คือ 0, 5,000, 10,000 และ 15,000 ppm ทำการทดสอบโดยเตรียมอาหารเพาะเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ปริมาตร 120 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศที่ความเข้มข้นต่างกั้ดงกล่าว นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทอาหารที่ผสมสารสกัดลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว โดยชุดควบคุมจะไม่ผสมสารสกัด หลังจากผิวหน้าของอาหารที่ผสมสารสกัดและชุดควบคุมแห้งสนิท นำเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการอารักขาพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ซึ่งเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง มาตัดบริเวณขอบของโคโลนีด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร วางลงบนผิวหน้าอาหารที่ผสมสารสกัดหยาบ จากนั้นบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยทดสอบ 5 ซ้ำต่อชุดการทดลอง สังเกตการเจริญเติบโตของเส้นใยบนจานเพาะเชื้อ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย และบันทึกข้อมูล

วิธีการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (Percent Growth inhibition = PGI) จากสูตร (Gamaliel et al., 1989)

$$PGI = [(A-B)/A] \times 100$$

โดย A = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อโรคนในชุดควบคุม

B = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อโรคในจานทดสอบ

### การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ผล

บันทึกผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อหลังจากเลี้ยงในอาหารเมื่อเชื้อในจานควบคุมเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ที่ระยะเวลาทดสอบ 7 วัน แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตการเจริญของเชื้อ จากนั้นนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Duncan Multiple Rang Test) โดยใช้โปรแกรม R

### ผลการทดลอง (Results)

#### ลักษณะสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศ

ผลของการสกัดสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่า สารสกัดหยาบในตัวทำละลายน้ำ มีน้ำหนักสารมากที่สุด เท่ากับ 38.78 กรัม รองลงมาคือ เอทิลอะซิเตท เท่ากับ 19.61 กรัม ถัดมา คือ เมทานอล เท่ากับ 15.13 กรัม และเฮกเซน มีค่าน้อยที่สุด เท่ากับ 12.28 กรัม (Figure 2) โดยลักษณะของสารสกัดหยาบจะมีสีเขียวดำ และหนืด ยกเว้นสารสกัดจากน้ำที่มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลเข้ม (Figure 3)



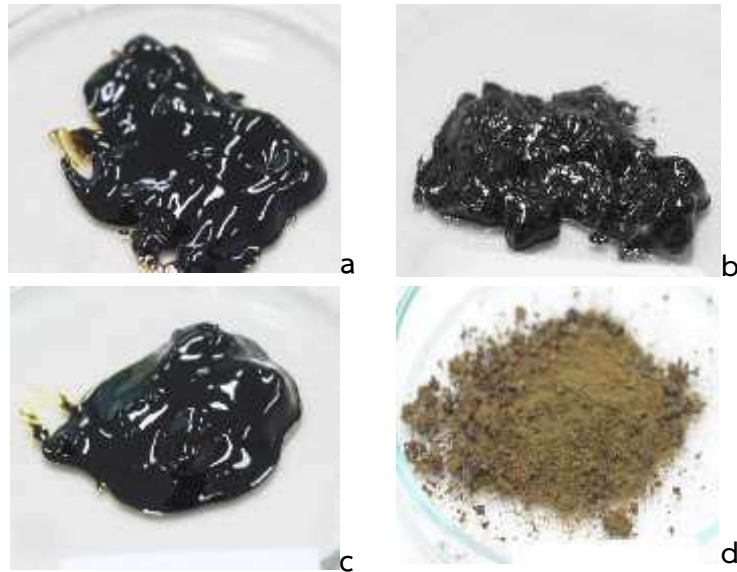


Figure 2 Characteristics of soursop leaf crude extracts in four solvents, hexane (a), ethyl acetate (b), methanol (c) and water (d), respectively.

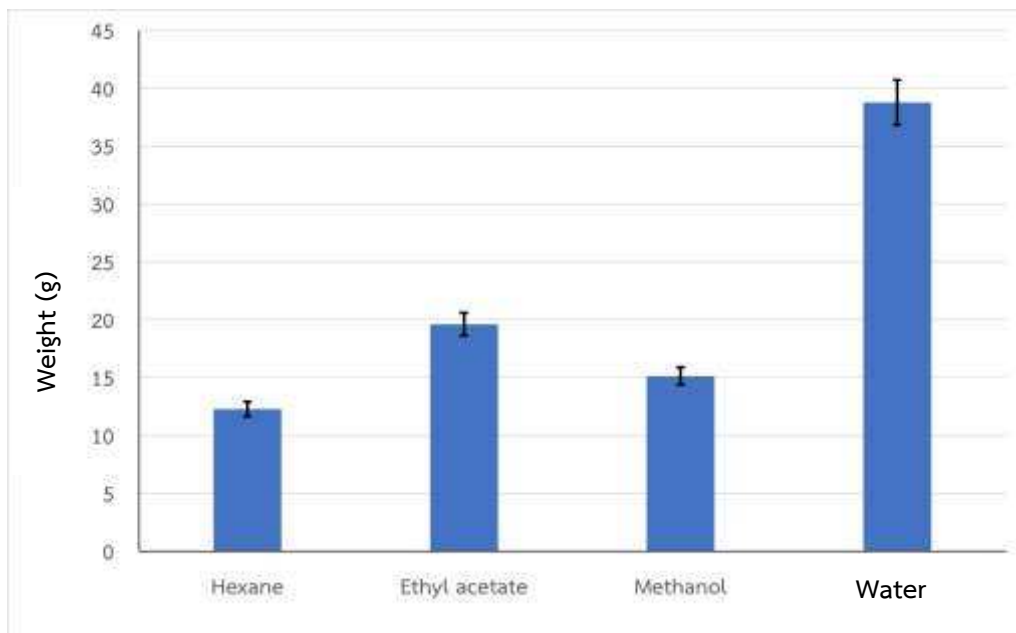


Figure 3 The weight of soursop leaf crude extract obtained in different solvents.

### ชนิดตัวทำละลายและความเข้มข้นต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

ผลการศึกษานิตตัวทำละลายต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา พบว่า สารสกัดหยาบในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท มีการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 30.19 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศที่สกัดด้วยเมทานอล เฮกเซน และน้ำ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ย เท่ากับ 20.21 20.00 และ 7.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์



(Table 1) สำหรับระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา พบว่า ที่ความเข้มข้น 15,000 ppm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 29.58 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาที่ความเข้มข้น 10,000 5,000 และ 0 ppm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยเท่ากับ 27.16 20.76 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยความเข้มข้นของสารสกัดทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

**Table 1** Mean inhibition percentage of mycelium of soursop leaf crude extracts extracted with different solvents.

Solvents	Mean inhibition percentage of mycelium (%)
Methanol	20.21 b <sup>1</sup>
Ethyl acetate	30.19 a
Hexane	20.00 b
Water	7.09 c
F-test	**
CV%	13.13

\*\* = significantly different (p<0.01)

1/ Mean value followed by different letters in the same column are significantly different at p<0.01 using DMRT.

**Table 2** Mean inhibition percentage of mycelium of soursop leaf crude extract at different extract concentrations.

Extract concentrations (ppm)	Mean inhibition percentage of mycelium (%)
0	00.00 c <sup>1</sup>
5,000	20.76 b
10,000	27.16 a
15,000	29.58 a
F-test	**
CV%	13.13

\*\* = significantly different (p<0.01)

1/ Mean value followed by different letters in the same column are significantly different at p<0.01 using DMRT.



เมื่อศึกษาชนิดตัวทำละลายและความเข้มข้นต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา พบว่า ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ที่ความเข้มข้น 15,000 และ 10,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยได้สูงถึง 43.57 และ 42.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (Table 3 และ Figure 4)

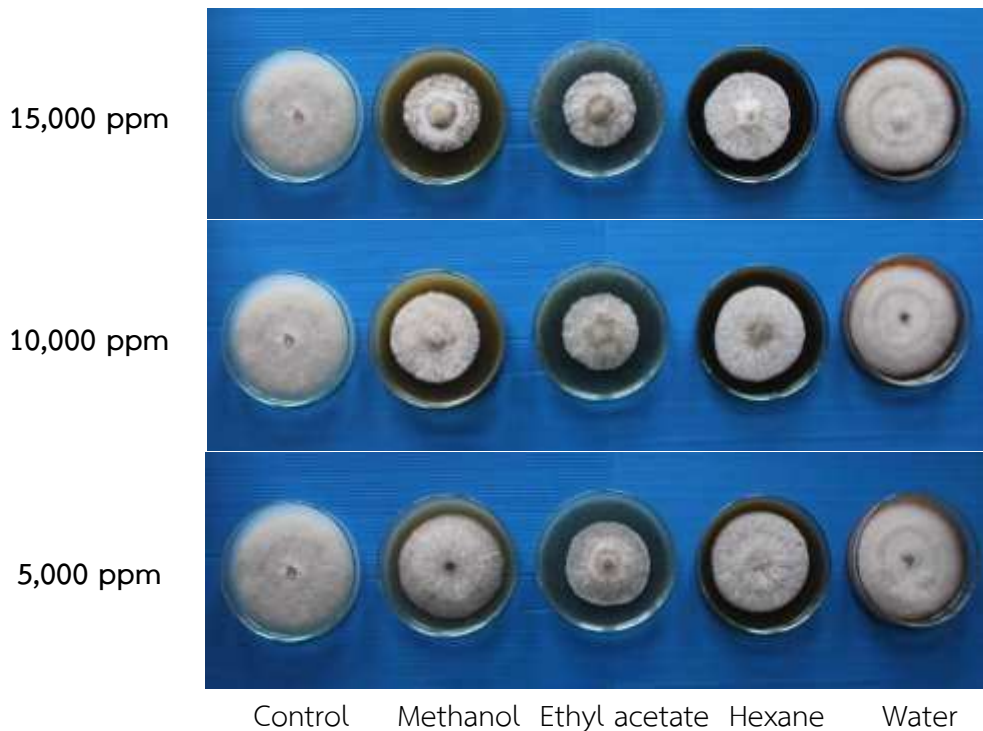
**Table 3** The percentage of mycelium growth inhibition between the extraction solvent type and the concentration of the extract.

Solvents	Extract concentrations (ppm)	Mean inhibition percentage of mycelium (%)
Methanol	0	0.00 g <sup>1</sup>
	5,000	21.10 d
	10,000	29.17 c
	15,000	30.55 bc
Ethyl acetate	0	0.00 g
	5,000	35.00 b
	10,000	42.20 a
	15,000	43.57 a
Hexane	0	0.00 g
	5,000	21.92 d
	10,000	27.80 c
	15,000	30.28 bc
Water	0	0.00 g
	5,000	5.00 f
	10,000	9.45 ef
	15,000	13.90 e
	F-test	**
	CV%	13.13

\*\* = significantly different ( $p < 0.01$ )

1/ Mean value followed by different letters in the same column are significantly different at  $p < 0.01$  using DMRT.





**Figure 4** Effects of crude extract in different solvents on fungal growth inhibition, *Colletotrichum* sp., for 7 days and incubated at room temperature.

### วิจารณ์ (Discussion)

การศึกษาผลของตัวทำละลายและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบใบทุเรียนเทศต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราพบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทให้ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยได้สูงถึง 30.19 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) โดยที่ระดับความเข้มข้น 15,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยได้สูงถึง 43.57 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด คิดเป็น 43.57 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยได้สูงถึง 30.19 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับ Pimnee (2010) พบว่า สารสกัดหยาบของรากกล้วยเต่าพืช สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Candida albicans* และ *C. neoformans* ได้ พบว่าเป็นสารประกอบพวก acetogenin ทั้งนี้ ยังสอดคล้องกับสารสกัดจากข่าด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 3,000 ppm ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. ได้ 99.39 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดหยาบจากข่า และตะไคร้ในตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 20,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุด รวมถึงการใช้สารสกัดหยาบจากข่า ความเข้มข้น 20,000 ppm ก่อนปลูกเชื้อ 30 นาที สามารถยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนใบมะม่วงได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Sutthisa et al., 2014) และพบว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิด สามารถยับยั้งการเกิดโรคจากเชื้อสาเหตุจำพวกเชื้อราได้ เช่น สารสกัดจากกระชาย และสารสกัดจากขมิ้นชัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Thamsatit et al., 2017) และสารสกัดหยาบข่าจากเมทานอล สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *C. gloeosporioides* ซึ่งแยกได้จากพริก (Khewkhom et al., 2010) และสอดคล้องกับ Namsena (2014) พบว่า ใบน้อยหน่าที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเฮกเซน สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus brassicicola* ได้  $66.25 \pm 5.30$   $30.62 \pm 2.65$  และ  $26.87 \pm 11.49$

เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รวมไปถึงสารสกัดที่ได้จากพืชตระกูล Annonaceae ชนิดอื่น ๆ เช่น ใบข้าวหลามดง ยังสามารถยับยั้งการเกิดเชื้อไขมาเลเรีย และเชื้อเซลล์มะเร็งได้ (NakhonPhakdi, 2005) อีกด้วย

### สรุป (Conclusion)

การใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด และสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ดีที่สุดในที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 10,000 และ 15,000 ppm มีค่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สูงที่สุด เท่ากับ 42.20 และ 43.57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

### เอกสารอ้างอิง (References)

- Ammaramon, T. (2006). Hot vegetable chili of the year. *Khakaset Magazine*, 30(4): 70-90.
- Badrie, N. & Schauss A. G. (2009). Soursop (*Annona muricata* L.) : Composition, nutritional value, medicinal uses, and toxicology. In *Bioactive Foods in Promoting Health*. (ed. R. R. Watson and V. R. Preedy). pp. 621-643. Oxford: Academic Press.
- Choosingh van Beem, N. (2012). Biological effects of Thurian-thet (*Annona muricata* L.) crude extracts on cancer cell lines, pathogenic bacteria and aedes aegypti larvae. Songkhla : Thaksin University. 42 pp.
- Gajalakshmi, S., Vijayalakshmi S., & Rajeswari, V. D. (2012). Phytochemical and pharmacological properties of *Annona muricata*: A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4: 5
- Gamaliel, A., Katan, J., & Conen, E. (1989). Toxicity of chloronitrobenzenes to *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* as related to their structure. *Phytoparasitica*, 17: 101-106.
- Homthong, S. (2013). Soursop fruit that cannot be overlooked. [Master's thesis, Burapha University] Burapha University. [http://www.uniserv.buu.ac.th/topic.asp?TOPIC\\_ID=5602](http://www.uniserv.buu.ac.th/topic.asp?TOPIC_ID=5602)
- Hong, J. K., & Hwang, B. K. (1998). Influence of inoculum density, wetness duration, plant age, inoculation method and cultivar resistance on infection of pepper plants by *Colletotrichum coccodes*. *Pant Disease* 82(10): 1079-1083.
- Khewkhom, N., Sopon, B., & Kaewsuksang, S. (2010). Antifungal activity of *Alpinia galanga* crude extract against *Colletotrichum gleosporioides* of four fruits. *Agricultural Science Journal (Thailand)*, 41(3/1 (Suppl.)), 437-440.
- Liaw, C. C., Wu, T. Y., Chang F. R., & Wu, Y. C. (2010). Historic perspectives on annonaceous acetogenins from the chemical bench to preclinical trials. *Planta med.* 76 : 1390-1404.
- Love, K., & Paull, R. E. (2011). Soursop. University of Hawaii at Manoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources. Fruit and Nuts Publication F\_N-22. [http://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/F\\_N-22.pdf](http://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/F_N-22.pdf) (access 07 December 2014).



- Manam, P. (2006). Chemical composition study of chloroform and ethyl acetate extract from banana root (*Polyalthia debilis* (Pierre) FINET & GAGNEP.). [Master's thesis Srinakharinwirot University]. Srinakharinwirot University.
- Morton, J. (1987). Fruits of warm climates. Miami, FL.: 75–80.
- Nakhon Phakdi, Y. (2005). Chemical composition study from hexane rough extraction of Khao Lam Dong leaves. Kaen Nakhon Wittayalai School.
- Namsena, P. (2014). Antifungal activity of crude leaf extracts against *Alternaria brassicicola*. Biology program Faculty of Science and Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. 80 pp.
- Pimnee, A. (2010). Biology and effects of crude extracts from banana tao (*Polyalthia debilis* Pinet & Gagnep.) and Namnoy (*Polyalthia suberosa* (Roxb.) Thwaites) on fungal growth. [Master's thesis Loei Rajabhat University]. Loei Rajabhat University.
- Rayanil, K. (2012). Bioactive compounds from the Annonaceae Plants. Srinakharinwirot University, Journal of Science and Technology. 4(8): 96-110.
- Sutthisa, W., Tapkhumram, P., Kanchanarat, W., & Arimastu, P. (2014). Efficiency of Thai medicinal plant extract to control *Colletotrichum* sp., a causal agent of mango anthracnose. Khon Kaen Agr. J. 42 SUPPL. 1 : 665-670.
- Thamsatit, W., Sukonthamut, S., & Thanaboripat, D. (2017). Screening of effective herbs for controlling *Phytophthora* sp. Isolated from Durian in Chanthaburi Province and Chumphon Province. Journal of Science Ladkrabang. 26(2): 1–14.
- Trakulsukrat, P., thipanyakom, P. & Siwakon, N. (2013). Effect of plant extracts and fungicides to causing agent of rose apple fruit rot disease. Annual research report 2013, Plant Protection Research Development Bureau, Department of Agriculture. 2628-2639.
- Tropical Vegetable Research and Development Center. (2013). Chilli cultivation guide. Nakhon Pathom: Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus. 19 pp.
- Vanichpakorn, P., & Vanichpakorn, Y. (2015). Insecticidal activity of soursop, *Annona muricata*, extracts against diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in Chinese kale. Khon Kaen Agr. J. 43 SUPPL. 1: 132-137.





## ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลที่มีต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง Effect of Nutrition from Sea Fish Oil for High of *Ipomoea aquatica* Seedling

จรัสศักดิ์ วิชาสวัสดิ์<sup>1\*</sup> วชิระวิชญ์ จารุพัฒนานวมิช <sup>2</sup> และ สิทธิชัย สิมมาลา<sup>2</sup>  
Jirasak Wichasawasdi<sup>1\*</sup>, Wachirawish Jarupattanavanish<sup>2</sup> and Sitthichai Simmala<sup>2</sup>

### บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลใน 3 รูปแบบ ได้แก่ ชนิดน้ำ ชนิดผง และชนิดเม็ด จากการทดสอบผลของสารอาหารพืชดังกล่าวที่มีต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง วางแผนการทดลองเปรียบเทียบ 2 สิ่งทดลองๆ ละ 16 ซ้ำๆ ละ 1 เมล็ด วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ T-test ปลูกทดสอบ นาน 17 วัน พบว่า สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ทั้ง 3 รูปแบบ ช่วยทำให้มีการเจริญเติบโตในด้านความสูงของต้น ทุกสิ่งทดลองทำให้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ใส่ปุ๋ย อินทรีย์ใดๆ

คำสำคัญ: สารอาหารพืช, น้ำมันปลาทะเล, ปุ๋ยอินทรีย์, ผักบุ้ง

### Abstract

This research aims to study the effect of nutrition from sea fish oil in 3 types (solution, powder, granular form) for the high of *Ipomoea aquatica* seedlings. The experimental design used a t-test (2 treatments, 16 replication/treatment, 1 seed/replication) for mean comparison for 17 days after growing. The result shows that nutrition from sea fish oil in 3 types can support the high of the stem. Two treatments (use and no-use plant nutrition) were significant when comparing mean analysis by statistical analysis.

**Keyword:** Plant-nutrition, Sea fish oil, Organic matter, *Ipomoea aquatica*

<sup>1\*</sup> สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร อำเภอละแม จังหวัดชุมพร 86170

<sup>2</sup> บริษัท อุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ (ประเทศไทย) จำกัด เลขที่ 1/1 หมู่ที่ 12 ตำบลบ้านเล่า อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ รหัสไปรษณีย์ 36000

\*Corresponding author, email: jirasuk.w@gmail.com



## บทนำ (Introduction)

ผักบุ้ง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ipomoea aquatica* Forssk. (ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Ipomoea reptans* Poir.) จัดอยู่ในวงศ์ผักบุ้ง CONVOLVULACEAE สำหรับคุณค่าโภชนาการ ในผักบุ้ง 100 กรัม จะให้พลังงาน 22 กิโลแคลอรี ประกอบด้วยเส้นใย วิตามิน และแร่ธาตุอื่น ๆ เช่น วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 ธาตุแคลเซียม ธาตุฟอสฟอรัส ธาตุเหล็ก เป็นต้น ผักบุ้งไทย มีวิตามินซีสูง และสรรพคุณทางยามากกว่าผักบุ้งจีน แต่ผักบุ้งไทยจะมีแคลเซียมและเบตาแคโรทีน (วิตามินเอที่ช่วยบำรุงสายตา) น้อยกว่าผักบุ้งจีน (Medthai, 2020)

ปุ๋ยอินทรีย์ธรรมชาติ หมายถึง ปุ๋ยที่มีส่วนประกอบเป็นสารอินทรีย์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิต ได้แก่ ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยคอกและปุ๋ยพืชสด ส่วนปุ๋ยอินทรีย์สังเคราะห์ หมายถึง ปุ๋ยที่มีส่วนประกอบเป็นสารอินทรีย์ซึ่งได้มาจากการสังเคราะห์โดยวิธีทางเคมี (Su-wan rit, 2007)

น้ำมันปลาที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการทำสารอาหารพืชฯ ในงานวิจัยนี้ จัดเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเลที่เป็นอาหารกระป๋อง โดยในขั้นตอนการอบย่างเนื้อปลา ได้มีน้ำมันปลาและเศษเนื้อปลาทะเลที่ผ่านความร้อนแล้ว ค้างติดอยู่ในระบบเครื่องจักร จากนั้นทางโรงงานได้ชะล้างเครื่องจักร แล้วนำเศษน้ำมันปลาทะเลเหล่านี้เพื่อกำจัดทิ้ง ในขณะที่เกษตรกรชาวสวนปาล์มน้ำมันจะขอแบ่งปันนำไปใช้รดต้นปาล์ม น้ำมัน ซึ่งเป็นภูมิปัญญาชาวบ้าน จากการสัมภาษณ์เกษตรกรในเบื้องต้นพบว่า การใช้ในสัดส่วนที่เหมาะสม ช่วยเพิ่มการเติบโตของต้นปาล์มน้ำมันได้ นอกจากนี้ นักเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ยังนำน้ำมันปลาทะเลไปเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์น้ำชนิดอัดเม็ดเพื่อเพิ่มรสชาติและแต่งกลิ่นอาหารให้กับอาหารปลาและสัตว์น้ำอีกด้วย

สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ได้รับอนุสิทธิบัตร เลขที่ 19204 ออกให้ ณ วันที่ 21 มกราคม 2565 โดย กรมทรัพย์สินทางปัญญา ซึ่งเป็นองค์ความรู้ในการผลิตสารอาหารช่วยบำรุงพืช โดยการผลิตสารอาหารได้ใช้กระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนโดยใช้เศษปลาที่ผ่านกระบวนการแปรรูปจากโรงงานอาหารกระป๋อง นำมาหมักร่วมกับน้ำมันปลาทะเล เติมนจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ (EM) กากน้ำตาล และสารอินทรีย์วัตถุอื่นๆ ที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการหมักปุ๋ย สำหรับสารอาหารพืชชนิดผง สูตรที่ 1 และ 2 และชนิดเม็ด เป็นการนำสารอาหารพืชชนิดน้ำมาเติมนจุลินทรีย์บางอย่างและทำรูปแบบให้เป็นปุ๋ยผง และรูปแบบปุ๋ยอัดเม็ดโดยเครื่องจักร ทั้งนี้เพื่อให้สะดวกต่อเกษตรกรผู้ใช้งาน

ในปัจจุบัน เกษตรกรโดยส่วนใหญ่ ยังไม่ค่อยมั่นใจในการทำเกษตรแบบอินทรีย์แบบ 100% โดยเฉพาะในพืชเศรษฐกิจ เช่น ทุเรียน มังคุด ปาล์มน้ำมัน ทั้งนี้ เกษตรกรยังต้องการให้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์สำหรับการปลูกพืชชนิดต่างๆ รวมทั้งการสร้างเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภค ดังนั้น คณะผู้วิจัย เห็นว่าควรมีการศึกษาผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลโดยทดสอบผลกับผักบุ้งซึ่ง ในที่นี้ใช้พืชผักบุ้งเป็นพืชต้นแบบกรณีศึกษา เนื่องจากเป็นพืชผักที่มีอายุสั้น ปลูกง่าย มีอายุเก็บเกี่ยวสั้น ทำให้ทราบผลการทดลองรวดเร็วกว่าพืชชนิดอื่น ซึ่งงานวิจัยนี้ จะใช้เป็นแนวทางในการถ่ายทอดองค์ความรู้การใช้ปุ๋ยอินทรีย์สู่ชุมชน ต่อไป

## วิธีการศึกษา (Materials and Methods)

1. ปลูกทดสอบผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลที่มีต่อการเจริญเติบโตของผักบุ้ง (ใช้ผักบุ้งเป็นพืชโมเดล) โดยเพาะเมล็ดผักบุ้ง จำนวน 4 กระถาง/ชุดทดลอง โดยใช้ดินผสม อัตราส่วนคือ ทราย: โคโคพีท: มูลไก่ (ชนิดผง) อัตราส่วน 5 : 2 : 1 ส่วน โดยปริมาตร แล้วหยอดเมล็ด เพาะเมล็ดจำนวน 16 เมล็ด/สิ่ง

ทดลอง ปลูกในกระถางพลาสติกสีดำ วางไว้ในสภาพกลางแจ้ง ณ ฟาร์มสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร เป็นเวลานาน 17 วัน ทดสอบในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึง ธันวาคม พ.ศ.2565 ให้อุ๋ย ทุกๆ 3 วัน ตามแผนการทดลองและรูปแบบชนิดปุ๋ย/สารอาหาร การทดลองประกอบด้วย 4 การทดลอง เพื่อแยก ประเด็นวิเคราะห์ตามรูปแบบชนิดปุ๋ยซึ่งมีส่วนประกอบของเนื้อปุ๋ยที่แตกต่างกัน โดยแต่ละการทดลอง วางแผนการ ทดลองแบบ T-Test มี 2 สิ่งทดลองๆ ละ 16 ซ้ำๆ ละ 1 เมล็ด ดังนี้

**การทดลองที่ 1** ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลชนิดน้ำ ที่มีต่อความ สูงของต้นกล้าผักบุ้ง ประกอบด้วยสิ่งทดลอง ดังนี้ สิ่งทดลองที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ สิ่งทดลองที่ 2 สารอาหารพืชที่มี ส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลชนิดน้ำ อัตราส่วน 20 ซีซี ต่อน้ำ 1 ลิตร รดปุ๋ย กระถางละ 100 มล.

**การทดลองที่ 2** ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดผง สูตรที่ 1 ที่มี ต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง ประกอบด้วยสิ่งทดลอง ดังนี้ สิ่งทดลองที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ สิ่งทดลองที่ 2 สารอาหาร พืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลชนิดผง สูตรที่ 1 อัตรา 20 กรัม/ลิตร รดปุ๋ย กระถางละ 100 มล.

**การทดลองที่ 3** ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดผง สูตรที่ 2 ที่มี ต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง ประกอบด้วยสิ่งทดลอง ดังนี้ สิ่งทดลองที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ สิ่งทดลองที่ 2 สารอาหาร พืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลชนิดผง สูตรที่ 2 อัตรา 20 กรัม/ลิตร รดปุ๋ย กระถางละ 100 มล.

**การทดลองที่ 4** ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล (ชนิดเม็ด) ที่มีต่อ ความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง ประกอบด้วยสิ่งทดลอง ดังนี้ สิ่งทดลองที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ สิ่งทดลองที่ 2 สารอาหารพืชที่ มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลชนิดเม็ด อัตรา 2 กรัม/กระถาง รดปุ๋ย กระถางละ 100 มล.

2. บันทึกผลการเปลี่ยนแปลง เช่น ความสูงต้นแบบรวมใบ พร้อมบันทึกภาพ เปรียบเทียบความแปรปรวนของ ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี T-test ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Sirichai statistic

### ผลการทดลอง (Results)

**การทดลองที่ 1** ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลชนิดน้ำที่มีต่อความสูงของต้น กล้าผักบุ้ง

จากการทดลองนี้ พบว่า สิ่งทดลองที่ทำให้ต้นผักบุ้ง มีความสูงมากที่สุด ได้แก่ สิ่งทดลองที่ 2 สารอาหาร พืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดน้ำ ทำให้มีความสูงของต้น เฉลี่ย 20.8 ซม. ซึ่งมีความแตกต่างกันทาง สถิติกับสิ่งทดลองที่ 1 การไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ (ชุดควบคุม) ทำให้มีความสูงเพียง 18.7 ซม. (Table 1, Figure 1)

**Table 1** High of *Ipomoea aquatica* seedling that gave sea-fish nutrition solution every 3 days for 17 days from planting.

Treatments	High (cm)
T1 = no nutrition (control)	18.7
T2 = added sea-fish nutrition solution	20.8
T-value	2.08
significant	*

\* = statistic significant at  $P < 0.05$  (compare mean using T-test method by Sirichai Statistic).

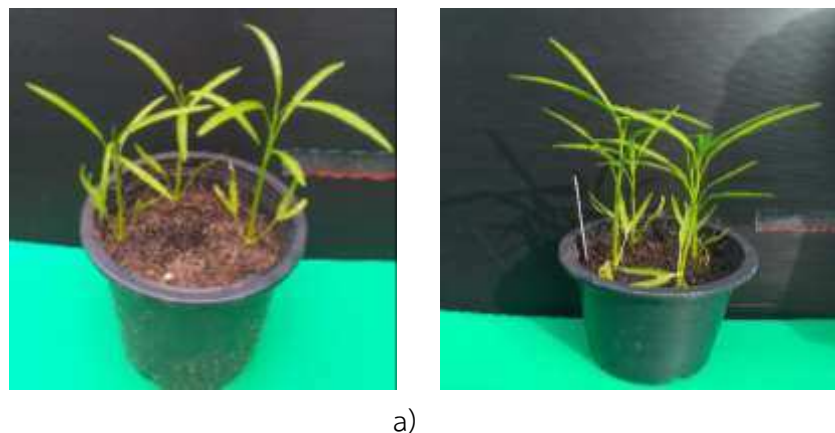


Figure 1 High of *Ipomoea aquatica* seedling that receive sea-fish nutrition solution for 17 days. a) control (no nutrition) b) added sea-fish nutrition solution treatment

**การทดลองที่ 2** ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดผง สูตรที่ 1 ที่มีต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง

จากการทดลองนี้ พบว่า สิ่งทดลองที่ทำให้ต้นผักบุ้ง มีความสูงมากที่สุด ได้แก่ สิ่งทดลองที่ 2 สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดผง สูตรที่ 1 ทำให้มีความสูงของต้น เฉลี่ย 23.3 ซม. ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสิ่งทดลองที่ 1 การไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ (ชุดควบคุม) ทำให้มีความสูงเพียง 18.7 ซม. (Table 2, Figure 2)

**Table 2** High of *Ipomoea aquatica* seedling that gave sea-fish nutrition powder formular-1 every 3 days for 17 days from planting.

Treatments	High (cm)
T1 = no nutrition (control)	18.7
T2 = added sea-fish nutrition powder ormular-1	23.3
T-value	4.33
significant	**

\*\* = statistic highly significant at  $P < 0.05$  (compare mean using T-test method by Sirichai Statistic).



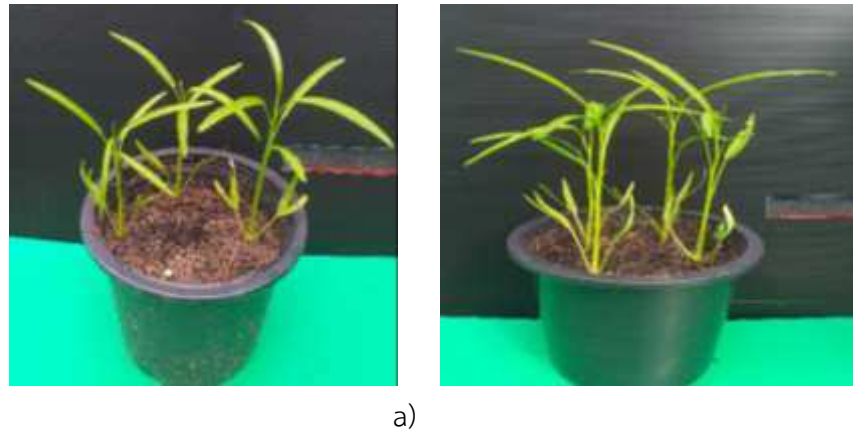


Figure 2 High of *Ipomoea aquatica* seedling that receive sea-fish nutrition powder formular-1 for 17 days. a) control (no nutrition) b) sea-fish nutrition powder formular-1 treatment.

**การทดลองที่ 3** ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดผง สูตรที่ 2 ที่มีต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง

จากการทดลองนี้ พบว่า สิ่งทดลองที่ทำให้ต้นผักบุ้ง มีความสูงมากที่สุด ได้แก่ สิ่งทดลองที่ 2 สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดผง สูตรที่ 1 ทำให้มีความสูงของต้น เฉลี่ย 28.3 ซม. ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสิ่งทดลองที่ 1 การไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ (ชุดควบคุม) ทำให้มีความสูงเพียง 18.7 ซม. (Table 3, Figure 3)

**Table 3** High of *Ipomoea aquatica* seedling that gave sea-fish nutrition powder formular-2 every 3 days for 17 days from planting.

Treatments	High (cm)
T1 = no nutrition (control)	18.7
T2 = added sea-fish nutrition powder formular-2	28.3
T-value	9.06
significant	**

\*\* = statistic highly significant at  $P < 0.05$  (compare mean using T-test method by Sirichai Statistic).





a)

b)

Figure 3 High of *Ipomoea aquatica* seedling that receive sea-fish nutrition powder formular-2 for 17 days. a) control (no nutrition) b) sea-fish nutrition powder formular-2 treatment.

**การทดลองที่ 4** ผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดเม็ด ที่มีต่อความสูงของต้นกล้าผักบุ้ง

จากการทดลองนี้ พบว่า สิ่งทดลองที่ทำให้ต้นผักบุ้ง มีความสูงมากที่สุด ได้แก่ สิ่งทดลองที่ 2 สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดเม็ด ทำให้มีความสูงของต้น เฉลี่ย 22.2 ซม. ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสิ่งทดลองที่ 1 การไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ (ชุดควบคุม) ทำให้มีความสูงเพียง 18.7 ซม. (Table 4, Figure 4)

**Table 4** High of *Ipomoea aquatica* seedling that gave sea-fish nutrition granular every 3 days for 17 days from planting.

Treatments	High (cm)
T1 = no nutrition (control)	18.7
T2 = added sea-fish nutrition granular	22.2
T-value	2.78
significant	**

\*\* = statistic highly significant at  $P < 0.05$  (compare mean using T-test method by Sirichai Statistic).



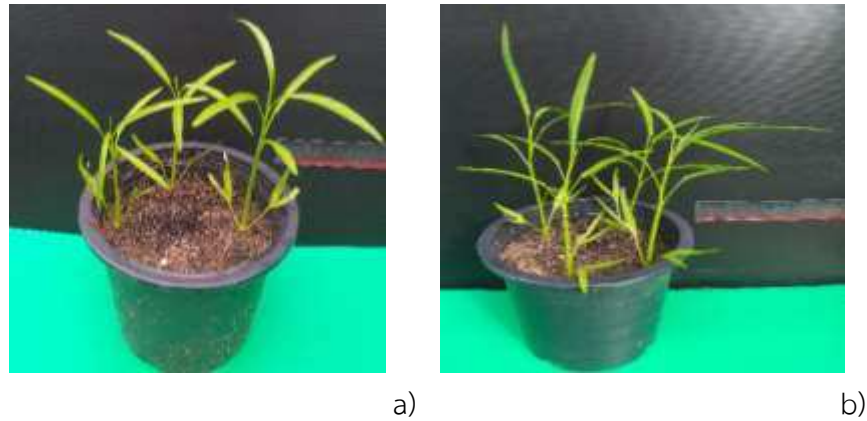


Figure 4 High of *Ipomoea aquatica* seedling that receive sea-fish nutrition granular for 17 days. a) control (no nutrition) b) sea-fish nutrition granular treatment.

### วิจารณ์ (Discussion)

จากการทดลองนี้ สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ทำให้มีผลต่อความสูงของต้นผักบุ้งที่ ดีกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ เนื่องจากสารอาหารพืชนี้ มีส่วนผสมของเศษเนื้อปลาทูน่าซึ่งเนื้อปลาทะเลเป็นอินทรีย์วัตถุที่มีโปรตีนซึ่งโปรตีนเป็นสารที่ให้ธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจน โดยธาตุไนโตรเจนมีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตทางใบ ซึ่งสารอาหารพืชดังกล่าวนี้มีเศษเนื้อปลา สอดคล้องกับการผลิตปุ๋ยน้ำหมักปลา ซึ่งมีรายงานว่า ปุ๋ยน้ำหมักใช้วัตถุดิบ เช่น เศษอาหารในครัวเรือน เนื้อหอยเชอรี่หรือจากเศษซากพืชหรืออินทรีย์วัตถุอื่นๆ ที่มีองค์ประกอบของโปรตีนและเซลล์โลสที่พืชนำไปใช้ได้บ้างหรือใช้ไม่ได้ โดยนำมาหมักปุ๋ยโดยใช้จุลินทรีย์เป็นตัวย่อยสลายสารอินทรีย์ เพื่อให้ได้ปุ๋ยที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ สำหรับวัตถุดิบที่ใช้ทำปุ๋ยน้ำหมักที่เป็นโปรตีน เมื่อเกิดการย่อยสลายจะได้ธาตุไนโตรเจน ในปริมาณค่อนข้างสูง (The Department of Science Service, 2022)

จากการทดลองนี้ การใส่ปุ๋ยในรูปแบบผงและเม็ด จะมีประสิทธิภาพดีว่าการใช้ในรูปแบบสารละลาย อาจ เนื่องจาก การใช้สารอาหารพืชที่เป็นสารละลาย ทำให้ธาตุอาหารซึมผ่านลงไปดินหรือวัสดุปลูกได้ไวกว่าแบบ สารอาหารในรูปแบบชนิดเม็ดซึ่งคงมีบางส่วนที่ละลายน้ำได้อย่างช้าๆ จึงอาจทำให้การเติมสารอาหารชนิดน้ำมี ประสิทธิภาพน้อยกว่ารูปแบบอื่นๆ การใช้สารอาหารในรูปแบบผงและเม็ดยังทำให้ความสูงต้นที่ดี มีธาตุอาหาร ปลดปล่อยอย่างช้าๆ

สำหรับ สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบน้ำมันปลาทะเลนี้ ได้ผ่านกระบวนการหมักปุ๋ยแบบไม่ใช้ออกซิเจน เนื่องจากน้ำมันปลาที่เติมเข้าไปในขั้นตอนหมัก มีไขมันปะปน ทำให้สารละลายที่หมักนั้นมีออกซิเจนต่ำทำให้หมัก เศษเนื้อปลาให้ย่อยสลายได้รวดเร็วโดยจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจน อย่างไรก็ตาม อาจเติมอากาศเข้าไปเพิ่มเติม ในถังหมัก หลังจากหมักไปได้ 1-2 เดือนแล้ว เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักปุ๋ยมากขึ้น มีรายงาน Yamada & Kawase (2006) ได้อธิบายปัจจัยที่มีต่อการหมักปุ๋ย ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่าง kinetic ของกิจกรรมจุลินทรีย์ และออกซิเจนในกระบวนการหมักปุ๋ย อัตราการเติมอากาศ อัตราส่วนผสมของวัตถุดิบ และความสูงของกองปุ๋ย หมัก ดังนั้น หากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักปุ๋ยชนิดน้ำ ควรมีการเติมอากาศโดยใช้แอร์บีม สอดคล้องกับ Sa-waang bpan-yang-goon (2003) กล่าวว่า การเติมอากาศทำให้จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศมีปริมาณมากขึ้นจึง

ช่วยให้เกิดการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุมากขึ้น และสอดคล้องกับ Rat an-wa raa ha, C. (n.d.) กล่าวว่า ขบวนการย่อยอินทรีย์วัตถุจะเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศเป็นส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตามสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลนั้น ทั้งในชนิดน้ำ ผง และเม็ด นอกจากนี้ใช้ในพืชผักล้มลุกแล้ว อาจนำไปใช้ในพืชผัก พืชทั่วไป ไม้ดอกไม้ประดับ พืชไร่ พืชสวน เช่น ข้าว ข้าวโพด ดาวเรือง เบญจมาศ ทูเรียน ปาล์มน้ำมัน เป็นต้น ซึ่งในอนาคต ควรต้องมีการวิจัยเรื่องอัตราส่วนที่ใช้ ชนิดพืชที่ใช้ ต้นทุนการผลิตปุ๋ย เป็นต้น

### สรุป (Conclusions)

1. การให้สารอาหารพืชในรูปแบบชนิดน้ำ พบว่า การใช้สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดน้ำ ทำให้ผักบุงมีความสูงของต้น มากที่สุด เฉลี่ย 20.8 ซม. ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับการไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ
2. การใช้สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดผง สูตรที่ 1 ทำให้ผักบุงมีความสูงของต้น มากที่สุด เฉลี่ย 23.3 ซม. ซึ่งทำให้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ
3. การใช้สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล ชนิดผง สูตรที่ 2 ทำให้ผักบุงมีความสูงของต้น มากที่สุด เฉลี่ย 28.3 ซม. ซึ่งทำให้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ
4. การใช้สารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเล (ชนิดเม็ด) ช่วยทำให้ผักบุงมีความสูงของต้น มากที่สุด เฉลี่ย 22.2 ซม. ซึ่งทำให้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการไม่ใส่ปุ๋ยใดๆ

### กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgment)

บทความวิจัยนี้ เป็นส่วนหนึ่งของบทความโครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาผลของสารอาหารพืชที่มีส่วนประกอบของน้ำมันปลาทะเลที่มีต่อการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด (Effect of nutrition from sea fish oil for plant growth on some crop species) รหัสวิจัย OT-66-005 โดยใช้งบประมาณส่วนตัว ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร ที่ได้สนับสนุนสถานที่ทำวิจัย ขอขอบคุณ บริษัท อุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ (ประเทศไทย) จำกัด ที่ได้ร่วมสนับสนุนผู้ช่วยวิจัยและวัสดุอุปกรณ์ในการวิจัยนี้

### เอกสารอ้างอิง (References)

- Medthai. (2022, November 14). *Ipomoea aquatica* Forsk, properties and benefit.  
<https://medthai.com/ipomoea/>. (in Thai)
- Rat an-wa raa ha, C. (n.d.). Organic farming. Biotechnology research and development office. Department of Agriculture. 229 p. (in Thai)
- Sa-waang bpan-yang-goon, T. (2003). Fertilizer composting in the aeration pile system for the production of industrial compost for the community. Department of agricultural engineering and food. Faculty of engineering and agriculture industry, Maejo University. 17 p. (in Thai)
- Su-wan rit, A. (2007). The truth about fertilizers. Journal of Soil and Fertilizer. 29(3), 89-99. (in Thai)





The Department of Science Service. (2022, November 20). The problem of Bioextract.

[http://siweb1.dss.go.th/qa/search/search\\_description.asp?QA\\_ID=62](http://siweb1.dss.go.th/qa/search/search_description.asp?QA_ID=62). (in Thai)

Yamada, Y., & Kawase, Y. (2006). Aerobic composting of waste activated sludge: Kinetic analysis for microbiological reaction and oxygen consumption. *Waste management*, 26(1), 49-61.



## โครโมโซม: สัญญาณเบื้องต้นในการกำหนดเพศแมลง Chromosomes: Primary Signals of Insect Sex Determination

ธนเสฏฐ์ ทองใสเกลี้ยง  
Thanaset Thongsaiklaing

### บทคัดย่อ

การกำหนดเพศในแมลงมีความหลากหลายสูงมาก ในบทความนี้จะกล่าวถึงกระบวนการกำหนดเพศขั้นต้นที่ทำให้แมลงพัฒนาเป็นเพศผู้และเพศเมีย มีหลายรูปแบบส่วนมากเกิดจากการมีโครโมโซมเพศที่แตกต่างกัน ในแมลงที่เพศผู้โครโมโซมเพศสองแท่งไม่เหมือนกัน แต่ในเพศเมียมีโครโมโซมเพศสองแท่งเหมือนกัน เรียกรูปแบบโครโมโซมเพศแบบนี้ว่า Male heterogametic sex แต่ถ้าโครโมโซมเพศของเพศเมียแตกต่างกัน ส่วนในเพศผู้โครโมโซมเพศเหมือนกัน จะเรียกโครโมโซมเพศแบบนี้ว่า Female heterogametic sex แมลงบางชนิดแม้เพศผู้กับเพศเมียจะมีโครโมโซมเพศแตกต่างกัน แต่การกำหนดเพศกับขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างจำนวนโครโมโซม X กับจำนวนชุดของโครโมโซมร่างกาย เรียกการกำหนดเพศแบบนี้ว่า Genetic balance ในแมลงส่วนใหญ่ของอันดับ Hymenoptera เพศผู้กับเพศเมียมีจำนวนชุดของโครโมโซมแตกต่างกัน เรียกว่า Haplodiploidy โดยเพศเมียมีโครโมโซม 2 ชุด (diploid, 2n) ส่วนเพศผู้มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (haploid, n) พัฒนามาจากไข่ที่ไม่ได้รับการผสม นอกจากนี้ในแมลงหายากบางชนิดเพศเมียสามารถให้กำเนิดลูก จากไข่ที่ไม่ได้รับการผสม และลูกทั้งหมดจะเป็นเพศเมียที่มีโครโมโซมเป็น diploid (2n) เรียกแบบนี้ว่า Thelytokous parthenogenesis เกิดจากกระบวนการทางเซลล์ และอิทธิพลของแบคทีเรีย Wolbachia

**คำสำคัญ:** โครโมโซม สัญญาณเบื้องต้น การกำหนดเพศ แมลง

---

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพและอนุชีววิทยา กลุ่มสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์  
Biotechnology and Molecular Biology Laboratory (BMBL), Division of Animal Science, Faculty of Agriculture  
Princess of Naradhiwas University  
Corresponding author: thanasetfdr@gmail.com

## Abstract

Sex determination of insects is really high diversity. Here, only primary signals for determining insects developing into females and males are addressed. The primary signals are also diverse mechanisms. Most mechanisms are depended on the difference in sex chromosomes. Male heterogametic sex refers to insects with heterogametic sex chromosomes in males whereas females have homogametic sex chromosomes. On the contrary, in female heterogametic sex, females enclose heterogametic sex chromosomes whereas males comprise homogametic sex chromosomes. In some species, even if their sex chromosomes are male heterogametic sex but their sex is determined by the ratio between the number of X chromosome and the set of autosome, called genetic balance. In most of Hymenopteran insects, male and female insects harbor different chromosome set, called haplodiploidy. Female insects have two sets of chromosomes (diploid,  $2n$ ) while male insects contain only one set of chromosomes (haploid,  $n$ ), developing from unfertilized eggs. This sex determination is called haplodiploidy. Moreover, some rare insects can produce offspring from unfertilized eggs and all offspring are diploid ( $2n$ ) females, called thelytokous parthenogenesis, caused by cytogenetic mechanism and the influence of Wolbachia bacteria.

**Keyword:** Chromosome, Primary signal, Sex determination, Insect

## บทนำ (Introduction)

แมลงเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตชั้นสูงที่มีจำนวนมากที่สุด มีความหลากหลายในจำนวนชนิดมากที่สุด การกำหนดเพศในแมลงก็มีความหลากหลายมากเช่นกัน ส่วนใหญ่แมลงแต่ละชนิดมีสองเพศคือ เพศผู้กับเพศเมีย จากการศึกษาการกำหนดเพศในแมลงหลากหลายชนิดพบว่า กระบวนการกำหนดเพศจะแบ่งเป็นสองขั้นตอนใหญ่ๆ ขั้นตอนแรก (Primary signals) ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับโครโมโซมเพศ ที่แตกต่างกันระหว่างเพศ (Kaiser & Bachtrog 2010; Blackmon et al., 2017) ขั้นตอนต่อมาจะเป็นการศึกษาในระดับโมเลกุล ในบทความนี้จะกล่าวถึงเฉพาะกระบวนการกำหนดเพศขั้นแรกเท่านั้น

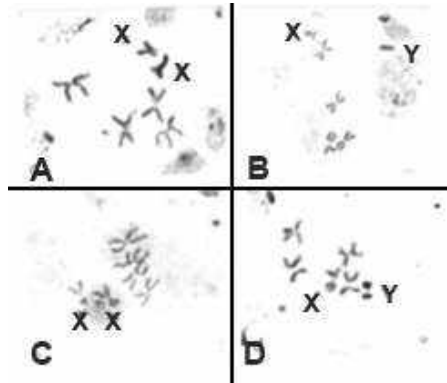
### การกำหนดเพศด้วยความแตกต่างของโครโมโซมเพศ

สิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอตส่วนใหญ่รวมทั้งแมลงจะมีโครโมโซมเป็นเลขคู่ โดยโครโมโซมจะเหมือนกันเป็นคู่ ๆ ยกเว้นโครโมโซมเพศ โดยในเพศผู้กับเพศเมียจะมีโครโมโซมร่างกาย (autosome) เหมือนกัน แต่มีโครโมโซมเพศแตกต่างกัน สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

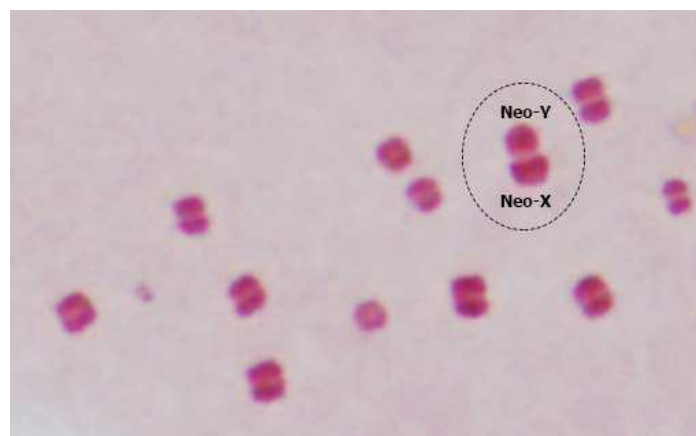
1. **Male heterogametic sex** รูปแบบนี้เพศผู้จะมีโครโมโซมเพศแตกต่างกัน ส่วนเพศเมียจะมีโครโมโซมเพศเหมือนกัน ในรูปแบบนี้โครโมโซมเพศจะใช้ X และ Y แทนโครโมโซมเพศ รูปแบบโครโมโซมเพศแบบนี้ มี 3 แบบ คือ



1.1 แบบ XX – XY เพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น XX ส่วนเพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็น XY โครโมโซมเพศแบบนี้พบในแมลงหลายชนิด เช่น แมลงในอันดับ Diptera ได้แก่ แมลงวัน แมลงวันทอง ยุง (*Anopheles indefinites*) (Figure 1) (Intarajaroensak, 1981) แมลงบางชนิดในอันดับ Hemiptera เช่น มวน แมลงดานา (*Lethocerus indicus*) โครโมโซมเพศของแมลงดานาในประเทศไทยจะแตกต่างจากแมลงดานาของแถบอเมริกา คือโครโมโซมเพศจะเกิดการเชื่อมต่อกับโครโมโซมร่างกายคู่หนึ่ง เรียกโครโมโซมเพศแบบนี้ว่า neo-XX ในเพศเมีย และเรียกโครโมโซมเพศผู้ว่า neo-XY (Wisorum et al., 2013) (Figure 2)



**Figure 1** Chromosome of mosquito (A-B) Chromosome of *A. indefinites* ( $2n = 6$ ) (A) Female chromosome ( $2n = 4A + XX$ ) (B) Male chromosome ( $2n = 4A + XY$ ) (C-D) Chromosome of *A. vagas* ( $2n = 6$ ) (C) Female chromosome ( $2n = 4A + XX$ ) (D) Male chromosome ( $2n = 4A + XY$ )  
**Source:** Intarajaroensak (1981)

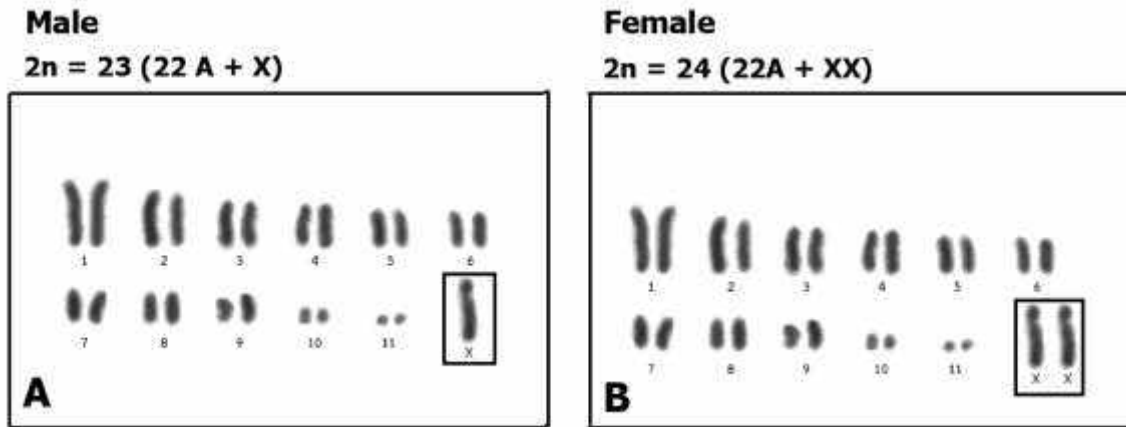


**Figure 2** Male chromosome of *L. indicus* in bivalent metaphase 1, neo-X chromosome and neo-Y chromosome (circle)

**Source:** Wisorum et al. (2013)

1.2 แบบ XX–XO โครโมโซมเพศแบบนี้ พบในแมลงอันดับ Hemiptera ได้แก่ มวนบางชนิด และแมลงในอันดับ Orthoptera ได้แก่ แมลงสาบ ตั๊กแตน จิ้งหรีด โดยเพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น XX ส่วนเพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็น XO คือ มีโครโมโซม X เพียงแท่งเดียว ดังนั้นในแมลงเหล่านี้เพศผู้มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่าเพศเมีย 1 แท่งเช่น ตั๊กแตนกลุ่ม *Schistocerca* โดยเพศเมียมีโครโมโซม  $2n = 24$  เพศผู้มีโครโมโซม  $2n = 23$  (Husemann et al., 2022) ตัวอย่างเช่น ตั๊กแตนหนวดยักษ์ไฮโรไกลฟัส (*Hieroglyphus banian*) (Figure 3)

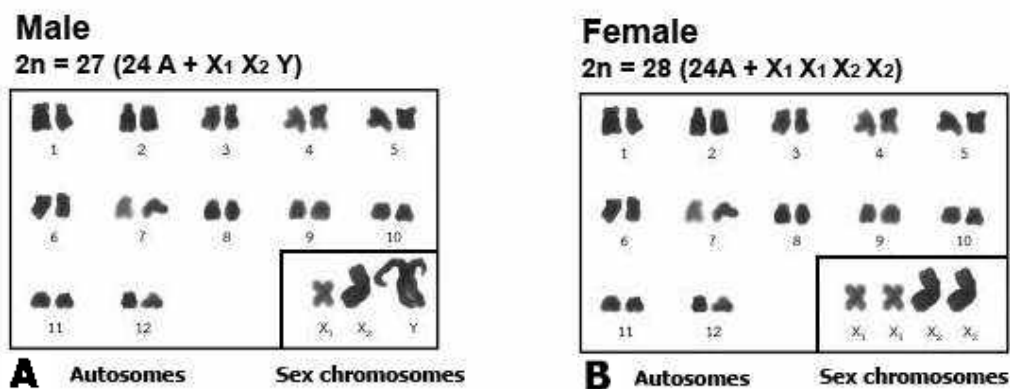




**Figure 3** Karyotype of *H. banian* (A) Male karyotype ( $2n = 23$ ) consist of 22 autosomes and 1 sex chromosome (X) (B) Female karyotype ( $2n = 24$ ) consist of 22 autosomes and 2 sexes chromosomes (XX)

**Source:** Phimphan & Aiumsumang (2022)

1.3 แบบ ข Multiple sex chromosome ( $X_nX_n/X_nY$ ,  $XX/XY_n$ ,  $X_nX_n/X_nO$ ,  $X_nY_n$ ) โครโมโซมเพศแบบนี้ โครโมโซม X หรือ โครโมโซม Y มีมากกว่า 1 แห่ง พบในแมลงบางชนิดในอันดับ Hemiptera เช่น Assassin bug (*Fitchia spinulosa*) เพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น  $X_1X_1X_2X_2$  ส่วนเพศผู้เป็น  $X_1X_2Y$  ในกลุ่มมวน Coreidae โครโมโซมในเพศเมียเป็น  $X_1X_1X_2X_2$  ในเพศผู้เป็น  $X_1X_2O$  ใน *Cryptostemma pusillinum* โครโมโซมเพศเมียเป็น XX เพศผู้เป็น  $XY_1Y_2$  และ ในอันดับ Orthoptera เช่น ตั๊กแตนตำข้าว ยุโรป (*Mantis religiosa siedleckii* (Linnaeus, 1758) เพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น  $X_1X_1X_2X_2$  ในเพศผู้เป็น  $X_1X_2Y$  (Patawang & Tanomtong, 2019) (Figure 4)



**Figure 4** karyotype of *M. religiosa siedleckii* (A) Male chromosome ( $2n = 27$ ) consist of 24 autosomes and 3 sex chromosomes (two X chromosome ( $X_1$ ,  $X_2$ ) and Y chromosome) (B) Female karyotype ( $2n = 28$ ) consist of 24 autosomes and 4 sex chromosomes ( $X_1 X_1 X_2 X_2$ )

**Source:** Patawang & Tanomtong (2019)



2. Female heterogametic sex รูปแบบนี้เพศเมียจะมีโครโมโซมเพศแตกต่างกัน ส่วนเพศผู้มีโครโมโซมเพศเหมือนกัน โดยใช้ Z แทนโครโมโซมเพศที่พบในทั้งสองเพศ และใช้ W แทนโครโมโซมเพศที่พบเฉพาะในเพศเมีย การกำหนดเพศรูปแบบนี้มี 3 แบบ ดังนี้

2.1 แบบ ZZ – ZW พบในแมลงอันดับ Lepidoptera ได้แก่ ไหม ผีเสื้อ เพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น ZW ส่วนเพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็น ZZ

2.2 แบบ ZZ-ZO เพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็น ZZ ส่วนเพศเมียมีโครโมโซมเพศ ZO การกำหนดเพศแบบนี้พบในแมลงอันดับ Lepidoptera เช่น ไหมป่า *Antheraea asama* และ แมลงอันดับ Trichoptera (Traut et al., 2008, Sahara et al., 2012)

2.3 แบบ multiple sex chromosome ( $Z_1Z_1Z_2Z_2/W$   $Z_1Z_2$ ,  $ZZ/W_1W_2Z$ ) โครโมโซมเพศแบบนี้พบในแมลงอันดับ Lepidoptera บางชนิด ตัวอย่างเช่น *Samia cynthia* เพศเมียมีโครโมโซม  $2n = 25$  ประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย 22 แท่ง และมีโครโมโซมเพศ  $W/Z_1Z_2$  ส่วนเพศผู้มีโครโมโซม  $2n = 26$  ประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย 22 แท่ง และมีโครโมโซมเพศ  $Z_1Z_1Z_2Z_2$  ในแมลง *Orgyia thyellina* เพศเมียมีโครโมโซม  $2n = 23$  ประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย 20 แท่ง โครโมโซมเพศ  $W_1W_2Z$  ส่วนเพศผู้มีโครโมโซม  $2n = 22$  ประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย 20 แท่งและมีโครโมโซมเพศเป็น ZZ (Traut et al., 2008; Sahara et al., 2012)

### การกำหนดเพศด้วยจำนวนชุดของโครโมโซม (Haplodiploidy)

ความแตกต่างของจำนวนชุดโครโมโซมทำให้เกิดเพศแตกต่างกันสามารถเกิดขึ้นได้ในหลายกรณี

1. เกิดจากเซลล์สืบพันธุ์ได้รับปฏิสนธิหรือไม่ โครโมโซมเพศแบบนี้พบในแมลงอันดับ Hymenoptera เช่น ผึ้ง ต่อ แตน มด แมลงในกลุ่มนี้ เพศเมียเกิดจากไข่ที่ได้รับการผสมกับสเปิร์ม ได้ไซโกตที่มีโครโมโซมเป็น 2 ชุด (diploid,  $2n$ ) และพัฒนาเป็นเพศเมีย ส่วนเพศผู้มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (haploid,  $n$ ) เกิดจากเซลล์สืบพันธุ์ไม่ได้รับการปฏิสนธิกับสเปิร์ม (Figure 5) ตัวอย่าง โครโมโซมของมดแดง (Figure 6)



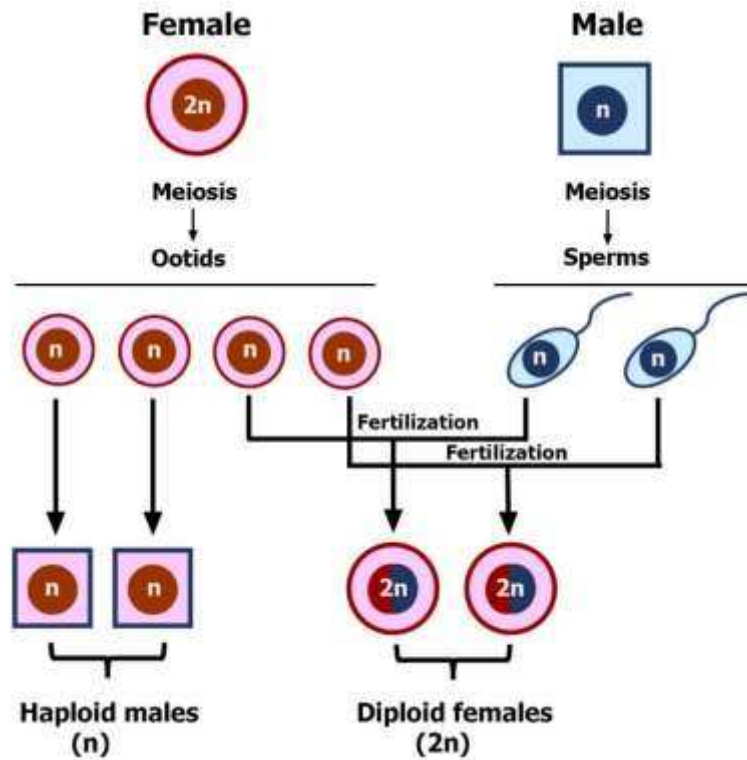


Figure 5 Sex determination of chromosome number (Haplodiploidy), In male develop from unfertilized egg (Haploid, n) and female develop from fertilized egg (Diploid, 2n)

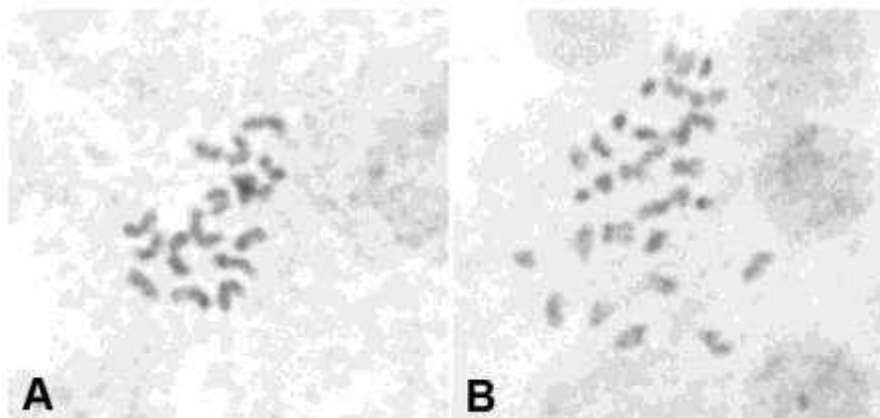


Figure 6 Chromosome of red ant (A) Male chromosome (n = 16) (B) Female chromosome (2n=32)



2. Paternal genome elimination (PGE) การกำหนดเพศที่แตกต่างกันเกิดจากการกำจัดโครโมโซมที่จากพ่อทิ้งไปทั้งหมดหรือโครโมโซมที่มาจากพ่อทั้งหมดเกิดการหดตัวเป็น เฮเทโรโครมาทิน (Heterochromatin) ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ เรียกว่าวิธีการแบบนี้ว่า Paternal genome elimination การกำหนดเพศแบบนี้ พบในแมลงกลุ่ม coccids (scale insects) เช่น เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย จัดอยู่ในอันดับย่อย Homoptera ของอันดับ Hemiptera ส่วนใหญ่โครโมโซมเพศในแมลงกลุ่มนี้เป็นแบบ XX-XO ในแมลงกลุ่มเพลี้ยแป้ง (Lecanoid) เช่น *Planococcus citri*, *Pseudococcus nipae*, แมลงครั่ง (lac insect, *Kerria lacca*) เมื่อเกิดการปฏิสนธิระหว่างไข่กับสเปิร์มแล้ว ไซโกตได้รับโครโมโซมมาจากพ่อและแม่ ถ้าโครโมโซมที่ได้รับมาจากพ่อเป็นยูโครโมติน (Euchromatin) ทั้งหมด นั่นคือโครโมโซมทั้งหมดสามารถทำงานได้ ไซโกตจะเจริญไปเป็นเพศเมีย แต่ถ้าโครโมโซมที่มาจากพ่อทั้งหมดเกิดการหดตัวไม่ทำงานกลายเป็นเฮเทโรโครมาทิน จะทำให้ไซโกตนี้จะเจริญไปเป็นเพศผู้ ดังนั้นในเพศเมียจะมีโครโมโซมที่ทำงานได้ 2 ชุด ส่วนในเพศผู้แม้จะมีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด แต่มีโครโมโซมที่ทำงานได้เพียงชุดเดียว (Figure 7) ตัวอย่าง โครโมโซมของเพลี้ยแป้งมะเขือ (Figure 8) ส่วนในแมลงพวกเพลี้ยหอย (Diaspidiod coccids) แม้การกำหนดเพศเป็นแบบ Haplodiploidy เมื่อเกิดการปฏิสนธิได้ไซโกต ถ้าโครโมโซมที่ได้รับมาจากพ่อและแม่ สามารถทำงานได้ทั้งหมด จะทำให้ไซโกตนี้พัฒนาเป็นเพศเมีย ขณะที่ในตัวอ่อนที่จะพัฒนาไปเป็นเพศผู้ โครโมโซมที่ได้รับมาจากพ่อ (Paternal genome) จะถูกกำจัดทิ้งไปทั้งหมด ส่วนโครโมโซมที่มาจากแม่ทั้งชุดยังคงทำงานได้ (Figure 9)

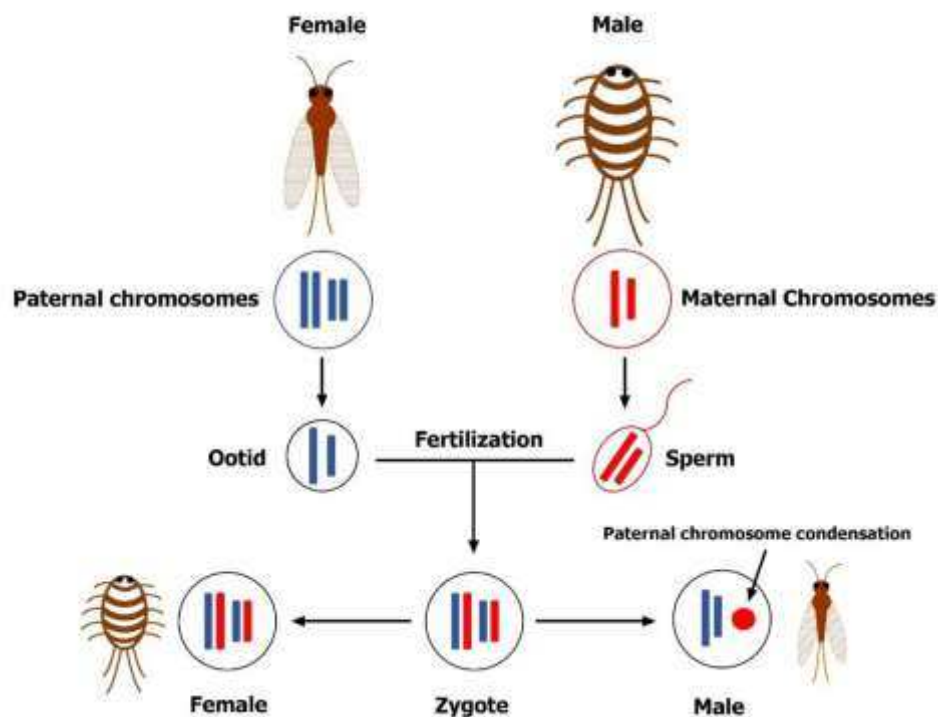
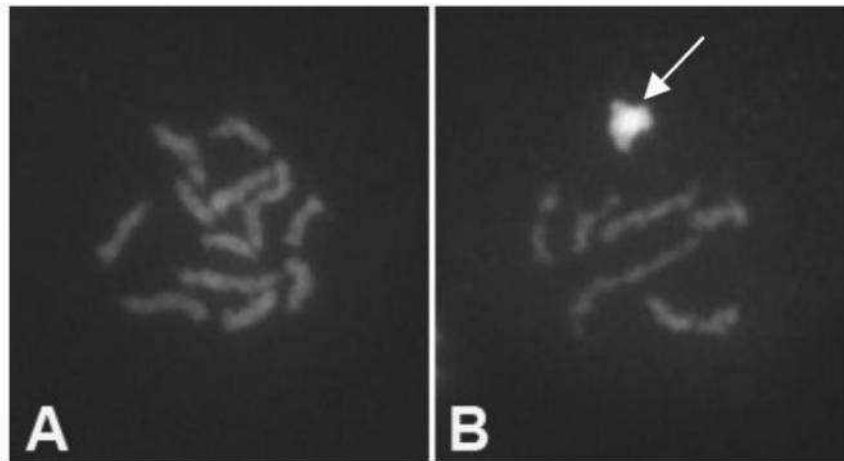


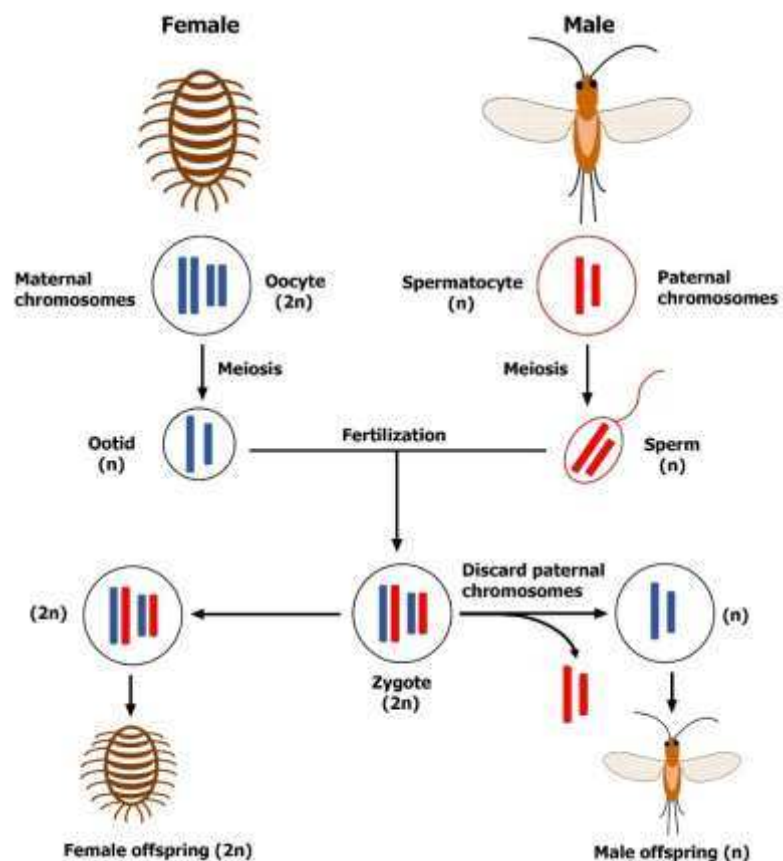
Figure 7 Sex determination of lecanoid







**Figure 8** Chromosome of *Coccidohystrix insolota* (A) 12 Heterochromatin chromosomes of female (B) 6 Euchromatin chromosomes and 6 Heterochromatin chromosomes (arrow)



**Figure 9** Sex determination of Diaspidiod coccids, All normal zygotic chromosome develop to female offspring, While paternal chromosome is elimination develop to male offspring (Female chromosome – blue colour, Male chromosome – red colour)



### การกำหนดเพศด้วยอัตราระหว่างจำนวนโครโมโซม X ต่อจำนวนชุดของโครโมโซม

ในแมลงหวี่ *Drosophila melanogaster* แม้จะมีโครโมโซมเพศแบบ male heterogametic sex แต่การกำหนดเพศก็ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างจำนวนโครโมโซม X กับจำนวนชุดของออโทโรโซม (X/A) ถ้าอัตราส่วนระหว่าง X/A เท่ากับ 1 แมลงจะเป็นเพศเมีย แต่ถ้าอัตราส่วน X/A เท่ากับ 0.5 แมลงจะเป็นเพศผู้ แมลงหวี่จะมีลักษณะของเพศผู้และเพศเมียปนกันเรียกว่า intersex ถ้าอัตราส่วนมากกว่า 1 จะเป็นตัวเมียและเป็นหมัน เรียกว่า superfemale แต่ถ้าน้อยกว่า 0.5 จะเป็นตัวผู้และเป็นหมันเรียกว่า supermale (Table 1) จะเห็นว่าโครโมโซม Y ของแมลงหวี่ไม่มีความสำคัญในการกำหนดเพศ แต่จะเกี่ยวกับความสมบูรณ์พันธุ์ของตัวผู้ เช่น แมลงหวี่ที่มีโครโมโซมเป็น AAXO จะพัฒนาไปเป็นเพศผู้แต่จะเป็นหมัน

Table 1 X/A ratio of sex determination in insect

Sex chromosome	X:A ratio	Sex
AAXXX	$3X/2A = 1.5$	superfemale
AAAXX	$3X/3A = 1.0$	infertile female
AAXXY	$2X/2A = 1.0$	female
AAXX	$2X/2A = 1.0$	female
AAAX	$3X/2A = 0.6$	intersex
AAAXY	$3X/2A = 0.6$	intersex
AAXY	$1X/2A = 0.5$	male
AAXO	$1X/2A = 0.5$	infertile male
AAAXY	$1X/3A = 0.3$	supermale

### Thelytokous parthenogenesis

Thelytokous parthenogenesis แม้จะไม่ใช้การกำหนดเพศโดยตรง แต่ผลจากกระบวนการนี้ทำให้ลูกที่ได้ทั้งหมดเป็นเพศเมียและมีโครโมโซมเป็น diploid (2n) Parthenogenesis เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยเพศเมียสร้างเซลล์ไข่ (Ootid) ที่มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (haploid, n) ถ้าเซลล์ไข่สามารถพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยโดยไม่ได้รับการปฏิสนธิกับสเปิร์ม เซลล์ไข่นี้จะเจริญไปเป็นเพศผู้ แต่ถ้าเซลล์ไข่ได้รับการปฏิสนธิกับสเปิร์มจะพัฒนาไปเป็นเพศเมีย ส่วนใหญ่จะพบในแมลงอันดับ Hymenoptera เช่น ผึ้ง ต่อ แตน มด โดยเซลล์ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิกับสเปิร์มจะพัฒนาไปเป็นเพศเมียที่มีโครโมโซมเป็น diploid, 2n ส่วนเซลล์ไข่ที่ไม่ได้รับการผสมจะเจริญเป็นเพศผู้ที่มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (n) เรียก การเกิด Parthenogenesis แบบนี้ว่า Arrhenotokous parthenogenesis (Figure 10) ส่วน parthenogenesis ที่สมบูรณ์ ที่เรียกว่า Thelytokous parthenogenesis กระบวนการนี้เซลล์ไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ จะเจริญไปเป็นเพศเมียที่มีโครโมโซมเป็น diploid (2n) แม้จะเป็นกระบวนการที่พบยากแต่ก็พบในสัตว์ประมาณ 1,500 ชนิด รวมทั้งในแมลงด้วย โดยเฉพาะแมลงในอันดับ Hymenoptera พบมากที่สุด การเกิด Thelytokous parthenogenesis เกิดจาก 2 กระบวนการ ได้แก่ กระบวนการทางเซลล์ (Cytoplasmic mechanism) และเกิดจากอิทธิพลของ



แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในไซโทพลาสซึมของแมลง (Endosymbiotic bacteria) (Stouthamer & Kazmer 1994; Rabeling & Kronauer 2013)

กระบวนการทางเซลล์ (Cytoplasmic mechanism) ในแมลงสายพันธุ์ที่มีเกิดการสืบพันธุ์แบบ Thelytokous parthenogenesis เมื่อเซลล์ Oocyte แต่ละเซลล์ในเพศเมียแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสได้เซลล์ไข่ 4 เซลล์ แต่ละเซลล์มีโครโมโซมเป็น haploid (n) จากนั้น เซลล์ไข่ 2 เซลล์จะเกิดการรวมกัน (fusion) ได้เซลล์ที่มีโครโมโซมเป็น diploid (2n) และพัฒนาไปเป็นลูกเพศเมีย โดยไม่ได้รับการปฏิสนธิกับสเปิร์ม การรวมกันของเซลล์ไข่ สามารถเกิดได้ 3 แบบ คือ Central fusion, Terminal fusion และ Random fusion (Figure 10) ตัวอย่างเช่นในผึ้ง *Apis mellifera capensis* การเกิด Thelytokous parthenogenesis เกิดจาก Central fusion (Oldroyd et al., 2008) นอกจากนี้ Thelytokous parthenogenesis ยังเกิดจากเซลล์ไข่เกิด gamete duplication โดยเกิดจากความผิดปกติในกระบวนการแบ่งเซลล์ระยะไมโอซิส 1 หรือเกิดความผิดปกติในการแบ่งเซลล์ระยะไมโอซิส 2 เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส จะได้เซลล์ไข่ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2n และพัฒนาไปเป็นลูกเพศเมีย (Figure 11) (Percy et al., 2006; Rabeling & Kronauer 2013)

อิทธิพลของแบคทีเรียที่อาศัยในไซโทพลาสซึมของแมลง แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการสืบพันธุ์แบบ Thelytokous parthenogenesis ในแมลงเท่าที่รายงานการศึกษามี 3 ชนิด ได้แก่ *Wolbachia*, *Cardinium* และ *Rickettsia* และส่วนใหญ่เป็นแมลงที่กำหนดเพศแบบ Haplodiploidy (Duron et al., 2008; Kageyama et al., 2012) แต่ที่พบมากที่สุดคือแบคทีเรีย *Wolbachia* ที่อาศัยอยู่ในไซโทพลาสซึมของแม่และถ่ายทอดไปยังลูก *Wolbachia* เข้าไปมีอิทธิพลต่อพฤติกรรมของโครโมโซมในการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของเซลล์ไข่ส่วนใหญ่ทำให้เกิด Gamete duplication ทำให้ได้เซลล์ไข่ที่มีโครโมโซมเป็น diploid (2n) (Stouthamer & Kazmer 1994; Heimpel & de Boer 2008) พบในแตนเบียนไข่ Genus *Trichogramma* เช่น *Trichogramma cacoeciae* (Vavre et al., 2004) แม้จะพบว่า *Wolbachia* ในแมลงสังคมที่แท้จริง (Eusocial insects) เช่น มด ผึ้ง แต่ยังไม่มียางานว่า *Wolbachia* ทำให้เกิด Thelytokous parthenogenesis ในแมลงกลุ่มนี้ (Percy et al., 2006; Rabeling & Kronauer 2013; Masuko, 2013)



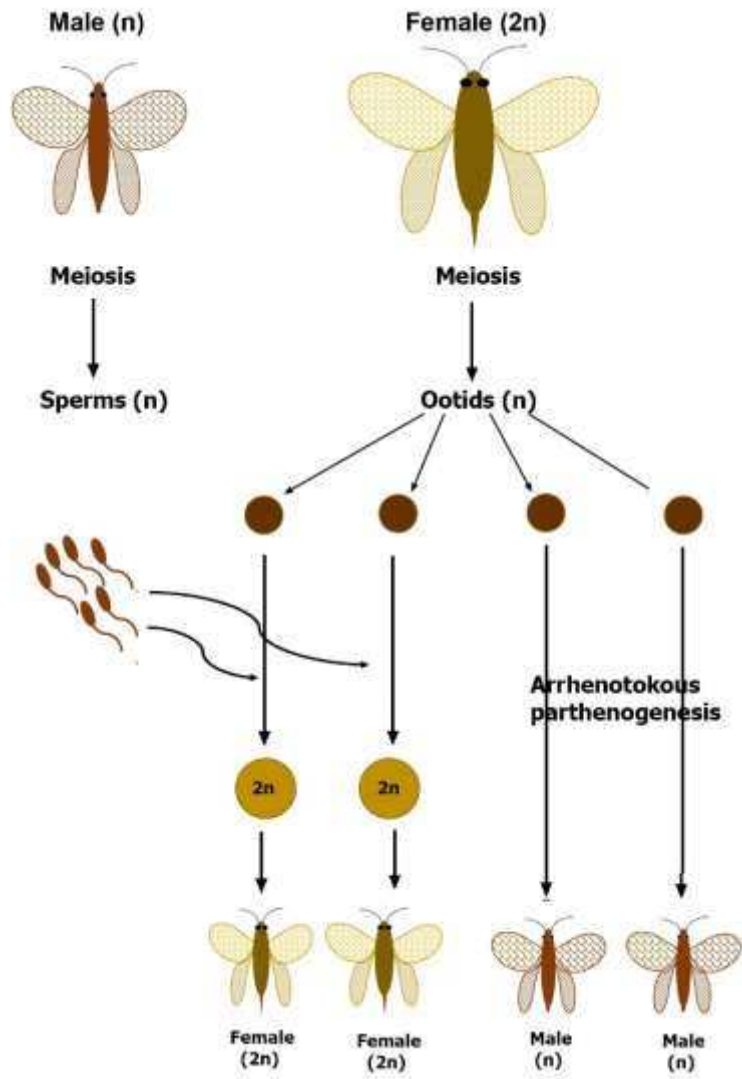


Figure 10 Diploid female develop from fertilized egg, while haploid male develop from Unfertilized egg, called arrhenotokous parthenogenesis



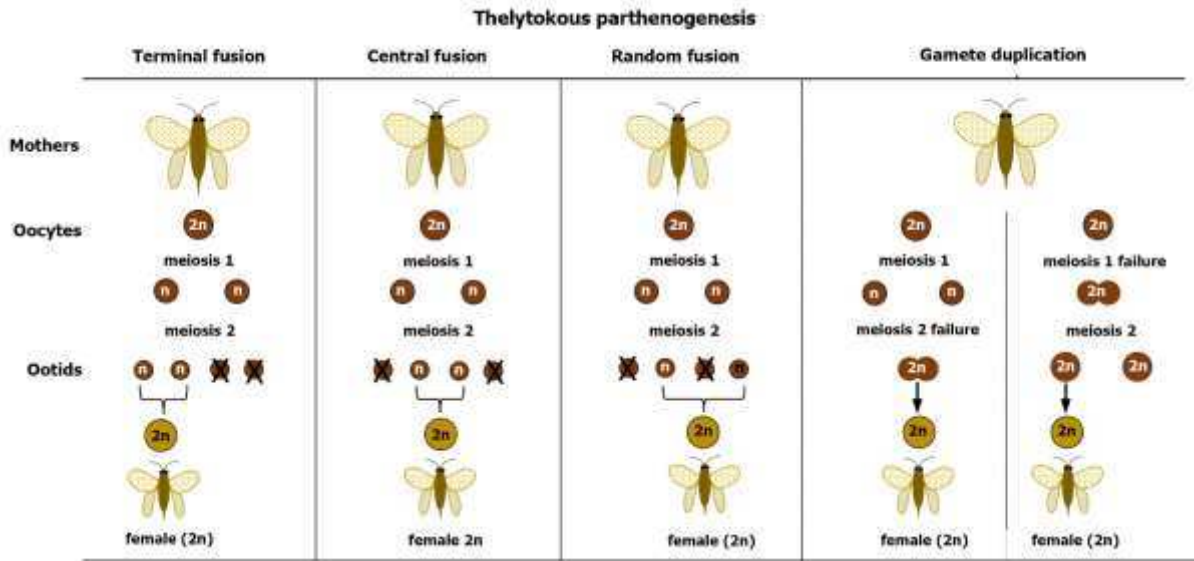


Figure 11 Cytoplasmic mechanisms cause thyletokous parthenogenesis

### สรุป (Conclusion)

แมลงเป็นสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอตที่มีทั้งจำนวนมากและชนิดที่สุดในโลก แมลงหลายชนิดมีความเกี่ยวข้องกับมนุษย์ทั้งในทางตรงและทางอ้อม หลายชนิดก่อความรำคาญ หลายชนิดเป็นพาหะนำโรคมานุษย์ ทำให้เกิดการสูญเสียชีวิตปีละหลายพันคน บางชนิดสร้างอาหารหรือเป็นโปรตีนทดแทนแก่มนุษย์โดยตรง แมลงหลายชนิดมีความสำคัญมากทางการเกษตรทั้งก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทางการเกษตรจำนวนมาก แต่บางชนิดจำเป็นต่อการผสมเกสรเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ดังนั้นความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์เพิ่มจำนวนและการกำหนดเพศของแมลงจะช่วยให้เราคิดค้นวิธีและวางแผนการควบคุมจำนวนแมลงศัตรูพืช รวมทั้งการกำจัดแมลงที่ก่อให้เกิดโรค โดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียกับสิ่งแวดล้อมเหมือนการใช้สารเคมี (Marec & Vreysen 2019) การที่แมลงเพศเมียสามารถให้กำเนิดลูกเพศเมียจากไข่โดยไม่ต้องเกิดการปฏิสนธิกับสเปิร์มนั้นเป็นประโยชน์มากในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่น แตนเบียนไข่ *Trichogramma* นิยมนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชพวกพืชหนอนผีเสื้อหลายชนิด ถ้าผลิตแตนเบียนไข่โดยใช้สายพันธุ์ที่เกิด Thelytokous parthenogenesis จะลดค่าใช้จ่ายค่าอาหารในการผลิตแมลง เนื่องจากไม่ต้องเลี้ยงเพศผู้ซึ่งไม่สามารถทำลายไข่แมลงศัตรูพืชได้

### เอกสารอ้างอิง (References)

Blackmon H., Ross L., & Bachtrong D. (2017). Sex determination, sex chromosomes, and karyotype evolution in insects. *J. Hered.* 2017, 78-93. doi:10.1093/jhered/esw047

Duron O., Bouchon D., Boutin S., Bellamy L., & Zhou L. (2008). The diversity of reproductive parasites among arthropods: Wolbachia do not walk alone. *BMC Biol.* 6, 27. doi:10.1186/1741-7007-6-27

Heimpel G. E., & de Boer L. G. (2008). Sex determination in the Hymenoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 209-230. doi:10.1146/annurev.ento.53.103106.093441



- Huesmann M., Dey L., Sadilek D., Ueshima N., Hawlitsschek O., Song H., & Weissman D. B. (2022). Evolution of chromosome number in grasshoppers (Orthoptera: Caelifera:Acrididae). *Org. Divers. Evol.* 22, 649-657. doi.org/10.1007/s13127-022-00543-1
- Intarajaroensak, N. (1981). Study of the Polytene Chromosome of *Anopheles (cellia) indifinitus* Ludlow and *Anopheles (cellia) vagus* Donitz. Master Thesis. Kasetsart University.
- Kageyama D., Narita S., & Watanabe M. (2012). Insect sex determination manipulated by their endosymbionts: Incidences, mechanisms and implication. *Insects*, 3, 161-199. doi:10.3390/insects3010161
- Kaiser V. B., & Bachtrog D. (2010). Evolution of sex chromosome in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 44, 91-112. doi:10.1146/annurev-genet-102209-163600
- Marec F., & Vreysen M. J. B. (2019). Advances and challenges of using the sterile insect technique for the management of pest Lepidoptera. *Insects*, 10, 371. doi:10.3390/insects10110371
- Masuko K. (2013). Thelytokous parthenogenesis in the ant *Strumigenys hexamera* (Hymenoptera: Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 106, 479-484. doi.org/10.1603/AN12144
- Nguyen D., Spooner-Hart R., & Riegler M. (2015). Polyploidy versus endosymbionts in obligately thelytokous thrips. *BMC Evol. Biol.* 15, 23. doi:10.1186/s12862-015-0304-6
- Oldroyd B. P., Allsopp M. H., Gloag R. S., Lim J., Jordan L. A., & Beekman M. (2008). Thelytokous parthenogenesis in unmated queen honeybees (*apis mellifera capensis*): Central fusion and high recombination rates. *Genetics*, 180, 359-366. doi:10.1534/genetics.108.090415
- Patawang I., & Tanomtong A. (2019). The study of karyotype, meiotic cell and sex chromosome behavior in male religious mantis (*Mantis religiosa siedleckii* (Linnaeus, 1758)). *KKU Sci. J.* 47(3), 427-435.
- Pearcy M., Hardy O., & Aron S. (2006). Thelytokous parthenogenesis and its consequences on inbreeding in an ant. *Heredity*, 96, 377-382. doi:10.1038/sj.hdy.6800813
- Phimphan S., & Aiumsumang S. (2022). Chromosome study and cell division in bluish-green rice grasshopper (*Hieroglyphus banian*). *Journal of Science and Technology CRRU*, 1(1), 23-28.
- Rabeling C., & Kronauer D. J. C. (2012). Thelytokous parthenogenesis in Eusocial hymenoptera. *The Annual Review of Entomology*, 58, 273-292. doi:10.1146/annurev-ento-120811-153710



- Sahara K., Yoshida A., & Traut W. (2012). Sex chromosome evolution in moths and butterflies. *Chromosome Res.* 20, 83- 94. doi:10.1007/s10577-011-9262-z
- Stouthamer R., & Kazmer D. (1994). Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. *Heredity*, 73, 317-327. doi.org/10.1038/hdy.1994.139
- Traut W., Sahara K., & Marec F. (2008). Sex chromosome and sex determination in Lepidoptera. *Sex. Dev.* 1, 332-346. doi.10.1159/000111765
- Vavre F., de Jong J. H., & Stouthamer R. (2004). Cytogenetic mechanism and genetic consequences of thelytoky in the wasp *Trichogramma cacoeciae*. *Heredity*, 93, 592-596. doi.10.1038/sj.hdy.6800565
- Wisorum W., Sangthong P., & Ngernsiri L. (2013). Meiotic chromosome analysis of the giant water bug, *Lethocerus indicus*. *J. Insect Sci.* 13, 39. doi.10.1673/031.3901
- Traut W., Sahara K., & Marec F. (2008). Sex chromosome and sex determination in Lepidoptera. *Sexual Development* 1, 332-346. doi.10.1159/000111765
- Vavre F., de Jong J. H., & Stouthamer R. (2004). Cytogenetic mechanism and genetic consequences of thelytoky in the wasp *Trichogramma cacoeciae*. *Heredity*, 93, 592-596. doi.10.1038/sj.hdy.6800565
- Wisorum W., Sangthong P., & Ngernsiri L. (2013). Meiotic chromosome analysis of the giant water bug, *Lethocerus indicus*. *J. Insect Sci.* 13: 39. doi.10.1673/031.3901



## คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

### การเตรียมต้นฉบับ

ต้นฉบับพิมพ์เป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษด้วยโปรแกรมไมโครซอฟต์เวิร์ด (Microsoft Word) เวอร์ชัน 2003 ขึ้นไป โดยใช้ตัวอักษร (Font) แบบ TH Sarabun PSK ทั้งฉบับ ขนาดตัวอักษร 16 เว้นขอบกระดาษด้านซ้ายและด้านขวา 1 นิ้ว ด้านบนและด้านล่าง 1 นิ้ว โดยความยาวของเรื่องพร้อมตารางและภาพประกอบรวมแล้วไม่เกิน 14 หน้ากระดาษ A4 โดยเว้นระยะห่าง 1 บรรทัด หากต้นฉบับที่จะส่งมีรูปภาพประกอบด้วยให้แทรกรูปภาพดังกล่าวในตำแหน่งที่เหมาะสมในต้นฉบับ ไม่มีการส่งคืนต้นฉบับในกรณีที่ไม่ผ่านการพิจารณาแต่จะแจ้งให้ทราบ

### การจัดเตรียมและส่งต้นฉบับ

1. จัดส่งไฟล์ต้นฉบับ 2 ชุด คือ ไฟล์ MS Word และ ไฟล์ PDF พร้อมระบุเลขหน้า (มุมขวาบน) และ ระบุเลขบรรทัด (Line numbers) กำกับในต้นฉบับทุกหน้า
2. จัดรูปแบบไฟล์โดยแยกส่วนของบทคัดย่อ / Abstract / แยกจากบทนำ รวมทั้ง เอกสารอ้างอิง / รูปภาพ / ตาราง ไว้ส่วนท้าย โดยรูปภาพหรือตาราง ให้โดยระบุลำดับที่ต้องการแทรกไว้ในเนื้อหาและต้องใช้ตัวอักษร (Font) แบบ TH SarabunPSK ทั้งในรูปภาพและเนื้อหาตาราง
3. ระบุ E-mail address ที่สะดวกในการติดต่อประสานงานและติดตามสถานะบทความสำหรับการติดต่อในระบบวารสารฯ ซึ่งไม่จำเป็นต้องเป็นของ Corresponding author

**หมายเหตุ :** กรณีผู้แต่งจัดเตรียมต้นฉบับไม่ครบถ้วนตามข้อกำหนดข้างต้น กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขเรื่องที่จะส่งพิจารณาตีพิมพ์ตามเห็นสมควร และอาจส่งคืนต้นฉบับมายังผู้เขียนเพื่อแก้ไขหรือปรับปรุงเพิ่มเติมหรือไม่รับพิจารณาตีพิมพ์แล้วแต่กรณี

สามารถส่งบทความต้นฉบับเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางการเกษตรได้ที่ <http://jtiapnu.org>





## องค์ประกอบของบทความวิจัย

1. **ชื่อเรื่อง (Title)** เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ชื่อเรื่องควรสอดคล้องและสื่อความหมายได้ดีกับเนื้อหาในเรื่อง

2. **ชื่อผู้เขียน ผู้ร่วมเขียน และที่อยู่ (Author, co-authors and address)** เป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่ติดต่อได้สะดวก และกรณียบอก E-mail ของผู้รับผิดชอบ (Corresponding author) เพื่อความรวดเร็วในการติดต่อ

3. **บทคัดย่อ (Abstract)** มีความยาวไม่เกิน 300 คำ ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

4. **คำสำคัญ (Keywords)** เป็นคำหรือข้อความสั้นๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการวิจัย ไม่เกิน 5 คำ ระบุอยู่ในบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

5. **บทนำ (Introduction)** บรรยายที่มาและความสำคัญของปัญหา ควรมีการทบทวนวรรณกรรม (Literature review) ประกอบรวมทั้งอธิบายถึงจุดประสงค์ของการวิจัย

6. **วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)** อธิบายเกี่ยวกับวัสดุ อุปกรณ์และวิธีการที่ใช้ในการวิจัย หรือตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา กรณีที่เป็นความคิดค้นขึ้นใหม่ควรอธิบายอย่างละเอียด ถ้าเป็นวิธีการที่ทราบกันอยู่แล้วและเคยมีผู้ตีพิมพ์แล้วควรบรรยายในลักษณะอ้างอิงและอธิบายเฉพาะส่วนที่ดัดแปลงหรือเพิ่มเติมพร้อมทั้งวิธีวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

7. **ผลการทดลอง (Results)** บรรยายผลการทดลองให้ละเอียดและเข้าใจง่าย หากเป็นไปได้ควรนำเสนอผลในรูปแบบตาราง รูปภาพ หรือกราฟพร้อมคำอธิบายเหนือตารางและอธิบายรายละเอียดไว้ได้รูปภาพ โดยเรียงตามลำดับให้สอดคล้องกับหมายเลขของรูปภาพและตารางที่นำเสนอ ควรระบุความหมายของสัญลักษณ์ที่ใช้ ในกรณีที่กำหนดเครื่องหมายแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ให้กำกับ P-value ที่ใช้ในการ วิเคราะห์ผลการทดลอง เช่น P-value,  $P < 0.05$  และ  $P > 0.05$

8. **วิจารณ์ (Discussion)** วิจารณ์ผลการทดลองด้วยหลักการที่ออกมาจากผลการวิจัย และการเปรียบเทียบข้อมูล โดยควรเปรียบเทียบกับผลการทดลอง ของผู้วิจัยอื่น รวมถึงเน้นสิ่งที่ได้ค้นพบ ตลอดจนปัญหาข้อโต้แย้งที่อาจเกิดขึ้น

9. **สรุป (Conclusion)** สรุปประเด็นสำคัญ แนวทางหรือข้อเสนอแนะในการนำไปใช้ประโยชน์ รวมถึงคุณค่าของงานเพื่อผู้อ่านจะได้เข้าใจมากขึ้น

10. **กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)** สำหรับแหล่งทุนสนับสนุนการวิจัย ผู้ให้ความช่วยเหลือหรือความร่วมมือในการสนับสนุนงานค้นคว้าวิจัย (ถ้ามี)

11. **เอกสารอ้างอิง (References)** เขียนโดยใช้ระบบนาม-ปี เรียงตามลำดับอักษรและเป็นภาษาอังกฤษทั้งหมด

## การเขียนเอกสารอ้างอิงใช้ตาม APA style 7th

**1.4.1 การอ้างอิงในเนื้อเรื่อง (In text citation)** ให้ใช้ระบบนาม-ปี (Author-date citation system) โดยระบุชื่อผู้เขียนและปีที่พิมพ์ไว้ข้างหน้าหรือข้างท้ายข้อความที่ต้องการอ้างอิง เพื่อบอกแหล่งที่มาของข้อความนั้น ซึ่งมีหลักเกณฑ์ดังนี้

1.4.1.1 กรณีอ้างอิงก่อนข้อความ ชื่อผู้เขียนเป็นภาษาอังกฤษ ให้เขียนเฉพาะนามสกุล (Last Name) เว้นวรรค ตามด้วยปีที่พิมพ์ภายในวงเล็บ เช่น Fryxell (1995) .....

1.4.1.2 กรณีอ้างอิงท้ายข้อความ ชื่อผู้เขียนเป็นภาษาอังกฤษ ให้เขียนเฉพาะนามสกุล (Last Name) ตามด้วยเครื่องหมายจุลภาค (,) เว้นวรรคและปีที่พิมพ์ภายในวงเล็บ เช่น (Fryxell, 1995)

1.4.1.3 เรื่องที่มีผู้เขียน 2 คน ให้เชื่อมด้วย & เช่น Falconer & Mackay (1996) ...../  
(Falconer & Mackay, 1996)

1.4.1.4 เรื่องที่มีผู้เขียนตั้งแต่ 3 คนขึ้นไป ให้เขียนนามสกุลเฉพาะคนแรกแล้วตามด้วย et al เช่น Komiyama et al. (2014) ...../ (Komiyama et al., 2014)

1.4.1.5 เรื่องที่มีผู้เขียนเป็นหน่วยงานและมีชื่อย่อ เช่น American Psychological Association (APA, 2020) ...../ (American Psychological Association [APA], 2020)

1.4.1.6 เรื่องที่มีผู้เขียนเป็นหน่วยงานไม่มีชื่อย่อ เช่น University of California (2020) ...../  
(University of California, 2020)

1.4.1.7 ข้อความที่มีเอกสารอ้างอิงมากกว่าหนึ่งเอกสารให้คั่นระหว่างผู้เขียนด้วยเครื่องหมาย “ ; ” และเรียงตามปี เช่น (Cui et al., 2006; Bagheri Sarvestani et al., 2013)

1.4.1.8 การอ้างอิงที่ไม่ได้อ้างจากต้นฉบับ แต่เป็นการอ้างต่อให้ใช้คำว่าอ้างถึงโดย (Cited by) เช่น (Smith et al., 2013 cited by Walker, 2010)

1.4.1.9 กรณีผู้เขียนคนเดียวกัน เสนอเอกสารปีเดียวกัน ให้กำกับตัวอักษรไว้ที่ปี เช่น (Walker, 1998a; 1998b)

## 1.4.2 การอ้างอิงท้ายบทความ (References)

1.4.2.1 เขียนเรียงรายการอ้างอิงตามตัวอักษรของนามสกุลผู้แต่งคนแรก

1.4.2.2 ชื่อผู้เขียนเป็นภาษาอังกฤษ ให้เขียนเฉพาะนามสกุล ตามด้วยตัวอักษรย่อของชื่อหน้าชื่อกลาง (ถ้ามี) ปีที่พิมพ์ ชื่อบทความ ชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ เลขหน้าและ DOI เช่น

Thongsaklaing, T., Nipitwattanaphon, M., & Ngrnsisi, L. (2018). The transformer gene of the pumpkin fruit fly, *Bactrocera tau* (Walker), functions in sex determination, male fertility and testis development. *Insect Mol. Biol.* 27(6), 766-779. [https://doi: 10.1111/imb.12517](https://doi.org/10.1111/imb.12517)

1.4.2.3 กรณีอ้างอิงบทความจากอินเทอร์เน็ต (Internet) ให้ระบุชื่อผู้เขียน วัน เดือนและปีที่เผยแพร่ทางอินเทอร์เน็ต (สืบค้นข้อมูลเมื่อ ปี-เดือน-วัน) ชื่อเรื่อง สำนักพิมพ์ เช่น

Machado, J., & Turner, K. (2020, March 7). The future of feminism. *Vox*.

<https://www.vox.com/identities/2020/3/7/21163193/international-womens-day-2020>

Center for Systems Science and Engineering. (2020, May 6). COVID-19 dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). Johns



Hopkins University & Medicine, Coronavirus Resource Center. Retrieved May 6, 2020, from [https:// coronavirus.jhu.edu/map.html](https://coronavirus.jhu.edu/map.html)

1.4.2.4 กรณีอ้างอิงตำรา ให้ระบุชื่อผู้เขียนปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อตำรา ครั้งที่พิมพ์และชื่อ  
บรรณาธิการ (หากมี) สำนักพิมพ์ เช่น

Gilbert, S. F. (2010). *Developmental Biology*. Sinauer Associated, Inc.

Robinson, P. H., Okine E. K., & Kennelly, J. J. (1992). Measurement of protein digestion  
in ruminants. In: S. Nissen (Ed). *Modern methods in protein nutrition and  
metabolism*. (p. 121-127). Academic Press.

1.4.2.5 กรณีอ้างอิงจากวิทยานิพนธ์ออนไลน์ ให้ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อ  
มหาวิทยาลัยและเว็บไซต์ เช่น

Gerena, C. (2015). *Positive Thinking in Dance: The benefits of positive self-talk practice  
in conjunction with somatic exercises for collegiate dancers* [Master's thesis,  
University of California Irvine]. University of California, eScholarship.  
<https://escholarship.org/uc/item/1t39b6g3>

1.4.2.6 กรณีอ้างอิงบทความจากการประชุมวิชาการ (Conference proceedings) ให้ระบุชื่อ  
ผู้เขียน ปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อการประชุมวิชาการ สถานที่จัดประชุม วัน-เดือน-ปีที่ประชุม เช่น

Thongsaiklaing T. (2020, February 5-7). Identification of vitellogenin protein in hemolymph  
of mud crab (*Scylla serrata* Forsskal, 1775) using LC MS/MS technique. The  
proceedings of the 58th Kasetsart University annual conference “Inno-creation  
Thailand for sustainable development goals (SDGs)”. Kasetsart University,  
Bangkok, Thailand.

1.4.2.7 หากเนื้อหาของเอกสารที่นำมาใช้อ้างอิงที่ไม่ใช่ภาษาอังกฤษ ให้เขียนอ้างอิงเป็น  
ภาษาอังกฤษพร้อมระบุภาษาที่ใช้เขียนในบทความนั้นๆ ไว้ในวงเล็บด้านท้ายสุดของรายการเอกสารอ้างอิงนั้น  
เช่น

Datumada, H., & Thongsaiklaing, T. (2021). 22 bp INDEL mutation polymorphism of *dopamine  
receptor D2 (DRD2)* gene of Thai native chicken in Narathiwat province. *Journal of  
Mahanakorn Veterinary Medicine* 15(2): 189-197. (in Thai)



