



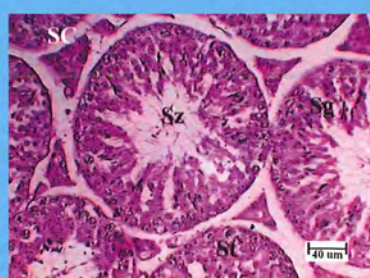
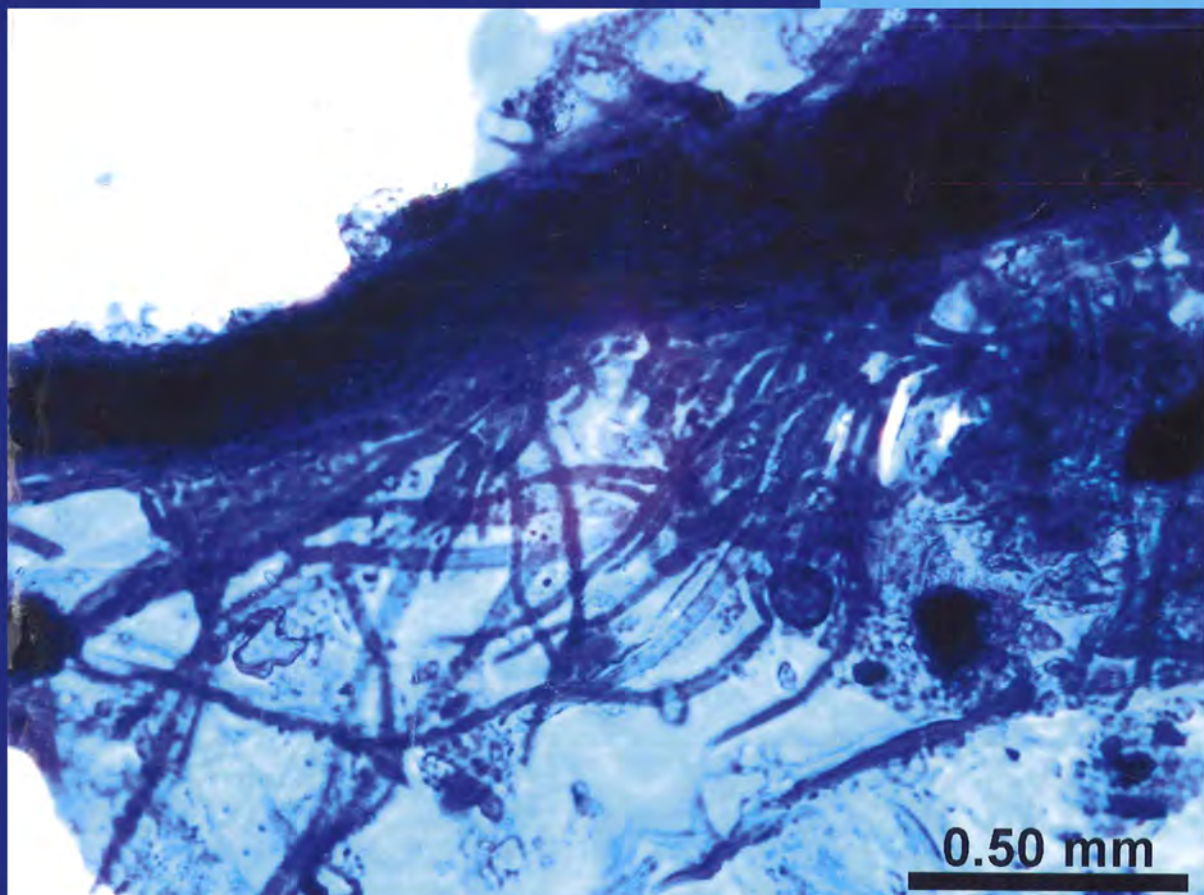
วารสาร

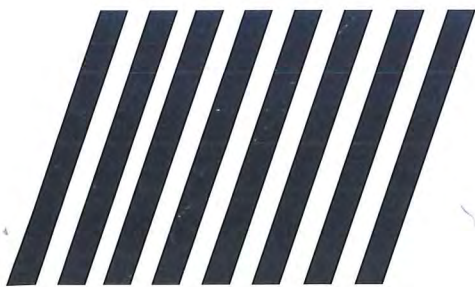
ISSN : 0125 - 2364

วิทยาศาสตร์มข.

KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 37 ฉบับที่ 1 (ม.ค. - มี.ค. 52) Vol. 37 No. 1 (Jan. - Mar. 09)





วารสาร

วิทยาศาสตร์ปูช

KKU SCIENCE JOURNAL

ISSN 0125 - 2364

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์ ตึก 6 มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อ.เมือง จ.ขอนแก่น 400002

โทรศัพท์ 0-4320-2372 โทรสาร 0-4320-2371

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่วิทยาการในสาขาวิชาต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์
2. เพื่อเผยแพร่ผลงานทางด้านการวิจัย และการศึกษา ค้นคว้าของอาจารย์และนักศึกษา
3. เพื่อเป็นสื่อกลางการแลกเปลี่ยนความรู้ และแนวความคิดทางวิชาการระหว่างอาจารย์ นักศึกษา และผู้สนใจ ทั้งภายในและภายนอกสถาบัน

กำหนดออก ปีละ 4 ฉบับ

- ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม
ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน
ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน
ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม

ที่ปรึกษา

คณะบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ละออศรี เสนาะเมือง)

บรรณาธิการ

สมปอง ธรรมศิริรักษ์

กองบรรณาธิการ

กิตติกร นาคประสิทธิ์
ศาสตรา วงศ์ธนวุธ
ชุติมา หาญจวนิช
เอกพรณ สวัสดิ์ตั้ง
ศักดิ์ดา ดาดวง
สมเดช กนกเมธากุล
สุพรรณิ อึ้งปัญสดวงศ์
งานนิจ นนทโส
อัจฉราภรณ์ ภักดี

ฝ่ายศิลป์และภาพ

กิเลน ดิณนรเศรษฐ์
สุชาติ เทพภูเขียว

ฝ่ายเทคนิค

บุญคุ้ม เหลือล้ำ

ฝ่ายจัดการและ เลขานุการ

สุภาพร พิมพ์ว่าปี
สมศักดิ์ อุ่นจันทิ
อริศรา ชาแก้ว

บทความและงานวิจัย
ได้รับการกลั่นกรอง
จากผู้ทรงคุณวุฒิ

บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ

วารสาร

วิทยาศาสตร์แม่โขง

K K U S C I E N C E J O U R N A L

ปีที่ 37 ฉบับที่ 1

Volume 37 Number 1

บรรณาธิการแถลง

บทความ

- ☐ ความหลากหลายของโครโมโซมในปลาน้ำจืด
 ของประเทศไทย
 Chromosomal Diversification of Freshwater Fishes
 in Thailand
 เกรียงไกร สีตะพันธุ์..... 1
- ☐ ศัตรูธรรมชาติและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยร่วมกับแมลงวันดำ
 Natural Enemies and Symbionts of Black Flies
 เฉลียว กุวังคะคิลิก เสน่ห์ จิตต์กลาง..... 13
- ☐ การทำลายเซลล์เจ้าบ้านของเชื้อ *Burkholderia*
pseudomallei
 Destruction of Host Cells by *Burkholderia*
pseudomallei
 อธิญา มุ่งสันติสุข..... 28
- ☐ นิติวิทยาศาสตร์กับกระบวนการยุติธรรม
 Forensic Science and Justice Process
 อาคม เกษร..... 36
- ☐ มัชฌิมลอการิทึม
 Logarithmic Mean
 จริยา สิงห์คำ สมใจ จิตพิทักษ์..... 42

วิทยาศาสตร์ชุมชน

K K U S C I E N C E J O U R N A L

ปีที่ 37 ฉบับที่ 1

Volume 37 Number 1

งานวิจัย

- ❑ อาหารธรรมชาติของปูนา *Esanthelphusa dugasti* Rathbun, 1902 ในฤดูฝน
Natural Diet of the Rice-Field Crab, *Esanthelphusa dugasti* Rathbun, 1902 in rainy season
นพคุณ ภักดิ์ผ่องค์ ปิยะเนตร จันทรธีระติกุล
อาณัติ จันทรธีระติกุล..... 49
- ❑ ผลของยาเตตราซัยคลินต่อความเป็นพิษของตับ และการสร้างสเปิร์มในหนูเมาส์
Effect of Tetracycline on Hepatotoxicity and Spermatogenesis in Mice (*Mus musculus* Linn.)
นวพรหม ทวีบท อัมพา เหลืองภิรมย์.... 56
- ❑ การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้าน จากอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน ด้วยฟลูออไรด์ไอออน ซีล็คทีฟอิเล็กโทรด
Determination of Fluoride in Deep Well Pipe Water from Suntisuk District, Nan Province by Fluoride Ion Selective Electrode
ธัญรดา แสนปัญญา นภา ตั้งเตรียมจิตมัน... 65
- ❑ ผลของสารประกอบเชิงซ้อนต่อลักษณะทางสัณฐาน และความต้านทานการกัดกร่อนของผิวเคลือบโลหะผสมนิกเกิล-ฟอสฟอรัส
Effect of Complexing Agent on Morphology and Corrosion Resistance of Electroless Ni-P Coating
สุเมธ สวรรณบุรณ..... 74

วารสาร

วิทยาศาสตร์ชุมชน

K K U S C I E N C E J O U R N A L

ปีที่ 37 ฉบับที่ 1

Volume 37 Number 1

งานวิจัย

- ไนเตรชันของไดเบนซอลอะซิโตน
Nitration of Dibenzalacetone
กิตติ อมรรักษ์ กิตติรัฐ รุจนพจน์..... 83
- ขอบเขตล่างและบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์
ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่ม
ทวินามนิเสธและตัวแปรสุ่มปัวซอง
Lower and Upper Bounds of the Relative Error
Between the Negative Binomial and Poisson
Cumulative Distribution Functions
ศกนินทร์ วีรภาพ โอฬาร..... 92
- ประสิทธิภาพของสถิติทดสอบสำหรับแผน
แบบแฟคทอเรียล กรณีที่มีตัวแปรร่วม
Efficiency of Statistical Tests for Factorial
Designs with Covariate
ชวณี สุภรัตน์ บุญอ้อม โถมที..... 102
- ความหลากหลายของพืชสกุลไทร (Ficus L.)
ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
วัฒนา ดันมิ่ง ประนอม จันทรโณทัย..... 112



Advisory Committee Dean, Faculty of Science
 (La-Orsri Sanoamuang)

Publisher

Faculty of Science, Khon Kaen University,
 Thailand.

Office

Faculty of Science, Building 6, Khon Kaen
 University. Khonkaen Thailand, 40002
 Tel. 0-4320-2372 Fax 0-4320-2371

Objectives

1. To promote dissemination of knowledge in all fields of science.
2. To publish research results of faculty, researchers and students.
3. To be a medium for the exchange of knowledge and ideas among faculty, researchers and students of Khon Kaen University and other institutions.

Publishing frequency

KKU Science Journal is a quarterly journal. Each volume consists of 4 numbers.

Number 1 January - March

Number 2 April - June

Number 3 July - September

Number 4 October - December

Editor

Sompong Thammasirirak

Editorial Board

Kittikorn Nakpasit
 Sartra Wongthanavas
 Chutima Hanjavanit
 Ekaphan Swatsitang
 Sakda Daduang
 Somdej Kanokmedhakul
 Supunnee Ungpansattawong
 Ngamnit Nontaso
 Adcharaporn Pagdee

Artists

Kilen Tinnoraset
 Suchart Thepphukhieo

Treasurer

Boonkoom Lualon

Managing Staff

Suphaporn Phimwapi

and Secretary

Somsak Unjantee
 Arissara Chakaew

**All articles published in
 KKU Science Journal have been
 peer reviewed.**

The views and opinions expressed in this journal are those of the author(s), and do not necessarily reflect the views and opinions of the editorial board.

บรรณาธิการ

แกลบ

สวัสดีค่ะ ท่านผู้อ่านที่รักและเคารพทุกท่าน

ฉบับแรกของปี 2552 นี้ ต้องขอภัยด้วยที่ออกล่าช้าไปสักนิด เนื่องจากดิฉันเพิ่งได้รับมอบหมายจากทางคณบดีให้เข้ามาแทนบรรณาธิการคนเก่า คือ รศ.นฤมล แสงประดับ ที่ท่านได้รับความไว้วางใจให้ไปดำรงตำแหน่งหัวหน้าภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ก็ขอแสดงความยินดีกับ รศ.นฤมล แสงประดับ ด้วยค่ะ

ก่อนจะว่าต่อไป ขอแนะนำตัวสักหน่อย ดิฉันสังกัดภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มีความเชี่ยวชาญของงานในด้านโปรตีน ตอนนี้นำนักศึกษาโปรตีนในไข่ขาว รวมทั้งเลือดจระเข้ ด้วยหวังว่าคงได้ใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ ได้ในสักวันหนึ่ง ตัวดิฉันเองก็ได้ช่วยงานวารสารฉบับนี้มาในฐานะหนึ่งในกองบรรณาธิการมาหลายปี เข้ามารับตำแหน่งบรรณาธิการในครั้งนี้ ถือว่าได้รับเกียรติอย่างสูงสุด และตั้งใจที่จะทำงานอย่างเต็มที่ เพื่อให้วารสารได้มาตรฐานระดับชาติ เป็นที่ยอมรับของนักวิจัยนักวิชาการ นักวิทยาศาสตร์ทั่วไป ที่สำคัญคือจะพยายามอย่างยิ่งให้วารสารถึงมือท่านผู้อ่านได้ตรงเวลา รวมทั้งยินดีรับบทความทางวิชาการ และบทความวิจัยจากบุคลากรทุกสาขาด้านวิทยาศาสตร์มาตีพิมพ์ในวารสารนี้

ในฉบับนี้ มีเรื่องดีๆ มากมาย มาจากหลากหลายสถาบัน ตั้งแต่เหนือจรดใต้ ที่น่าสนใจก็เช่น เรื่องของโครโมโซมปลาน้ำจืดของบ้านเราที่มีการศึกษาไว้ค่อนข้างลึกซึ้ง เรื่องของปาราสิตในแมลงรึนดำ รวมทั้งเรื่องของอาหารปูนา นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยในสาขาเคมี คณิตศาสตร์ สถิติที่น่าสนใจมากเรื่องหนึ่งคือ เรื่องของนิติวิทยาศาสตร์กับกระบวนการยุติธรรม ซึ่งจะช่วยให้เราเข้าใจถึงการประยุกต์ใช้งานด้านวิทยาศาสตร์กับการตัดสินทางกฎหมาย

สุดท้ายนี้ ก็หวังว่าท่านผู้อ่านคงได้รับประโยชน์จากวารสารนี้ตามสมควร ก็ขอฝากให้วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ฉบับนี้ได้อยู่ในใจท่านตลอดไป

สมปอง ธรรมศิริรักษ์

บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ความหลากหลายของโครโมโซมในปลาน้ำจืดของประเทศไทย

Chromosomal Diversification of Freshwater Fishes in Thailand

เกรียงไกร สีสะพันธุ์¹

ประเทศไทยเป็นศูนย์รวมความหลากหลายของชนิดพันธุ์มากที่สุดแห่งหนึ่งของโลก โดยเฉพาะพันธุ์ปลาจนถึงขณะนี้มีการสำรวจพบปลาน้ำจืดในประเทศไทยแล้วมากกว่า 700 ชนิด ในจำนวนนี้มีทั้งปลาขนาดใหญ่ที่สุดในโลกอย่างปลาบึก (*Pangasianodon gigas*) ไปจนถึงปลาจิ๋วแคระ (*Boraras micros*) ตัวเล็กจิ๋วเพียง 1.4 เซนติเมตร และเป็นปลาดินเดียวของเมืองไทย ปลาน้ำจืดมีความสำคัญต่อการดำเนินชีวิตของมนุษย์ที่อาศัยอยู่ตามลุ่มแม่น้ำ นอกจากปลาจะเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารสูงและย่อยง่ายแล้วปลาดังกล่าวยังเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกด้วย การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาในประเทศไทย โดยเฉพาะงานด้านการศึกษาโครโมโซม (chromosome) มีรายงานการศึกษายู่มากพอสมควรบทความเรื่องนี้จะเป็นการรวบรวมรายงานการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาในประเทศไทยที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ก่อนอื่นเรามาทำความเข้าใจเกี่ยวกับความรู้เบื้องต้นของการศึกษาโครโมโซมในปลา ดังนี้

โครโมโซมเป็นโครงสร้างที่สำคัญในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของโครโมโซมในรูปแบบ

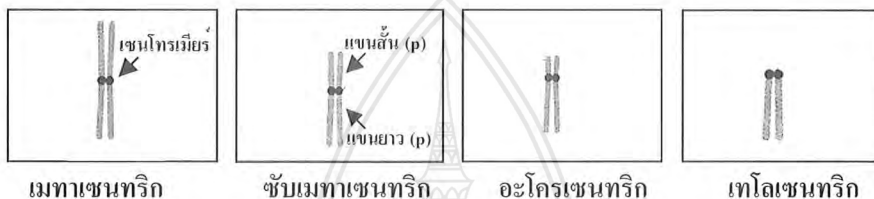
ใดก็ตามย่อมมีผลโดยตรงต่อการถ่ายทอดทางพันธุกรรม การศึกษาจำนวนและขนาดของโครโมโซมที่อยู่ในระยะเมทาเฟส (metaphase) จะทำให้เราทราบถึงลักษณะเฉพาะขั้นพื้นฐานของโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด และระดับความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในระดับที่ใกล้ชิดกันหรือห่างกันและความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันแต่มีแหล่งที่อยู่อาศัยตามสภาพภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันได้ (White, 1973)

ในการแบ่งชนิดของโครโมโซมตามหลักสากล จะยึดตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ (centromere) ที่อยู่บนโครโมโซมเป็นหลัก สามารถแบ่งได้ 4 แบบ คือ เมทาเซนตริก (metacentric, m) มีเซนโทรเมียร์อยู่บริเวณกึ่งกลาง ซับเมทาเซนตริก (submetacentric, sm) มีเซนโทรเมียร์อยู่ก่อนไปข้างใดข้างหนึ่ง อะโครเซนตริก (acrocentric, a) มีเซนโทรเมียร์อยู่ก่อนไปทางปลาย และเทโลเซนตริก (telocentric, t) มีเซนโทรเมียร์อยู่ตรงปลายสุด (รูปที่ 2) แต่สำหรับการศึกษาโครโมโซมของปลาแล้ว ในการศึกษาที่มีมาก่อนหน้านี้ในหลายรายงานการศึกษาจะมีการกำหนดโครโมโซมที่แตกต่างไปจากโครโมโซมมาตรฐาน คือ ซับเทโลเซนตริก (subtelocentric, st) แทนโครโมโซมชนิดอะโครเซนตริก (ตารางที่ 1)

¹ สาขาวิชาการประมง สำนักวิชาเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ พยา ต.แม่กา อ.เมือง จ.พะเยา 56000

ในการจัดทำคาริโอไทป์ (karyotype) ของปลา นิยมจัดได้ 2 รูปแบบ คือ นำโครโมโซมคู่เหมือนมาจัดเรียงลำดับจากใหญ่สุดจนถึงเล็กสุด วางโครโมโซมให้แขนข้างสั้นตั้งขึ้น และนิยมวางโครโมโซมเพศอยู่ที่มุมล่างขวาสุดของภาพ อีกหนึ่งรูปแบบเป็นการนำเอาโครโมโซมคู่เหมือนแบ่งกลุ่มตามชนิดของโครโมโซม

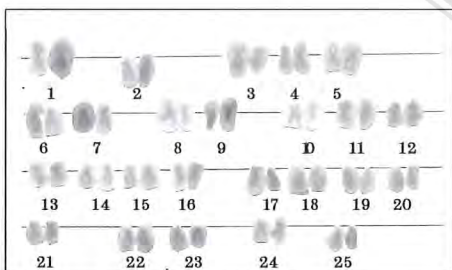
(เมทาเซนตริก ซับเมทาเซนตริก อะโครเซนตริก และ เทโลเซนตริก) แล้วเรียงตามลำดับจากใหญ่ไปหาเล็ก การวางโครโมโซมให้แขนข้างสั้นตั้งขึ้น และนิยมวางโครโมโซมเพศอยู่ที่มุมล่างขวาสุดของภาพเช่นเดียวกัน (รูปที่ 2)



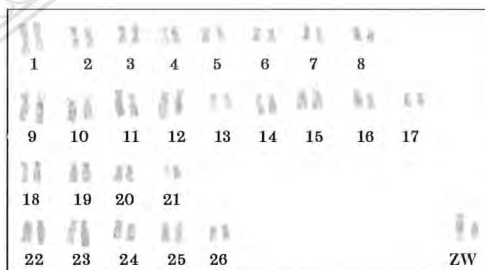
รูปที่ 1 ชนิดของโครโมโซมที่กำหนดจากตำแหน่งของเซนโทรเมียร์

ตารางที่ 1 ความแตกต่างของการเรียกชื่อชนิดของโครโมโซม

เอกสารอ้างอิง	ชนิดของโครโมโซม			
วิสุทธิ์ (2533) Macgregor (1993) อมรา (2540) Klug and Cummings (2003) Sumner (2003)	เมทาเซนตริก	ซับเมทาเซนตริก	อะโครเซนตริก	เทโลเซนตริก
Levan et al. (1964)	เมทาเซนตริก	ซับเมทาเซนตริก	ซับเทโลเซนตริก	เทโลเซนตริก
Strickberger (1968)	เมทาเซนตริก		อะโครเซนตริก	เทโลเซนตริก
Chen (1971)	เมทาเซนตริก	ซับเมทาเซนตริก	อะโครเซนตริก	
อุทัยรัตน์ (2543)	เมทาเซนตริก	ซับเมทาเซนตริก	ซับเทโลเซนตริก	อะโครเซนตริก



ก.



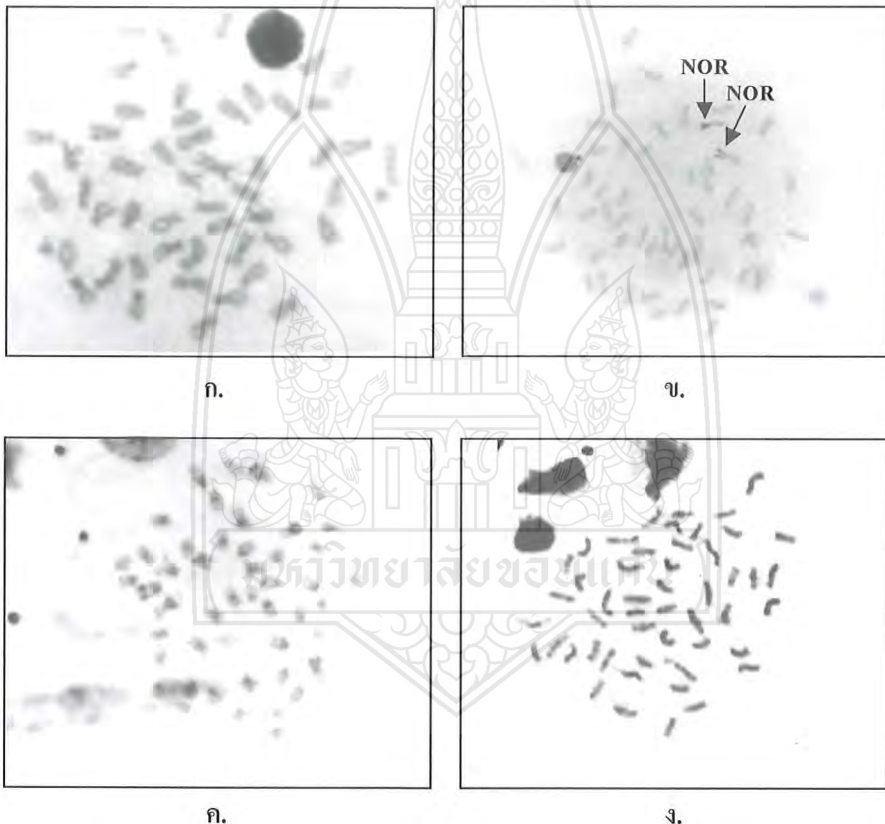
ข.

รูปที่ 2 การจัดคาริโอไทป์ในปลานิยม 2 รูปแบบ

- ก. คาริโอไทป์ปลาค้อ (Schistura waltoni) เรียงจากโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่ที่สุดไปหาเล็กสุด
 ข. คาริโอไทป์ปลาตุ๊กตอย (Clarias macrocephalus) เรียงตามชนิดของโครโมโซม

การย้อมสีโครโมโซมในปลาจะนิยมการย้อมสีแบบธรรมดา (conventional staining) สีที่นิยมใช้ติดส่วนของกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) สีที่นิยมใช้ได้แก่ ออร์ซีน (orcein) คาร์มีน (carmine) และจิมซ่า (Giemsa's) นอกจากนี้ยังนิยมการย้อมให้เกิดแถบสีแบบต่างๆ (banding techniques) ได้แก่ การย้อมแถบสีแบบนอร์ (NOR banding) สีย้อมจะติดบริเวณ Nucleolus Organizer Region (NOR) นิยมใช้ศึกษาการโอโทโปของปลาค่อนข้างมาก โดยมีการศึกษาในปลาแล้วไม่น้อยกว่า 200 ชนิด การย้อมแถบสีแบบซี (C-banding) เป็นเทคนิคที่ทำให้แถบสีเข้มบริเวณ constitutive heterochromatin

เป็นบริเวณที่โครโมโซมขดตัวกันแน่นตลอดเวลา การย้อมวิธีนี้นิยมนำมาศึกษาโครโมโซมปลาหลากหลายชนิด โดยมีการศึกษาในปลาแล้วมากกว่า 50 ชนิด การย้อมแถบสีแบบจี (G-banding) การย้อมวิธีนี้จะย่อยโปรตีนในโครโมโซมด้วยเอนไซม์ เช่น ทริปซิน (trypsin) โดยอาศัยหลักการที่ส่วนต่างๆ ของโครโมโซมแต่ละแท่งมีการจัดตัวของโครมาทิน (chromatin) แตกต่างกันการย้อมด้วยวิธีนี้มีการศึกษาในปลาค่อนข้างน้อยเนื่องจากมีข้อจำกัดหลายประการ ปัจจัยที่เห็นได้ชัดคือ ปลาส่วนใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซมค่อนข้างมาก และโครโมโซมมีขนาดเล็ก (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 เทคนิคการย้อมสีแบบต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลา

- ก. การย้อมสีแบบธรรมดาในปลาคือ (*Schistura cf. menanensis*)
- ข. การย้อมแถบสีแบบนอร์ในปลาคือ (*S. cf. menanensis*)
- ค. การย้อมแถบสีแบบซีในปลาคือ (*S. spilota*)
- ง. การย้อมแถบสีแบบจีในปลาคือ (*S. sp.*)

การศึกษาการโอโทไพบของปลาน้ำจืด ในประเทศไทย

การศึกษาการโอโทไพบของปลาทำกันอย่างกว้างขวางในปลาทั่วโลกไม่น้อยกว่า 2,000 ชนิด พบว่าจำนวนโครโมโซมของปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในช่วงกว้าง โดยมีจำนวนโครโมโซมต่ำที่สุด $2n$ (diploid) เท่ากับ 12 แห่ง ในปลาทะเลชนิดหนึ่งคือปลา *Gonostoma bathyphilum* ซึ่งอยู่ในวงศ์ (family) Gonostomatidae และปลาที่มีจำนวนโครโมโซมมากที่สุด $2n$ เท่ากับ 250 แห่ง ซึ่งพบในวงศ์ของปลาสเตอร์เจียน (family Acipenseridae) จากการศึกษาค้นคว้าพบว่า จำนวนโครโมโซมของปลาน้ำจืดในประเทศไทยนั้นมีการศึกษาการโอโทไพบไว้ไม่น้อยกว่า 22 วงศ์ 161 ชนิด (species) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาการโอโทไพบของปลาต่างถิ่นที่พบในประเทศไทยอีก 4 วงศ์ 12 ชนิด จากรายงานการวิจัยที่มีมาก่อนหน้านี้ พบว่า ปลาน้ำจืดของประเทศไทยมีจำนวนโครโมโซมต่ำสุด $2n$ เท่ากับ 18 แห่ง พบในปลาไหลภาคกลาง (*Monopterus albus*) ส่วนปลาที่มีจำนวนโครโมโซมมากที่สุด $2n$ เท่ากับ 112 แห่ง พบในปลาก้าง (*Channa gachua*) การจำแนกโครโมโซมของปลาส่วนใหญ่จะเป็นการย้อมสีแบบธรรมดา รายงานแถบสีโครโมโซมมีน้อย โดยมีรายงาน แถบสีแบบนอร์มัลในปลาวงศ์ปลาตะเพียน 4 ชนิด และปลาแรด (*Osphronemus goramy*) ส่วนการศึกษาโครโมโซมเพศในปลาที่มีรายงานเพียง 2 ชนิด เท่านั้น คือ ปลาอุกอุย (*Clarias macrocephalus*) และปลาอุกยักษ์ (*C. gariepinus*) โดยมีระบบโครโมโซมเพศแบบ ZW (เพศผู้ ZZ และเพศเมีย ZW)

จากรายงานการศึกษาของ Stivari and Martins-Santos (2004) พบว่า ในปลาบางชนิดมีความแตกต่างของรูปแบบการโอโทไพบ ซึ่งเป็นผลมาจากการมีถิ่นที่อยู่ของกลุ่มประชากรแตกต่างกัน ได้แก่ ปลา *Rhamdia quelen* ที่มาจาก 2 แหล่งน้ำ คือ แม่น้ำ Taquarussu และลำธาร Maringá ในประเทศบราซิล พบว่า มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 58 แห่ง เท่ากัน

แต่มีรูปแบบการโอโทไพบต่างกัน คือ $26m+20sm+6a+6t$ และ $26m+22sm+6a+4t$ ตามลำดับ

ความหลากหลายของโครโมโซมปลาน้ำจืด ในประเทศไทย

ในปลาน้ำจืดของประเทศไทยมีรายงานการศึกษาการโอโทไพบจำนวนไม่น้อยกว่า 161 ชนิด จำนวนโครโมโซมมีความหลากหลายมาก อยู่ในช่วง 18-112 แห่ง โดยส่วนใหญ่จำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง 42-50 แห่ง ในปลาที่มีความใกล้เคียงกันทางสายวิวัฒนาการมักจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน ตัวอย่างเช่น วงศ์ปลาสาคร (Notopteridae) ทุกชนิดมีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 42 แห่ง วงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) และวงศ์ปลาค้อ (Balitoridae) ส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 50 แห่ง วงศ์ปลาสาคร (Pangasiidae) มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 60 แห่ง วงศ์ปลากระทิง (Mastacembelidae) มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 48 แห่ง วงศ์ปลากระดี่ (Belontiidae) ส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 46 แห่ง และวงศ์ปลาแรด (Osphronemidae) มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 48 แห่ง การวิวัฒนาการทางโครโมโซมของปลา เราสามารถที่จะบ่งบอกลักษณะความโบราณได้จากจำนวนโครโมโซม และชนิดของโครโมโซม โดยทั่วไปสิ่งมีชีวิตที่โบราณมักจะมีจำนวนโครโมโซมมากและมีขนาดเล็ก ชนิดของโครโมโซมโดยทั่วไปมักมีโครโมโซมแบบที่มีแขนข้างเดียว หรือ เทโลเซนทริกในจำนวนที่มาก เมื่อเทียบกับชนิดอื่น ๆ เนื่องจากในระหว่างที่มีกระบวนการวิวัฒนาการโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกจะมีโอกาสเชื่อมรวมกันได้ง่าย เกิดเป็นโครโมโซมชนิดที่มีสองแขนขึ้น และพร้อมกับการลดจำนวนโครโมโซมลง ในบทความเรื่องนี้จะได้อธิบายถึงลักษณะของการโอโทไพบของปลาบางวงศ์ของประเทศไทย ดังนี้

วงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae)

สมาชิกของปลาวงศ์นี้มีจำนวนมากที่สุด และมีรายงานการศึกษาคาร์ิโอไทป์มาวงศ์หนึ่งปลาในวงศ์นี้ส่วนใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 50 แท่ง ซึ่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนของโครโมโซมจากบรรพบุรุษร่วม จึงถือว่าปลาตะเพียนเป็นปลาในกลุ่มที่โบราณ โดยมีวิวัฒนาการของโครโมโซมใน 3 ทิศทาง คือ กลุ่มที่ 1 ยังคงมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับบรรพบุรุษ โดยมีวิวัฒนาการไปอย่างช้าๆ ซึ่งสมาชิกของปลาตะเพียนส่วนใหญ่จะเป็นแบบนี้ กลุ่มที่ 2 เกิดการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเป็นสองเท่า หรือการเกิดโพลีพลอยดี (polyploidy) มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 100 แท่ง ได้แก่ ปลาตะเพียนในวงศ์ย่อย Cyprininae-Cyprinini เช่น ปลาพลวงหิน (*Tor soro*) ต่อมาปลาในกลุ่มนี้บางชนิดมีการลดจำนวนโครโมโซมลง ที่เป็นผลมาจากการรวมกันตรงเซนโทรเมียร์ (centric fusion) ระหว่างโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก 2 แท่ง ได้เป็นโครโมโซมที่มี 2 แขน 1 แท่ง ทำให้โครโมโซมลดลงเหลือ $2n$ เท่ากับ 98 แท่ง ในปลาพลวง (*Neolissocheilus soroides*) และ $2n$ เท่ากับ 96 แท่ง ในปลาอีสกไทย (*Probarbus jullieni*) และกลุ่มที่ 3 เกิดการลดจำนวนแท่งโครโมโซมลง โดยผ่านกระบวนการรวมกันของโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกตรงตำแหน่งเซนโทรเมียร์ พบในปลาตะเพียนวงศ์ย่อย Alburninae เช่น ปลาแปบควาย (*Paralaubuca riveroi*) มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 48 แท่ง

วงศ์ปลาหมอ (Cobitidae)

ปลาในวงศ์นี้มีรายงานการศึกษาคาร์ิโอไทป์จำนวน 6 ชนิด ลักษณะของคาร์ิโอไทป์ แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 50 แท่ง ซึ่งถือว่าเป็นกลุ่มที่โบราณ ตัวอย่างเช่น ปลาปล้องอ้อย (*Pangio kuhlii*) แล้วต่อมาเกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมเป็น $2n$ เท่ากับ 100 แท่ง ตัวอย่างเช่น ปลาหมอลายเสือ (*Syncrossus beauforti*) และปลาหมอหางจุด (*Yasuhikotakia caudipunctatus*)

วงศ์ปลาช่อน (Channidae)

ปลาในวงศ์นี้มีรายงานการศึกษาคาร์ิโอไทป์จำนวน 7 ชนิด เป็นวงศ์ที่มีความน่าสนใจอีกวงศ์หนึ่งเนื่องจากจำนวนโครโมโซมของปลาภายในวงศ์นี้มีความแตกต่างกันมาก คือ ตั้งแต่ $2n$ เท่ากับ 38 แท่ง ในปลาช่อนข้าหลวง (*Channa maruloides*) จนถึง $2n$ เท่ากับ 112 แท่ง ในปลาก้าง (*C. gachua*) สมาชิกของปลาวงศ์นี้ส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 44 แท่ง รวมทั้งปลาช่อนหางดอก (*C. asiatica*) ซึ่งเป็นปลาต่างถิ่น วิวัฒนาการของโครโมโซมในปลาในกลุ่มนี้ พบว่า บรรพบุรุษของปลาในกลุ่มนี้มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 44 แท่งประกอบด้วยโครโมโซมที่มี 2 แขน 4 แท่ง และที่เหลือเป็นชนิดที่มีแขนเดียว ต่อมาได้เกิดวิวัฒนาการผ่านกระบวนการเพิ่มชุดโครโมโซมเป็นโพลีพลอยด์ ตัวอย่างเช่น ปลาก้าง ในปลาบางชนิดมีการเปลี่ยนแปลงแบบเพอริเซนทริกอินเวอร์ชัน (pericentric inversion) ได้แก่ การต่อสลับของชิ้นส่วนโครโมโซมโดยมีเซนโทรเมียร์ร่วมด้วย รวมทั้งมีการลดจำนวนโครโมโซมลง โดยการเชื่อมรวมกันของโครโมโซมที่เป็นแขนเดียว แสดงให้เห็นในปลาช่อน (*C. striata*) จากประเทศอินเดีย มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่าปลาช่อนของประเทศไทย แต่มีจำนวนโครโมโซมที่มีสองแขนมากกว่า ($2n=40$; $8m+2sm+2a+28t$) สำหรับปลาในประเทศไทยคาดว่า จะมีวิวัฒนาการของโครโมโซมน้อยกว่าของประเทศอินเดีย

วงศ์ปลากระดี่ (Belontiidae)

ปลาในวงศ์นี้มีรายงานการศึกษาคาร์ิโอไทป์จำนวน 7 ชนิด 3 สกุล ได้แก่ ปลากระดี่และปลาสด (*Trichogaster*) ปลากริม (*Trichopsis*) และปลากัด (*Betta*) ลักษณะคาร์ิโอไทป์ของวงศ์นี้มีความน่าสนใจ เพราะส่วนใหญ่จะมีโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกในปริมาณมาก ในสกุลปลากระดี่และปลากริมทุกชนิดจะมีโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทุกแท่ง ยกเว้นสกุลของปลากัด ซึ่งน่าจะเกิดวิวัฒนาการทางโครโมโซมที่สูงกว่า

โดยมีจำนวนโครโมโซมลดลง และมีจำนวนโครโมโซมที่มีสองแขนมากกว่าปลากระดีและปลากริม

ปลาน้ำจืดของประเทศไทยมีความหลากหลายทางโครโมโซมค่อนข้างมาก นอกจากนี้ยังพบว่า ปลาชนิดเดียวกัน ซึ่งอาศัยอยู่ในแหล่งภูมิศาสตร์แตกต่างกัน จะมีจำนวนโครโมโซมและคาริโอไทป์ที่แตกต่างกัน ดังในกรณีของปลาชิวข้าวสารแคระ (*Oryzias minutillus*) และปลาไหลนา (*Monopterus albus*) โดยปลาชิวข้าวสารแคระที่กรุงเทพฯ มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 34 แท่ง คาริโอไทป์ประกอบด้วย โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 8 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 2 แท่ง และเทโลเซนทริก 24 แท่ง ส่วนปลาชิวข้าวสารแคระที่เชียงใหม่ มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 30 แท่ง คาริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 12 แท่ง ซับเมทาเซนทริก 2 แท่ง และเทโลเซนทริก 16 แท่ง สามารถอธิบายการเกิดได้โดยปลาที่เชียงใหม่เกิดมีวิวัฒนาการของโครโมโซม โดยโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก 8 แท่ง เกิดการเชื่อมรวมกันแบบ โรเบิร์ตโซเนียนทรานสโลเคชัน (Robertsonian translocation) หรือ เซนทริกฟิวชัน (centric fusion) เป็นโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 4 แท่ง จึงทำให้ปลาจากเชียงใหม่มีโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกเพิ่มขึ้นอีก 4 แท่ง และโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกลดลง 8 แท่ง แต่อย่างไรก็ตาม ปลาชิวข้าวสารแคระจากทั้งสองประชากร มีจำนวนแขนโครโมโซมเท่ากัน (fundamental number, NF) คือ 44

ในกรณีของปลาไหลนาที่เก็บตัวอย่างได้จากภาคกลาง พบว่า มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 18 แท่ง ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 6 แท่ง และเทโลเซนทริก 12 แท่ง ปลาไหลนาจากภาคอีสาน มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 24 แท่ง เป็นโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกทั้งหมด สามารถอธิบายได้เช่นเดียวกับกรณีของปลาชิวข้าวสารแคระ

ข้อมูลทางด้านคาริโอไทป์ของปลาน้ำจืดในประเทศไทยยังคงต้องมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องในปลา

น้ำจืดของประเทศไทยทุกชนิด และครอบคลุมทั่วประเทศรวมถึงควรมีการศึกษาการย้อมแถบสีของโครโมโซมให้มากขึ้น เนื่องจากยังมีรายงานการศึกษาค่อนข้างน้อยมาก ทั้งนี้ก็ความรู้ต่างๆ เหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาด้านวิวัฒนาการของปลาน้ำจืด ซึ่งจะเป็นพื้นฐานของการศึกษาลักษณะของจีโนม (genome) ของปลาแต่ละชนิด รวมถึงการปรับปรุงพันธุ์ปลาน้ำจืดที่สำคัญต่อไปในอนาคต

ปัญหา ข้อควรระวัง และสิ่งที่ควรจะทำเพิ่มเติมสำหรับการศึกษาคาริโอไทป์ของปลา

1. การเรียกชื่อโครโมโซมของปลาควรใช้ในรูปแบบที่เป็นระบบแบบสากลหรือให้เป็นไปในแนวทางเดียวกัน เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาของการเข้าใจผิด อันเกิดจากการเรียกชื่อโครโมโซมแตกต่างกัน ซึ่งสิ่งนี้จำเป็นมากสำหรับผู้ที่จะศึกษางานด้านพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาต่อไปในอนาคต

2. ความละเอียดรอบคอบของการวัดขนาดของโครโมโซม รวมถึงการวัดแขนข้างสั้นและแขนข้างยาวของโครโมโซม เพื่อจัดจำแนกชนิดของโครโมโซม โดยในขั้นตอนของการวัดควรจะใช้ภาพโครโมโซมระยะเมทาเฟสที่ได้รับการขยายขนาดที่ใหญ่พอสมควร วิธีการดังกล่าวจะทำให้การวัดเกิดข้อผิดพลาดน้อยลง

3. ค่า NF คือ จำนวนแขนของโครโมโซมในการเขียนรายงานแต่ละครั้ง ควรระบุเสมอว่า มีลักษณะในการนับอย่างไร ซึ่งจากรายงานที่ผ่านมาพบได้ 2 กรณี คือ

- 3.1 ถือว่าโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก-ซับเมทาเซนทริก และอะโครเซนทริก มีจำนวนแขนโครโมโซมเท่ากับ 2 ส่วนโครโมโซมชนิดเทโลเซนทริกมีจำนวนแขนโครโมโซมเท่ากับ 1

- 3.2 ถือว่าโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกและซับเมทาเซนทริก มีจำนวนแขนโครโมโซมเท่ากับ 2 สำหรับโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และเทโลเซนทริกมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 1

4. ปลาที่จะนำมาทำการศึกษาจำเป็นจะต้องทราบชนิดของปลาชนิดนั้นๆ ให้ถูกต้องที่สุด หรือต้องได้รับการตรวจสอบจากผู้เชี่ยวชาญด้านอนุกรมวิธานของปลาก่อนที่จะรายงานผลการทดลอง รวมถึงจะมีการรวบรวมและจัดทำฐานข้อมูลคาร์ิโอไทป์ของปลาน้ำจืดประเทศไทย โดยจะต้องมีการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ทั้งชื่อที่เคยมีการใช้ในอดีตและชื่อที่นิยมใช้ในปัจจุบันอย่างครบถ้วน เพราะสิ่งเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่ให้นำข้อมูลไปใช้ในการศึกษาด้านอื่นๆ ต่อไป เช่น งานด้านการศึกษาเซลล์อนุกรมวิธาน (cytotaxonomy) ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของปลารวมถึงข้อมูลเหล่านี้จะเป็นพื้นฐานของการศึกษาลักษณะทางจีโนมของปลาแต่ละชนิด และสุดท้ายของคความรู้นี้ต่างๆ ที่ได้รับจะนำไปใช้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ปลาที่สำคัญทางเศรษฐกิจและปลาที่ใกล้สูญพันธุ์ของไทยต่อไปในอนาคต

5. ควรจะมีการจัดทำมาตรฐานของโครโมโซมของปลาน้ำจืดแต่ละชนิด โดยเฉพาะปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและปลาที่ใกล้สูญพันธุ์ เพื่อเป็นประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์และการอนุรักษ์ต่อไปในอนาคต

6. ควรทำการศึกษาโครโมโซมเพศของปลาแต่ละชนิดด้วย เนื่องจากปลาเป็นสัตว์ที่มีระบบควบคุมเพศที่ค่อนข้างหลากหลาย

บรรณานุกรม

เกรียงไกร สี่ตะพันธุ์. 2550 ก. คาร์ิโอไทป์ของปลา 6 ชนิดในวงศ์ Cyprinidae. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 749-758.

เกรียงไกร สี่ตะพันธุ์. 2550 ข. คาร์ิโอไทป์ปลาอุกอุย (Clarias macrocephalus) ปลาอุกยักษ์ (C. gariepinus) และปลาอุกลูกผสม (C. hybrid). ในการประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2550.

วันที่ 3-5 กรกฎาคม 2550 ณ ห้องประชุมกรมประมง กรมประมง, กรุงเทพมหานคร. P13.

เกรียงไกร สี่ตะพันธุ์ และทักษิณา เหมยคำ. 2547. คาร์ิโอไทป์ของปลา 10 ชนิดในวงศ์ Cyprinidae. วิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 22 (พิเศษ): 92-101.

เกรียงไกร สี่ตะพันธุ์ และ ปริศนา จริยวิทยาวัฒน์. 2546. การศึกษาคาร์ิโอไทป์ของปลาคือ (สกุล Schistura) จากลุ่มน้ำสาขาของแม่น้ำปิง จังหวัดเชียงใหม่. สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 13, วันที่ 5-7 มิถุนายน 2546, มหาวิทยาลัยนครสวรรค์, พิษณุโลก. 346-351.

เกรียงไกร สี่ตะพันธุ์ และ วรางคณา พระคุณ. 2549. คาร์ิโอไทป์ของปลานิล ปลาหมอเทศ และปลานิลแดง. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 44 (สาขาประมง). วันที่ 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2549 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 453-460.

เกรียงไกร สี่ตะพันธุ์ และ มลฤดี คำมาอ้าย. 2549. คาร์ิโอไทป์ปลาสกุล Trichogaster ในประเทศไทย. ใน การประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2549. วันที่ 25-27 กรกฎาคม 2549 ณ ห้องประชุมกรมประมง กรมประมง, กรุงเทพมหานคร. 323-329.

จันทิมา ปิยะพงษ์. 2542. คาร์ิโอไทป์และการกระจายของบริเวณนิวคลีโอไล์สอออกาในเซอร์ของปลาตะเพียน 4 ชนิดในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ชาลิต วิทยานนท์ จรัสธาดา กรรณสูต และ จารุจินต์ นภิตะภักดิ์. 2540. ความหลากหลายชนิดของปลาน้ำจืดในประเทศไทย. สำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพมหานคร.

- ชวลิต วิทยานนท์. 2547. คู่มือปลาน้ำจืด. สารคดี, กรุงเทพมหานคร.
- ธวัช ดอนสกุล. 2535. การศึกษาโครโมโซมของปลาเนื้ออ่อน ปลาแดง และปลาชะโอนของไทย. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 18. B-056: 398-399.
- ธวัช ดอนสกุล. 2537. การศึกษาโครโมโซมของปลาอีกรอก และปลาตะเพียนสมพงษ์ที่พบในประเทศไทย. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 20. กรุงเทพฯ. B-64 หน้า 382-383.
- ธวัช ดอนสกุล. 2539. การศึกษาโครโมโซมของปลาเค้าดำ ปลาเค้าขาว ปลาแดงเบื่อน และปลาก้างพระร่วง ที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องได้การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 34 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 367-377.
- ธวัช ดอนสกุล. 2540. การศึกษาโครโมโซมของปลาสร้อยขาว ปลาร่องไม้ตับ ปลาเขยา และปลาชิวไบไผ่ที่พบในประเทศไทย. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาประมง อุตสาหกรรมเกษตร ศึกษาศาสตร์ มนุษยศาสตร์ สังคมศาสตร์ การจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 155-164.
- ธวัช ดอนสกุล. 2541. การศึกษาโครโมโซมของปลาจิมฟันจระเข้ ปลากระทิงเหว ปลาปล้องอ้อย และปลาเป็นที่พบในประเทศไทย. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36 สาขาประมง สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 135-147.
- ธวัช ดอนสกุล. 2543. การศึกษาโครโมโซมของปลาแขยงแถบขาว ปลาแขยงนวล และปลาแขยงธงที่พบในประเทศไทย. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 สาขาประมงและสาขาวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 217-226.
- ธวัช ดอนสกุล. 2544. การศึกษาโครโมโซมของปลากดเหลือง กดดำ กดแก้ว และแขยงใบข้าวที่พบในประเทศไทย. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 209-219.
- ธวัช ดอนสกุล. 2545. การศึกษาโครโมโซมของปลาแขยงข้างลาย แขยงหิน ดุกมุด ดุกมุดครีบสูงที่พบในประเทศไทย. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 681-691.
- ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2531. การศึกษาโครโมโซมของปลาหมอไทย และปลาหมอ-ตาล. ใน รายงานผลการวิจัยในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 26 สาขาสัตว์ สัตวแพทย์ ประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 429-433.
- ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2532ก. การศึกษาโครโมโซมของปลาดุกด้านและปลาดุกอุยที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องได้การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 421-428.
- ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากดุ่น. 2532ข. รายงานการวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ เรื่องการ

ศึกษาโครโมโซมของปลากระโทง และปลากระโทงไฟ ที่พบในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2533. การศึกษาโครโมโซมของปลากลาย ปลาตองลาย และปลาสาครที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 459-466.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2534. การศึกษาโครโมโซมของปลาช่อน ช่อนงูเห่า ชะโค กระสง และปลาก้างที่พบในประเทศไทย. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 สาขาสัตวศาสตร์ ประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 561-574.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2535. การศึกษาโครโมโซมของปลาหลดจุด ปลาหลดภูเขา ปลาหลด และปลากระโทงคำที่พบในประเทศไทย. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 30 สาขาสัตวศาสตร์ ประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 621-630.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2536. การศึกษาโครโมโซมของปลากาแดง ปลาทรงเครื่อง และปลาอีสกเทส. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 สาขาสัตวศาสตร์ ประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 543-551.

ธวัช ดอนสกุล และ วิเชียร มากดุ่น. 2537. การศึกษาโครโมโซมของปลาไหลในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย. ใน เรื่องเต็ม

การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 สาขาสัตวศาสตร์ ประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 532-538.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2538. การศึกษาโครโมโซมของปลาพรม ปลากระมัง ปลาแปบ และปลาชีวกวายที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33 สาขาประมง อุตสาหกรรมเกษตร ศึกษาสาตร์ มนุษยศาสตร์ สังคมศาสตร์ การจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 128-138.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2540. การศึกษาโครโมโซมของปลานวลจันทร์น้ำจืด ปลาบ้า ปลาสร้อยลูกกล้วย ปลากระแห และปลาตะเพียนขาวที่พบในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. กรุงเทพฯ 13(2): 30-42.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2542. การศึกษาโครโมโซมของปลาบึก และปลาเทพาที่พบในประเทศไทย. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37 สาขาประมง สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 221-226.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2544. การศึกษาโครโมโซมของปลาตะเพียนปากหนวดและปลาปากหนวดที่พบในประเทศไทย. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 27. สงขลา. 17-13P-10 หน้า 432.

ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2545ก. การศึกษาโครโมโซมของปลาชีวกวาก ปลาชีวกวาย ปลาชีวกวาย และปลาชีวกวายที่พบในประเทศไทย. การประชุมวิชาการเพื่อเสนองานวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ: 1-7.

ธวัช คอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2545ข. คาริโอไทป์ของปลาตะเพก และปลาเก๋าที่พบในประเทศไทย. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 28. 09-02 หน้า 380.

ธวัช คอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2546 ก. คาริโอไทป์ของปลาบู่ หัว่น้ำนอ สะอี่ และปลาหมอที่พบในประเทศไทย. สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 13, วันที่ 5-7 มิถุนายน 2546, มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก: 352-355.

ธวัช คอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2546 ข. คาริโอไทป์ของปลาอุกดำฟัน อุกปากกว้าง และกูดโพที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 สาขาประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 289-297.

ธวัช คอนสกุล และอนันต์ พุทธิยาสถาพร. 2545. รายงานการวิจัย คาริโอไทป์ของปลาวงศ์ไซไพรอนิตี 15 ชนิดที่พบในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.

ธวัช คอนสกุล และอนันต์ พุทธิยาสถาพร. 2548. คาริโอไทป์ของปลาวงศ์ไซไพรอนิตี 5 ชนิดที่พบในประเทศไทย. สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 14, โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ: 217-222.

ธวัช คอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และอนันต์ พุทธิยาสถาพร. 2544. คาริโอไทป์ของปลาร่องไม้ตับข้างลาย สร้อยนกเขา และปลาพรหม ที่พบในประเทศไทย. สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 12, 28-30 มีนาคม 2544, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ: 218-221.

ธวัช คอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. 2547ก. คาริโอไทป์ของปลาเผาะสังกะวาดเหลือง และสังกะวาดทองคม ที่พบ

ในประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 198-206.

ธวัช คอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. 2547ข. คาริโอไทป์ของปลาปักเป้าควาย ปักเป่าดำ ปักเป่าสีลอน และปักเป่าเขียวที่พบในประเทศไทย. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 30. B-0018: 47.

ธวัช คอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. 2548 ก. คาริโอไทป์ของปลาฉวี 5 ชนิดในชั้นแฟมิเลียสبورนิ. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 31. วันที่ 18-20 ตุลาคม 2548. ณ เทคโนโลยีธานี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา. หน้า 125.

ธวัช คอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. 2548 ข. คาริโอไทป์ของปลาไส้ตันตะกอก จาด และปลาน้ำฝายที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 สาขาประมง สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 344-351.

ธวัช คอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. 2549 ก. การศึกษาคาริโอไทป์ของปลาหางม่วง หางเหลือง ไส้ตัน และแก้มขำสาละวิน ที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 469-476.

ธวัช คอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. 2549 ข. คาริโอไทป์ของปลาวงศ์

- ไซไฟโรนิน 4 ชนิดที่พบในประเทศไทย. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 32. B1 B0207, หน้า 99.
- ธวัช ดอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. 2549 ค. คาริโอไทป์ของปลาแรด ปลาแรดแม่น้ำโขง และปลาแรดแดง. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 461-468.
- ธวัช ดอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และ อัจฉริยา รังษิรุจิ. 2551. การศึกษาคาริโอไทป์ของปลา หมูขาว ปลาหมูกอก ปลาหมูหางจูด ปลาหมู ข้างลาย และปลาหมูลายเสือที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 351-359.
- ธวัช ดอนสกุล วิเชียร มากดุ่น และอิโรชิ อุวะ. 2530. การศึกษาคาริโอไทป์ของปลากระดี่นาง และ ปลาสลิดของไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุม ทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 สาขาวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพ-มหานคร. 113-119.
- ธวัช ดอนสกุล อัจฉริยา รังษิรุจิ และวิเชียร มากดุ่น. 2550. คาริโอไทป์ของปลาจาด จาด ปากเปลี่ยน และสร้อยน้ำเงินที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหา- วิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 740-748.
- วิสุทธิ ใบไม้. 2533. พันธุศาสตร์, (พิมพ์ครั้งที่ 2). เจ้าพระยาระบบการพิมพ์, กรุงเทพมหานคร.
- วิเชียร มากดุ่น และธวัช ดอนสกุล. 2532. คาริโอ- ไทป์ของปลากระโทง และปลาอีสกไทย. รายงานการวิจัยสาขาเกษตรและชีววิทยา, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- วิเชียร มากดุ่น และธวัช ดอนสกุล. 2533. สันฐาน วิทยาและคาริโอไทป์ของปลาพลวงหิน ปลา แก้มขี้ และปลาปาก ในแม่น้ำปาย จังหวัด แม่ฮ่องสอน ภาคเหนือของประเทศไทย. รายงานการวิจัยสาขาเกษตร และชีววิทยา, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 16 น.
- วิเชียร มากดุ่น และอิโรชิ อุวะ. 2530. การศึกษา สันฐานวิทยาและพันธุศาสตร์ของปลานาข้าว ขนาดเล็ก, *Oryzias minutillus* (Smith 1945) ในภาคกลาง และภาคเหนือของประเทศไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25 สาขา วิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 105-110.
- วิเชียร มากดุ่น ธวัช ดอนสกุล และอัจฉริยา รังษิรุจิ. 2549. คาริโอไทป์ของปลาช่อนข้าหลวง และ ปลาช่อนหางดอก ที่พบในประเทศไทย. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 32. B1 B0206: 99.
- วิเชียร มากดุ่น ธวัช ดอนสกุล และอิโรชิ อุวะ. 2532. คาริโอไทป์ของปลากระแห และปลากา ของ ไทย. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 429-433.
- วิเชียร มากดุ่น อัจฉริยา รังษิรุจิ และธวัช ดอนสกุล. 2550. คาริโอไทป์ของปลากัดหม้อ ปลากัดจีน ปลากัดหัวโหม่ง ปลากัดควาย และปลากะดี่ หม้อที่พบในประเทศไทย. ในการประชุม วิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่ง ประเทศไทย ครั้งที่ 33. B3-B00, หน้า 64.

- วิเชียร มากดุ่น อุทัย ทิพเสนา และ Y. Taki. 2531. คาร์ิโอไทป์ของปลาสร้อยนกเขา และปลาตะพากของไทย. ใน เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 26 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 429-433.
- สุมิตรา วิสุทธารมณ. 2537. พันธุกรรมของเซลล์ยูคาริโอต. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- สุมิตรา วัฒนธอร์, วิวัฒน์ ขวนไข่ และ วัฒนา วัฒนวิจารณ์. 2528. เซลล์เลี้ยงของปลาช่อน. เวชสารสัตว์แพทย์ 15(4): 305-312.
- สรัญ รามางกูร ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากดุ่น. 2547. คาร์ิโอไทป์ของปลาหมอสี 6 ชนิดในวงศ์คิลี. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 30. B0123.
- อมรา คัมภีรานนท์. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- อঞ্জริยา รังษิธิ วิเชียร มากดุ่น และธวัช ดอนสกุล. 2550 ก. คาร์ิโอไทป์ของปลาแกง ปลาปักธง ปลากระมัง และปลาตามีน (วงศ์ไซไพรินิดี) ที่พบในประเทศไทย. สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 15: พันธุศาสตร์กับการพัฒนาประเทศ ตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง. โรงแรมบีพี สมิหลา บีช สงขลา. 217-222.
- อঞ্জริยา รังษิธิ วิเชียร มากดุ่น และธวัช ดอนสกุล. 2550 ข. คาร์ิโอไทป์ของปลาแก้ว แก้วควาย แก้ว และแก้มหินสามแถบที่พบในประเทศไทย. ใน เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, กรุงเทพมหานคร. 732-739.
- อุทัยรัตน์ ณ นคร. (2543). พันธุศาสตร์สัตว์น้ำ. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- Chen, T. R. 1971. A comparative chromosome study of twenty killifish species of the genus *Fundulus* (Teleostei: Cyprinodontidae). *Chromosoma*, 32: 436-453.
- Klug, W.S. and Cummings. M.R. 2003. Concepts of genetics, 7th ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Levan, A., K. Fredga and Sandberg. A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Macgregor, H.C. 1993. An introduction to animal cytogenetics. Chapman (Hall, London.
- Magtoon, W. and Donsakul. T. 1987. Karyotype of Psngasiid catfishes, *Pangasius sutchi* and *P. larnuadii* from Thailand. *Japan. J. Ichthyol.* 34(3): 306-398.
- Magtoon, W. and Arai. R. 1990. Karyotype of Three Cyprinid Fishes, *Osteochilus husselti*, *O. vittatus*, and *Labiobarbus lineatus*, from Thailand. *Japan. J. Ichthyol.* 36(4): 483-486.
- Stivari, M. K. and Martins-Santos. I. C. 2004. Karyotype diversity in two populations of *Rhamdia quelen* (Pisces, Heptapteridae). *Cytologia*. 69 (1): 25-34.
- Strickberger, M.W. 1968. Genetics. Macmillan, New York.
- Sumner, A.T. 2003. Chromosomes: Organization and Function. Blackwell, United Kingdom.
- White, M. J. D. 1973. Animal cytology and evolution, 3rd ed. Cambridge University Press, London.

ศัตรูธรรมชาติและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยร่วมกับแมลงร้นดำ

Natural Enemies and Symbionts of Black Flies

เจลิยว กุวังคะดิลก ^{1*} และ เสน่ห์ จิตต์กลาง ¹

ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น มาเลเซีย พม่าและประเทศไทย เป็นพื้นที่ป่าเขตร้อนที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) สูงมาก ในประเทศไทยช่วง 12 ปี (2539-2551) ที่ผ่านมานักวิจัยที่ได้รับการสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) ได้รายงานการพบจุลินทรีย์ (Kanjana-Opas et al., 2007) สาหร่าย (อาภารัตน์ มหาขันธ์ และคณะ, 2544) แพลงก์ตอน (ละออศรี เสนาะเมือง, 2544) พืช (พวงเพ็ญ ศิริรักษ์, 2544) สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (เจลิยว กุวังคะดิลก และคณะ, 2544) และสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง (Nakwa, 2007) ชนิดที่มีผู้พบแล้วและชนิดใหม่เป็นจำนวนมาก แมลงร้นดำเป็นตัวอย่างของแมลงที่มีความหลากหลายทางชีวภาพค่อนข้างสูง ในอดีตได้มีรายงานการพบแมลงร้นดำในประเทศไทยเพียง 26 ชนิด (เช่น Takaoka and Suzuki, 1984; Takaoka and Saito, 1996) ปัจจุบันมีร้นดำอย่างน้อยที่สุดจำนวน 77 ชนิด ซึ่งรวมทั้งชนิดใหม่จำนวน 39 ชนิด ที่แพร่กระจายในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศ (เช่น Takaoka and Kuvangkadilok, 1999; Kuvangkadilok and Takaoka, 2000; Takaoka and Choochote, 2004; Takaoka and Choochote, 2005; Takaoka and Choochote, 2006; Jitklang and

Kuvangkadilok, 2007; Pramual and Tangkawanit, 2008) นอกจากนี้ยังพบแมลงร้นดำกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน (species complexes) จำนวน 5 กลุ่มที่มีการแตกแขนงจากสปีชีส์หนึ่งออกเป็นสปีชีส์ใหม่หลายสปีชีส์ (speciation) ที่มีรูปร่างลักษณะพื้นฐานภายนอกคล้ายคลึงกันมาก (Jitklang et al., 2008; Kuvangkadilok et al., 2008; Tangkawanit et al., 2009).

ความหลากหลายทางชีวภาพมีองค์ประกอบหลัก 3 ประการ (วิสุทธ์ ไบไม้, 2545) ได้แก่ ความหลากหลายของสปีชีส์ (species diversity) ไม่ว่าจะเป็นพวกจุลินทรีย์ พืชและสัตว์ สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีองค์ประกอบทางพันธุกรรมแตกต่างแปรผันกันมากมาย (genetics diversity) เพื่อตอบสนองให้สอดคล้องเหมาะสมกับสภาพแหล่งที่อยู่อาศัยแต่ละท้องถิ่นซึ่งเป็นระบบนิเวศที่ซับซ้อนและหลากหลาย (ecological diversity) (วิสุทธ์ ไบไม้, 2532, 2542) สิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากย่อมมีโอกาสปรับตัวและอยู่รอดได้ดีกว่าพวกที่ไม่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมหรือที่มีอยู่น้อย ยังผลให้สิ่งมีชีวิตบางชนิดบางกลุ่มปรับตัวทางพันธุกรรมให้สามารถอาศัยอยู่ร่วมกันและมีปฏิสัมพันธ์ซึ่งกันและกันตามกระบวนการวิวัฒนาการร่วมกัน (coevolutionary process) เป็นเวลายาวนานอย่างได้ดุลยภาพ (วิสุทธ์ ไบไม้, 2545)

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

* Corresponding author, E-mail: scckv@mahidol.ac.th

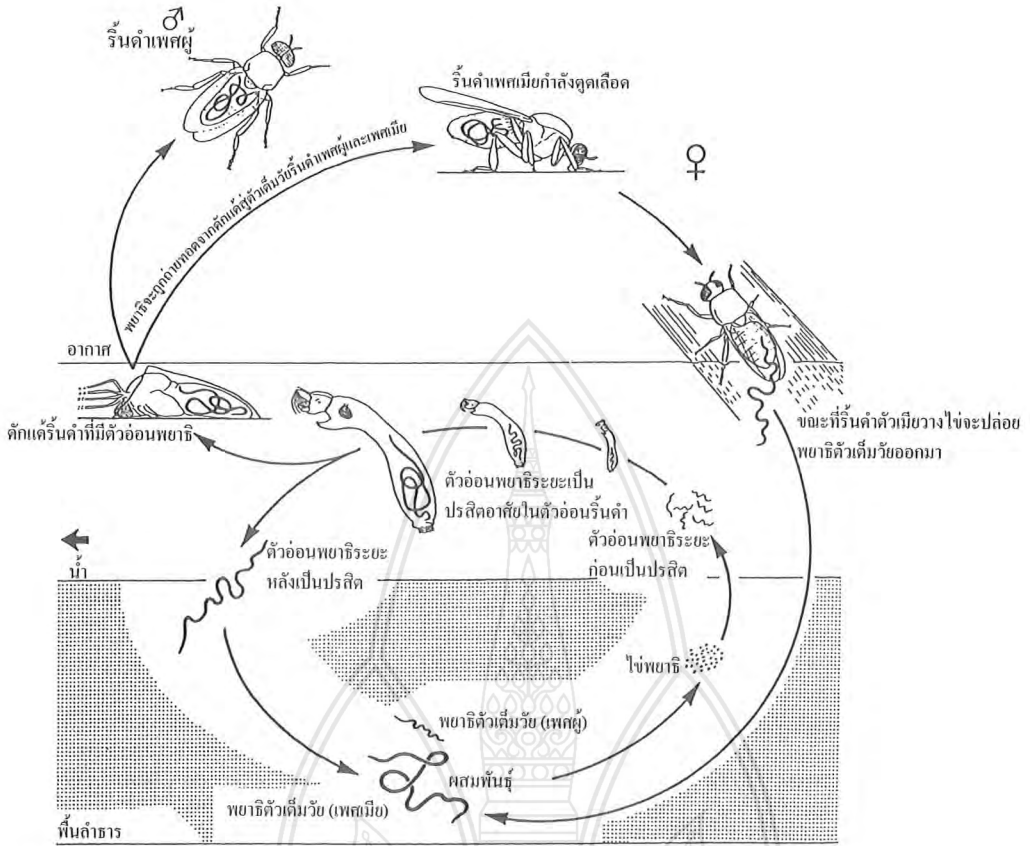
ตัวอย่างการปรับตัวทางพันธุกรรมร่วมกันระหว่างเชื้อก่อโรค (pathogen) หรือปรสิต (parasite) กับโฮสต์ (host) ที่เป็นสัตว์และพืช หรือระหว่างพืชกับแมลงศัตรูพืช โฮสต์จะต้องปรับตัวหนีหรือต่อต้าน ขณะที่ศัตรูผู้รุกรานจะต้องปรับตัวตาม ผลของการมีวิวัฒนาการร่วมกันระหว่างเชื้อก่อโรคหรือปรสิตกับโฮสต์ จะเห็นได้จากความคล้ายคลึงและสอดคล้องกันของแขนงสายวิวัฒนาการของศัตรูผู้รุกรานและผู้ถูกรุกราน (Ridley, 1996) ในประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพมากมายโดยเฉพาะการมีชีวิตร่วมกันอย่างสันติ (symbiosis) ในกลุ่มพืชและกลุ่มแมลงที่มีวิวัฒนาการร่วมกัน อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานว่ามีสิ่งมีชีวิตใดบ้างอาศัยร่วมกับแมลงรึ้นดำในบ้านเรา และสิ่งมีชีวิตนั้นมีโทษต่อรึ้นดำหรือไม่บทความนี้ได้รายงานศัตรูธรรมชาติและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยร่วมกับแมลงรึ้นดำโดยทั่วไปและรายงานการศึกษาเบื้องต้นของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยร่วมกับตัวอ่อนรึ้นดำบางชนิดที่มีแหล่งอาศัยในบริเวณภาคเหนือของประเทศไทย

แมลงรึ้นดำมีศัตรูธรรมชาติและสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยร่วมกันเป็นจำนวนมาก สิ่งมีชีวิตเหล่านี้อาจเป็นตัวห้ำที่ฆ่าโดยตรงหรือในทางอ้อมอาจเป็นพวกปรสิตที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมจำนวนรึ้นดำ ในไช้รึ้นดำไม่มีปรสิตแต่มีสิ่งมีชีวิตเป็นจำนวนมากอาศัยร่วมกับตัวอ่อนรึ้นดำ (Adler et al., 2004) ได้แก่ พยาธิตัวกลมพวกเมอมีทิดส์ (mermithids) เชื้อราพวกไคทริดส์ (chytirids) และไตรโคโมไซเทส (trichomycetes) สตรามีโนไฟล์ (stramenopiles) ไมโครสปอริเดีย (microsporidia), เฮลิโคสปอริเดีย (helicosporidia), อิกทิโอสปอเรียนส์ (ichthyosporeans), โปรโทซัวพวกซิลิเอต (ciliase) และแฮปโลสปอริเดีย (haplosporidia) แบคทีเรีย และไวรัส นอกจากนี้ยังมีปรสิตภายนอกและตัวห้ำ อาจพบสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ในตัวด้กด้และตัวเต็มวัยรึ้นดำเช่นกัน อย่างไรก็ตาม มีปรสิตบางชนิดที่อาศัยร่วมกับตัวเต็มวัยรึ้นดำโดยเฉพาะ ได้แก่ พยาธิตัวกลมฟิลาเรีย (filarial nematodes) โปรโทซัวพวกสกูลีโคไซโทซูน (*Leucocytozoon*) และพวกทริพา-

โนโซม (trypanosome) เชื้อรา (entomophtholles) และไรน้ำ (Hydracarina) ในวงศ์ Spermantidae

พยาธิตัวกลม (nematodes)

ในแมลงรึ้นดำพบพยาธิตัวกลมที่จัดจำแนกในวงศ์ Mermithidae, Onchocercidae และ Robertdolfusidae พยาธิตัวกลมพวกเมอมีทิดส์ มีระยะที่เป็นทั้งปรสิตและชีวิตอิสระ ในขณะที่พยาธิตัวกลมพวกองโคเซอร์คิเดส (onchocercids) เป็นปรสิตที่ใช้ชีวิตอยู่ในตัวเต็มวัยรึ้นดำและสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง พยาธิตัวกลมพวกเมอมีทิดส์ มีรูปร่างยาวเรียว ในช่วงที่เป็นปรสิตจะอาศัยในช่องว่างภายในร่างกายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง หลังจากนั้นจะใช้ชีวิตอิสระ โฮสต์ส่วนใหญ่เป็นพวกแมลงบกและแมลงน้ำ พยาธิตัวกลมอาศัยในแหล่งน้ำเดียวกับตัวอ่อนรึ้นดำ เมื่อพยาธิตัวเต็มวัยผสมพันธุ์จะวางไข่ในลำธาร ตัวอ่อนพยาธิที่ฟักออกจากไข่จะเข้าไปอาศัยในของเหลวภายในตัวอ่อนรึ้นดำ โดยผ่านทางผิวหนัง (Molloy and Jamnback, 1975) ชีวิตวงจรชีวิตของพยาธิตัวกลมพวกเมอมีทิดส์ มี 5 ระยะ และลอกคราบ 4 ครั้ง (Crosskey, 1990) เริ่มจากไข่ → ตัวอ่อนระยะแรกก่อนเป็นปรสิต (preparasitic juvenile) → ระยะสองเป็นปรสิต (parasitic juvenile) → ระยะสามหลังเป็นปรสิต (postparasitic juvenile) → ตัวเต็มวัย (รูปที่ 1) ตัวอ่อนระยะสองเป็นปรสิตอาศัยในโฮสต์เร็วหรือช้าขึ้นกับอุณหภูมิทางซีกโลกตอนเหนือ อากาศหนาวตัวอ่อนพยาธิอาจอยู่ในโฮสต์เป็นเวลาหลายอาทิตย์หรือเป็นเดือน แต่ในแถบศูนย์สูตรอากาศอบอุ่น อาจอาศัยอยู่เพียงหนึ่งหรือสองอาทิตย์ ตัวอ่อนระยะสองออกจากโฮสต์ทางผิวหนังเป็นตัวอ่อนระยะสามที่มีชีวิตอิสระในน้ำ หลังจากนั้นจะลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยภายในเวลา 2-3 วัน แล้วจะวางไข่ในลำธารในเวลารวดเร็วหลังจากผสมพันธุ์ การกระจายของพยาธิในลำธารมีความสัมพันธ์กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ขนาดของลำธารและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำ (McCreadie and Adler, 1999) เมื่อตัวอ่อนระยะแรกก่อนเป็นปรสิต เข้าสู่ตัวอ่อนรึ้นดำ



รูปที่ 1 ชีพจักรชีวิตของพยาธิตัวกลมวงศ์ Memithidae ในโฮสต์ตัวอ่อนแมลงรินดำ (Crosskey, 1990).

มันสามารถรบกวนหรือทำลายในโฮสต์ ดังนั้น อาจพบมันภายในตัวด้งและตัวเต็มวัยรินดำเช่นกัน ถ้าตัวอ่อนพยาธิเข้าไปอยู่ในตัวอ่อนรินดำที่อายุน้อย มันจะมีชีวิตแบบปรสิตอย่างสมบูรณ์ซึ่งทำให้ตัวอ่อนรินดำตายหลังจากที่ตัวอ่อนพยาธิระยะสามออกจากตัวมัน แต่ถ้าตัวอ่อนรินดำที่เจริญเต็มที่แล้วถูกบุกรุกโดยตัวอ่อนพยาธิ ตัวอ่อนรินดำจะมีชีวิตรอดแต่ไม่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ เนื่องจากปรสิตจะควบคุมการเจริญพัฒนา ดังนั้น พยาธิตัวกลมพวกเมอมีทิดส์เป็นศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยรินดำ พยาธิหลายตัวสามารถเจริญในตัวอ่อนหรือตัวเต็มวัยรินดำหนึ่งตัวโดยมันจะเจริญพร้อมๆ กับโฮสต์ แต่ตัวอ่อนพยาธิจะเจริญเร็วกว่าตัวอ่อนโฮสต์สองหรือสามเท่า ดังนั้น เมื่อมองผ่านทะลุผนังท้องของตัวอ่อนรินดำจะเห็นตัวอ่อนพยาธิขดเป็นวงกลมในช่องท้อง ในแง่ความ

สำคัญต่อคน อาจกล่าวได้ว่า พยาธิตัวกลมในวงศ์ Onchocercidae มีความสำคัญมากกว่าวงศ์ Memithidae แต่ถ้าพิจารณาผลต่อแมลงรินดำจะเห็นว่าพยาธิตัวกลมในวงศ์ Onchocercidae มีผลเฉพาะแมลงรินดำตัวเต็มวัยและไม่ค่อยมีผลให้มันตาย ในขณะที่พยาธิตัวกลมในวงศ์ Memithidae โจมตีตัวอ่อนรินดำ และมีผลให้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยรินดำตายเสมอ ในแมลงรินดำพบพยาธิตัวกลมในวงศ์ Memithidae ประมาณ 70 ชนิดสกุลที่พบมาก ได้แก่ สกุล *Gastromermis*, *Isomermis* และ *Mesomermis* นอกจากนี้ ยังพบพยาธิตัวกลมวงศ์ *Hydromermis* และ *Limnomermis* บ้าง (Poinar, 1981) พยาธิตัวกลมเมอมีทิดส์ที่อาศัยในตัวรินดำมีผลให้เกิดการลดไขมันและห้ามการสร้างฮีสโตблаสต์ (histoblast) (Strickland, 1911) ได้มีรายงานผลของพยาธิชนิด *Mesomermis flumenalis* ที่ทำให้เกิดการลดเนื้อเยื่อ

ไขมันในโฮสต์อย่างรวดเร็ว ซึ่งมีผลการสะสม โกลโคเจน (Poinar, 1981) นอกจากนี้ การลดของเหลว และเนื้อเยื่อไขมันของโฮสต์จะทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนของเปลือก ระหว่างการลอกคราบและทำให้เกิดการเพิ่มปริมาตรของเซลล์คอร์ปัส ไดอะคัม (corpus diacum) ควบคู่กับการเพิ่มการทำงานของ DNA/RNA ในคอร์ปัส อัลลาตัม (corpus allatum) ของรีนค่านิด *Simulium venustum* (Condon and Gordon, 1977) ในหลายกรณีพบว่า แมลงรีนค่านิดที่ถูกบุกรุกโดยพยาธิจะเป็นหมัน (Poinar, 1981) นอกจากนี้ยังพบว่า พยาธิชนิด *Isomermis lairdi* ทำให้รังไข่ของรีนค่านิด *Simulium damnosum* ฝ่อ 98.9% และรังไข่ไม่สามารถเจริญต่อไปได้หลังจากกินเลือดแล้ว และมากกว่า 80% ของแมลงรีนค่านิดที่ถูกบุกรุกมีเนื้อเยื่อไขมันลดลงมากหรือไม่มี ซึ่งมีผลให้มันมีชีวิตสั้นเพียง 6 วัน ในขณะที่แมลงรีนค่านิดปกติมีชีวิตรอดถึง 12 วัน

พยาธิตัวกลมในวงศ์ Onchocercidae เรียกว่าพยาธิตัวกลมฟิลาเรีย (filarial worms) เพราะรูปร่างยาวเรียวมากคล้ายเส้นด้าย ประวัติชีวิตของมันแตกต่างจากพยาธิตัวกลมในวงศ์ Mermithidae ที่มีชีวิตอิสระในช่วงหนึ่งของชีวิตรอดและเป็นปรสิตเฉพาะในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง แต่พยาธิตัวกลมฟิลาเรียเป็นปรสิตตลอดชีวิตรอดและมีโฮสต์สองชนิด ชนิดแรกคือ สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และชนิดที่สองคือ สัตว์มีกระดูกสันหลัง (รูปที่ 2) ตัวอ่อนพยาธิเจริญเป็นระยะต่างๆ ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลาง (intermediate host) ที่มันจะเป็นแมลงดูดเลือด เช่น แมลงรีนค่านิดที่เป็นโฮสต์ตัวกลางของพยาธิตัวกลมฟิลาเรียจำนวน 12 สปีชีส์ (Adler and McCredie, 2002) พยาธิตัวเต็มวัยอาศัยและสืบพันธุ์ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ซึ่งเป็นโฮสต์สุดท้าย (definitive host) ที่เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหรือนก แต่บางครั้งอาจเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังพวกเลือดเย็นอาศัยบนบก พยาธิตัวเต็มวัยมีเพศแยก ตัวเมียที่ผสมพันธุ์แล้วจะออกลูกเป็นตัวภายในโฮสต์ที่เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังเรียกว่าไมโครฟิลาเรีย

(microfilariae) (รูปที่ 2) ตรงข้ามกับพยาธิตัวกลมเมมฟิลาเรียที่ตัวเต็มวัยเพศเมียมีชีวิตอิสระและออกไข่นอกตัวโฮสต์

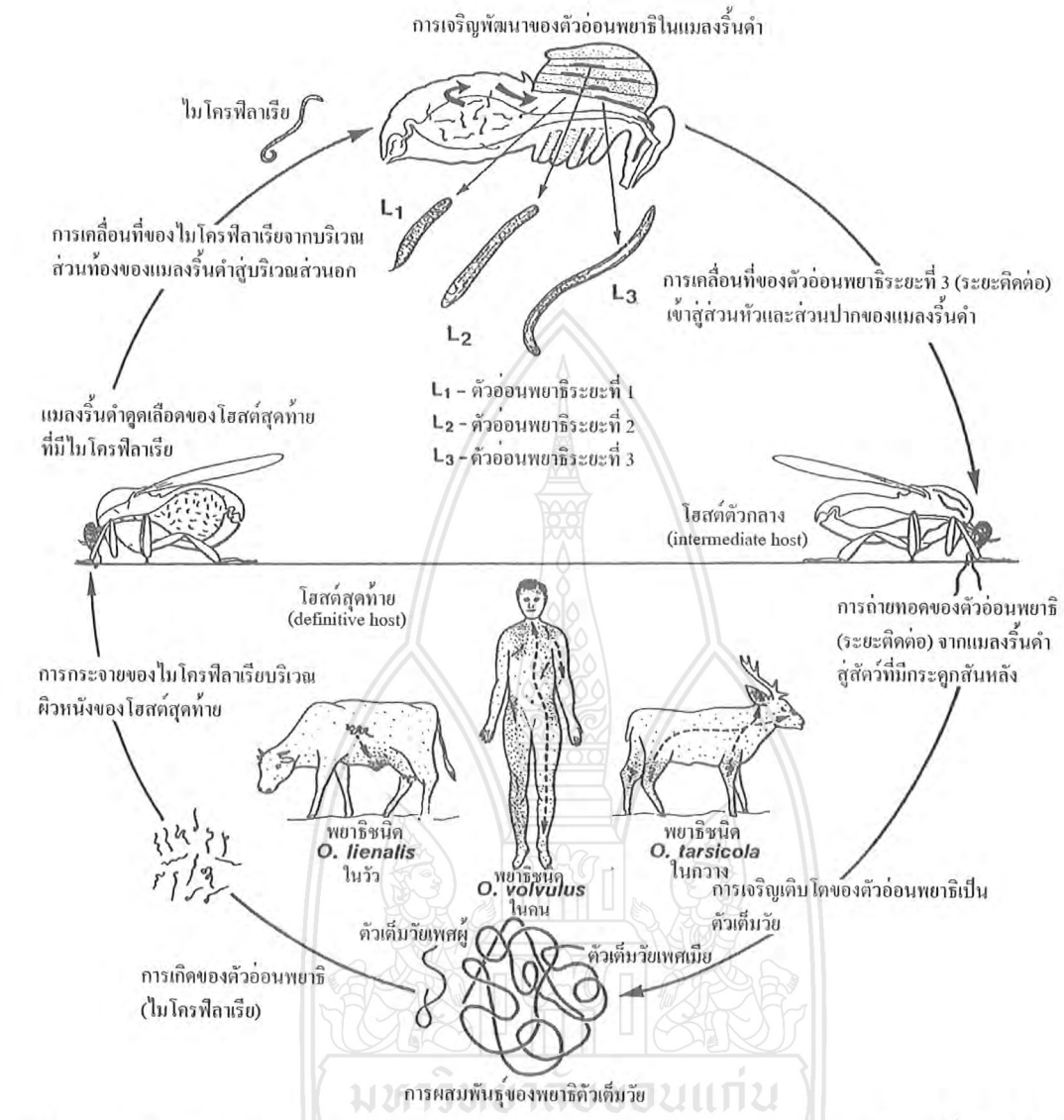
แมลงรีนค่านิดเป็นพาหะของพยาธิตัวกลมในวงศ์ Onchocercidae 8 ชนิดที่จำแนกในสกุล *Onchocerca*, *Mansonella*, *Splendidofilaria* และ *Dirofilaria* (Crosskey, 1990) พยาธิตัวกลมฟิลาเรียทั้งหมด (ยกเว้นพยาธิชนิดหนึ่งในสกุล *Splendidofilaria* คือ *S. fallisensis* ที่เป็นปรสิตของเป็ด) เป็นปรสิตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พยาธิชนิด *Dirofilaria ursi* เป็นปรสิตของหมาในรัสเซีย แคนาดา อเมริกาเหนือและญี่ปุ่น พยาธิสกุล *Onchocerca* และ *Mansonella* เป็นปรสิตของคน พยาธิชนิด *Onchocerca volvulus* ทำให้เกิดโรค Onchocerciasis (river blindness) ในคน พยาธิสกุล *Mansonella ozzardi* ไม่ทำให้เกิดโรคในคน นอกจากนี้ พยาธิสกุล *Onchocerca* อย่างน้อย 5 ชนิดเป็นปรสิตของ วัว และควาย พยาธิแต่ละสกุลมีชีววัฏจักรชีวิตพื้นฐานคล้ายคลึงกันจะแตกต่างกันตรงตำแหน่งที่ตัวอ่อนพยาธิเจริญภายในตัวรีนค่านิด การเจริญพัฒนาของตัวอ่อนพยาธิสกุล *Onchocerca* และ *Mansonella ozzardi* เกิดในกล้ามเนื้อสำหรับบินบริเวณส่วนอกของแมลง ตัวอ่อนพยาธิสกุล *Splendidofilaria fallisensis* เกิดในช่องว่างบริเวณส่วนท้อง และตัวอ่อนพยาธิสกุล *Dirofilaria ursi* เกิดในมัลพิกเซียน ทิวบูลล์ (Malpighian tubules)

เชื้อรา (Fungi)

ตัวอ่อนรีนค่านิดเป็นโฮสต์ของเชื้อราจำนวนมาก ที่มีรูปแบบชีวิตต่างกัน มีเชื้อรา 2-3 ชนิดที่เป็นศัตรูของตัวอ่อน แต่ชนิดอื่นๆ อาศัยในหรือบนตัวอ่อนรีนค่านิดที่ไม่ทำอันตรายและมักเป็นแบบเกื้อกูล (commensalism) มากกว่าเป็นปรสิต

ในแมลงรีนค่านิดพบเชื้อรา 4 กลุ่ม (Adler et al., 2004) ได้แก่

1. อันดับ Chytridiales ชั้น Chytridiomycetes เช่น เชื้อราชนิด *Coelomycidium simulii*



รูปที่ 2 ชีพจักรชีวิตของพยาธิตัวกลมวงศ์ Onchocercidae ชนิด *Onchocerca* spp. ที่มีแมลงวันดำเป็นโฮสต์ตัวกลางและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นโฮสต์สุดท้าย (Crosskey, 1990).

2. อันดับ Harpellales ชั้น Trichomycetes เช่น เชื้อราชนิด *Genistellospora homothallica*, *Harpella* spp, *Pennella* spp, *Simuliomyces microsporus* และ *Smittium* spp. พบสมาชิกของเชื้อราชั้น Trichomycetes เป็นจำนวนมากในตัวอ่อนวันดำทั่วโลก ต้องทำการผ่าทางเดินอาหารจึงจะเห็นเชื้อราเหล่านี้
3. อันดับ Entomophthorales ชั้น Zygomycetes เช่น เชื้อราชนิด *Entomophthora culicis*

- เชื้อราในชั้น Zygomycetes ปลูกทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยวันดำ
4. ชั้น Hyphomycetes เช่น เชื้อราชนิด *Tolypocladium* sp.
- Coelomycidium simulii* เป็นเชื้อราชั้น Chytridiomycetes ที่ปลูกและเป็นปรสิตของตัวอ่อนวันดำอย่างกว้างขวาง ครั้งแรกเข้าใจว่ามันเกิดเฉพาะตัวอ่อนโดยเข้าไปในตัวอ่อนที่อายุน้อยและทำให้

ตัวอ่อนตาย เมื่อไม่นานนี้มีหลักฐานแสดงให้เห็นว่ามันเกิดในคักแด้บางโอกาส อย่างไรก็ตาม ประวัติชีวิตมันยังไม่ทราบอย่างสมบูรณ์ สามารถสังเกตเห็นตัวอ่อนริ้นดำที่ถูกบุกรุกโดยเชื้อราชนิดนี้ได้ง่ายโดยบริเวณส่วนอกและส่วนท้องทั้งหมดของตัวอ่อนริ้นดำเต็มไปด้วยจุดที่มีลักษณะผิดปกติเนื่องจากมีทัลไล (thalli) ของเชื้อราซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดกลมเล็กๆ จำนวนมากในไขมันและเลือดของตัวอ่อนริ้นดำ ซึ่งสามารถมองเห็นผ่านทะลุชั้นผิวหนัง ทัลไลอยู่ติดกันมากบ้างน้อยบ้างและมีสีขาวหรือสีชมพูทำให้เห็นตัวอ่อนริ้นดำมีสีซีดกว่าตัวอ่อนปกติ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของทัลไลประมาณ 50-100 μm หรือมากกว่า (Crosskey, 1990) ปรสิดเจริญพัฒนาที่เนื้อเยื่อตัวอ่อนริ้นดำทัลไลจะหลั่งเอนไซม์สลายไขมันเป็นอันดับแรก ต่อมาเอนไซม์จะสลายกล้ามเนื้อ ต่อมาสร้างเส้นไหม (silk gland) มัลพิกเซียน ทิวบูลล์ และอวัยวะอื่นๆ จนกระทั่งตัวอ่อนริ้นดำเหลือแต่เปลือก (Weiser and Undeen, 1981) ปรสิดจะห้ามการเจริญของอวัยวะสืบพันธุ์และการเจริญของระยางค์ ดังนั้น ตัวอ่อนริ้นดำไม่สามารถเมทาโมอร์ฟอซิสเป็นตัวคักแด้และตัวเต็มวัยได้

การเจริญพัฒนาของปรสิดในตัวอ่อนริ้นดำขณะที่ร่างกายโฮสต์กำลังสลายจะมีการดิฟเฟอเรนทิเอชัน (differentiation) ของส่วนประกอบของทัลไลที่มีหลายนิวเคลียสเป็นซูโอสปอร์ (zoospore) ที่มีหนึ่งนิวเคลียสเป็นจำนวนมาก ส่วนท้ายของแต่ละซูโอสปอร์มีแฟลกเจลลัม ที่มีลักษณะคล้ายเส้นหนึ่งเส้น ต่อมาเกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของผนังทัลไลพอร์มเป็นอับสปอร์ (sporangium) เมื่ออับสปอร์แตก ซูโอสปอร์จะหลุดออกมาอยู่ภายในตัวอ่อนริ้นดำที่ซีดเหมือนซากศพ และในที่สุดซูโอสปอร์จะออกมาสู่น้ำ (Weiser and Zizka, 1974a) เชื้อราชนิดนี้ต่างจากเชื้อราพวกไคทริดส์ ชนิดอื่นที่ไม่มีไรซอยด์ (rhizoid) หรือโครงสร้างพิเศษอื่นสำหรับดูดอาหาร อาหารที่ใช้สร้างซูโอสปอร์ถูกดูดซึมผ่านผนังอับสปอร์เข้าไป โดยดูดจากไซโทพลาซึมของเซลล์โฮสต์และจากเลือดในขณะที่ตัวอ่อนริ้นดำยังมีชีวิต (Weiser and Zizka, 1974b)

อัตราการเกิดของ *C. simulii* ในโฮสต์มีการแปรผันในแหล่งน้ำต่างๆ อาจเกิดเฉพาะที่หรือเกิดในช่วงเวลาต่างกันของปี ส่วนใหญ่เกิดระหว่าง 1-4% แต่สามารถเกิดสูงถึง 25-40% ในช่วงที่มีการระบาดของในอเมริกาเหนือ พบเชื้อราชนิดนี้ในแมลงริ้นดำจำนวน 95 ชนิด (37%) มันอาจเป็นกลุ่มสปิซิสซบซ้อนเนื่องจากพบว่า เชื้อราที่มีขนาดของอับสปอร์เล็กใหญ่ต่างกันภายในตัวอ่อนริ้นดำชนิด *Simulium malyschevi* ที่เก็บจากแม่น้ำฮอว์ตันในเขตตะวันตกเฉียงเหนือของสหรัฐอเมริกา (Adler et al., 2004) เชื้อราชนิด *C. simulii* เป็นปัจจัยสำคัญในการตายของริ้นดำบางชนิดภายใต้สถานการณ์เฉพาะ

เชื้อราชั้น Trichomycetes ทุกชนิดอาศัยในทางเดินอาหารของแมลง รวมทั้งตัวอ่อนริ้นดำ เชื้อราในสกุล *Harpella* (เช่น *Harpella melusinae*) และ *Stachylina* (*Stachylina* sp.) ใช้อวัยวะที่เรียกว่าโฮลด์ฟาสต์ (holdfast) ยึดติดกับเยื่อทางเดินอาหารส่วนกลาง ส่วนเชื้อราชนิดอื่น เช่น *Genistellospora homothallica*, *Simuliomyces microspora*, *Smittium* sp. และ *Pennella* sp. ยึดกับผนังด้านนอกของทางเดินอาหารส่วนท้าย (Adler et al., 2004) ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและโฮสต์เป็นแบบเกื้อกูล การระบาดของเชื้อราชั้น Trichomycetes ในประชากรตัวอ่อนริ้นดำแปรผันตามฤดูและอาจแปรผันมากถึง 100% (Beard and Adler, 2002) พบเชื้อราชั้น Trichomycetes อย่างน้อยที่สุด 35 ชนิดในริ้นดำ ซึ่งจำแนกชนิดได้โดยการศึกษาลักษณะของไซโกสปอร์ (zygospores) ไตรโคสปอร์ (trichospores) และทัลไล ในอเมริกาเหนือสามารถวินิจฉัยเชื้อราชั้นนี้ได้อย่างน้อยที่สุด 15 ชนิด (Lichtwardt, 1986)

เชื้อราชั้น Zygomycetes ในอันดับ Entomophthorales พบในริ้นดำมานานมากกว่า 100 ปี เชื้อราชั้นนี้มักจะฆ่าตัวเต็มวัยริ้นดำโดยการผ่านทะลุเข้าผนังชั้นนอก ตัวเต็มวัยริ้นดำเป็นจำนวนมากที่อยู่กันเป็นกลุ่มจะถูกหุ้มด้วยเส้นโคนิเดียมสีขาวซึ่งยึดมันให้ติดกับซับสเตรต ตรงบริเวณที่วางไข่ (Shemanchuk and

Humber, 1978) รินดำบางชนิดมีภูมิคุ้มกันต่อต้านเชื้อราเหล่านี้เนื่องจากส่วนประกอบทางเคมีของผนังชั้นนอกของตัวรินดำ (Nadeau et al., 1996)

เชื้อราชั้น Hyphomycetes พบในรินดำค่อนข้างน้อย มีรายงานการพบเชื้อราชนิด *Tolypocladium* sp. ในตัวอ่อนรินดำจำนวน 8 ตัวในแคริฟอร์เนียตอนใต้ (Adler et al., 2004)

สตรามีโนไฟล์ (stramenopiles)

พบสตรามีโนไฟล์ในชั้น Oomycetes อันดับ Saprolegniales อย่างน้อย 2 ชนิดที่มีความสัมพันธ์กับรินดำ ได้แก่ *Pythiopsis cymosa* ซึ่งเป็นปรสิตบนตัวด้กแด้ (Nolan and Lewis, 1974) และ *Saprolegnia ferax* พบในทางเดินอาหารของตัวอ่อนรินดำและไม่ใช่ปรสิต (Nolan, 1976)

ไมโครสปอริเดีย (microsporidia)

เดิมไมโครสปอริเดียเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวขนาดเล็กถูกจัดให้อยู่ในไฟลัม Microspora ของโพรโทซัว จากการศึกษาวิทยาเชิงโมเลกุลในปัจจุบันพบว่า มันมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่ใกล้ชิดกับเชื้อรา (Mathis, 2000) ไมโครสปอริเดียเป็นปรสิตที่ต้องอาศัยอยู่ในเซลล์ของโฮสต์ที่เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังและไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งอาจเป็นสัตว์บกหรือแมลงน้ำ แต่ส่วนใหญ่จะเป็นสัตว์ขาปล้อง สปอร์ของมันจะเข้าโฮสต์โดยการกิน หลังจากนั้นสปอร์จะเจริญพัฒนาภายในเซลล์ของอวัยวะและเนื้อเยื่อของโฮสต์ ท่อเล็กๆ ที่ขดภายในสปอร์จะแทงผ่านผนังสปอร์ จากนั้นมันจะปล่อยสารโปรตีนเรียกว่า สปอโรพลาซึม (sporoplasm) เข้าไปในไซโทพลาซึมของเซลล์โฮสต์ แล้วมันเริ่มเจริญและพัฒนาตัวเองซึ่งจักรชีวิตของปรสิตในโฮสต์มี 2 ระยะ ได้แก่ เมอโรโกนีหรือไซโซโกนี (merogony หรือ schizogony) เป็นกระบวนการสร้างเมอโรซอยด์ และสปอโรโกนีหรือสปออรูลชัน (sporogony หรือ sporulation) เป็นกระบวนการสร้างสปอโรซอยด์ซึ่งเป็นการแบ่งตัวเองแบบฟิชชัน (fission)

ทั้งสองระยะ (Crosskey, 1990) ไมโครสปอริเดียแต่ละสกุลและชนิดมีลักษณะของสปอร์ต่างกัน ไมโครสปอริเดียเป็นปรสิตของตัวอ่อนรินดำมันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไขมันจึงสามารถแยกตัวอ่อนที่ถูกบุกรุกออกจากตัวอ่อนปกติ โดยลำตัวของตัวอ่อนรินดำที่ไม่มีไมโครสปอริเดียจะมีก้อนขนาดใหญ่สีขาวครีมหรืออาจเป็นสีชมพูแดงในบริเวณส่วนล่างของท้องทำให้บริเวณท้องบวมโตสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Weiser and Undeen, 1981) ตัวอ่อนจะอยู่ลักษณะเช่นนี้ตลอดไป ดังนั้น ไมโครสปอริเดียห้ามการเกิดเมทาโมอร์ฟอซิสเป็นตัวด้กแด้และตัวเต็มวัยรินดำในธรรมชาติ กรณีที่ตัวอ่อนรินดำถูกไมโครสปอริเดียบุกรุกอย่างหนัก มันจะมีอายุยาวนานกว่าตัวอ่อนปกติและมีขนาดใหญ่มาก บริเวณท้องมีสีขาวบวมเป่งและโค้งงออวัยวะหายใจของตัวอ่อน (gills) ปุ่มยางค์และอวัยวะสืบพันธุ์ไม่เจริญ ในที่สุดตัวอ่อนจะตายก่อนเป็นด้กแด้ ตัวอ่อนรินดำบางชนิดถูกบุกรุกโดยไมโครสปอริเดียที่แตกต่างกันหลายชนิด และอาจพบไมโครสปอริเดียชนิดใหม่ แมลงรินดำทั่วโลกพบไมโครสปอริเดียประมาณ 35 ชนิดที่ทราบชื่อและจำแนกอยู่ในหลายสกุลของ 6 วงศ์ พบไมโครสปอริเดียจำนวน 13 ชนิดที่ทราบชื่อและไม่ทราบชื่ออีก 7 ชนิดในรินดำแถบอเมริกาเหนือ (Adler et al., 2004) ไมโครสปอริเดียบางชนิดเป็นกลุ่มสปิซิสซัซซ็อน เช่น กลุ่มสปิซิสซัซซ็อน *Amblyospora bracteata* (Hazard and Oldacre, 1975)

เฮลิโคสปอริเดีย (helicosporidia)

Helicosporidia sp. ที่อยู่ในอันดับ Helicosporidia ทำให้เกิดโรคแก่ตัวอ่อนรินดำชนิด *Simulium jonesi* ในฟลอริดาเมื่อปี 1998 (Boucias et al., 2001) ตัวอ่อนรินดำถูกบุกรุกโดยการกินซิสต์ (cysts) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์รูปไข่ 3 เซลล์และเซลล์ที่มีฟีลาเมนต์ 1 เซลล์ ต่อมาซิสต์จะปรากฏในส่วนล่างของช่องท้องเป็นจำนวนมาก จากการศึกษาวิทยาเชิงโมเลกุลชี้ให้เห็นว่า เฮลิโคสปอริเดียเป็นสาหร่ายสีเขียวอย่างแท้จริง (Chlorophyta) (Tartar et al., 2002).

อิกทีโอสปอเรียนส์ (ichthyosporeans)

เดิมอิกทีโอสปอเรียนส์ในสกุล *Amoebidium* และ *Paramoebidium* ถูกจัดให้เป็นเชื้อราพวกไครโอไมซีเทส จากการศึกษาชีววิทยาเชิงโมเลกุลแนะนำว่า *Amoebidium* ไม่ใช่เชื้อราแต่เป็นสมาชิกของโพรโทซัวชั้น Ichthyospora (Benny and O'Donnell, 2000) อย่างไรก็ตาม ไม่มีการศึกษาชีววิทยาเชิงโมเลกุลของสกุล *Paramoebidium* แต่เข้าใจว่ามันอยู่ในชั้น Ichthyospora เช่นกัน ปกติพบอิกทีโอสปอเรียนส์สกุล *Paramoebidium* เสมอในทางเดินอาหารส่วนท้ายของตัวอ่อนริ้นดำ มันมีโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายทลไคยิดกับชั้นนอกของทางเดินอาหาร โครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายทลไคยิดเหล่านี้จะปล่อยอะมิบอยด์เซลล์บนซับสเตรด (substrate) และอาจจะถูกกินโดยตัวอ่อนริ้นดำ (Lichtwardt, 1976) นอกจากนี้ยังพบอิกทีโอสปอเรียนส์สกุล *Paramoebidium* ที่ทราบชื่อจำนวน 4 ชนิดในริ้นดำ และพบอย่างน้อยที่สุด 2 ชนิดจาก 4 ชนิดในอเมริกาเหนือ (Adler et al., 2004)

โพรโทซัว (protozoa)

โพรโทซัวที่บุกรุกริ้นดำมี 4 ไฟลัม (Adler et al., 2004) ได้แก่

1. ไฟลัมซิลิโอฟอรา (Phylum Ciliophora) เป็นพวกมีนิวเคลียส 2 ชนิด และมีซิเลียใช้สำหรับเคลื่อนที่ มีการสืบพันธุ์ด้วยวิธีแบ่งตัวจาก 1 เป็น 2 ตามแนวขวาง พบโพรโทซัวไฟลัมนี้เป็นครั้งแรกในริ้นดำที่แพร่กระจายในภูมิภาคต่างๆ ของโลก เช่น โพรโทซัวชนิด *Tetrahymena rotunda*
2. ไฟลัมแฮปโลสปอริเดีย (Phylum Haplosporidia) พบเพียง 1 ชนิดในอเมริกาเหนือ ได้แก่ ชนิด *Haplosporidium simulii*
3. ไฟลัมอะพิคอมเพล็กซ์ (Phylum Apicomplexa) เป็นพวกไม่มีออร์แกเนลล์ใช้สำหรับการเคลื่อนที่ สร้างสปอร์ที่ไม่มีโพลาไรฟิเลเมนต์และมีอะพิคอลคอมเพล็กซ์ (apical complex) ซึ่งเป็นออร์แกเนลล์ที่ใช้สำหรับการเข้าสู่เซลล์ของโฮสต์

เนื่องจากการดำรงชีวิตต้องอาศัยอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่น ได้แก่ พวกสกุลลีโอไซโทซูน (*Leucocytozoon*) ซึ่งมีหลายชนิด เช่น *L. combournaci* และ *L. smithi*

4. ไฟลัมซาโคมาสติกโอฟอรา (Phylum Sarcomastixophora) เป็นพวกมีนิวเคลียสชนิดเดียว และมีแฟลกเจลลาหรือขาเทียมหรือมีทั้ง 2 อย่างสำหรับใช้ในการเคลื่อนที่ ได้แก่ พวกสกุลทริพาโนโซมา (*Trypanosoma*) เช่น *T. confusum*

พบโพรโทซัวพวกมีซิเลียในริ้นดำน้อยมาก มันเกิดในช่องว่างของตัวอ่อน ตัวคักเค้ และตัวเต็มวัยริ้นดำ การถ่ายทอดยังไม่ทราบ พบเพียง 2 ชนิดในริ้นดำทั่วโลก ในอเมริกาเหนือพบชนิด *Tetrahymena rotunda* และไม่ทราบชื่ออีก 1 ชนิด ในริ้นดำ 9 ชนิด (Adler et al., 2004)

พบโพรโทซัวในไฟลัมแฮปโลสปอริเดียเพียง 1 ชนิด ได้แก่ *Haplosporidium simulii* ในตัวอ่อนริ้นดำกลุ่มสปิซีสซับซ็อนชนิด *Simulium venustum* ในเพนซิลวาเนีย (Beaudoin and Wills, 1968) ลักษณะของพวกแฮปโลสปอริเดียเป็นสปอร์หนึ่งเซลล์ส่วนใหญ่อาศัยในเนื้อเยื่อช่องท้องของโฮสต์สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยในน้ำจืดและน้ำทะเล พยาธิสภาพและกลไกการถ่ายทอดยังไม่ทราบ

พวกสกุลลีโอไซโทซูนในไฟลัมอะพิคอมเพล็กซ์ เป็นปรสิตในเลือดของพวกนก ทำให้เกิดโรคคล้ายมาลาเรียเรียกว่า ลีโอไซโทซูนโนซิส (leucocytozoonosis) มันมีชีววัฏจักรชีวิตซับซ็อนที่เกี่ยวข้องกับโฮสต์นกและริ้นดำ (Steele and Noblet, 2001) ริ้นดำเพศเมียได้แกมมีโทไซต์ (gametocytes) ของลีโอไซโทซูนจากเลือดนกที่มีปรสิต ต่อมาเกิดการเจริญพัฒนาของปรสิตแบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศในริ้นดำ ในช่วงที่ริ้นดำเพศเมียดูดเลือดนกครั้งต่อไปสปอโรซอइट (sporozoites) ของปรสิตจะถูกถ่ายทอดไปยังนกตัวอื่น ซึ่งทำหน้าที่เป็นโฮสต์สำหรับการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ในแคนาดาพบโปรโตซัวลีโอไซโทซูนในริ้นดำมากถึง 90-100% โดยพบสปอโรซอइटในด้อมน้ำลายของริ้นดำที่ขอบดูดเลือดนก (Bennett and Squires-

Parsons, 1992) การแยกชนิดของปรสิตก่อนข้างยุงยาก แต่ดูเหมือนว่าแต่ละชนิดของปรสิตมีความจำเพาะต่อวงศ์ของนก มีลิโคไซโทซูนที่ทราบชื่ออย่างน้อยที่สุดจำนวน 12 ชนิดที่ถ่ายทอดโดยริ้นดำ ในอเมริกาเหนือมีริ้นดำประมาณ 18 ชนิดที่เป็นพาหะธรรมชาติถ่ายทอดลิโคไซโทซูนจำนวน 9 ชนิด (Adler et al., 2004)

พวกทริพพาโนโซมในไฟลัมชาโคมาสทิโกฟอราเป็นปรสิตในเลือดของนก มันต้องการริ้นดำเพศเมียเพื่อให้ชีวิตสมบูรณ์และถ่ายทอดมันไปยังนกตัวอื่น มีหลักฐานการถ่ายทอดปรสิตอาจเกิดขึ้นได้เมื่อก่อนอุจจาระจากแมลงริ้นดำเข้าไปในรอยแผลกัด (Bennett, 1961) ในอเมริกาเหนือพบทริพพาโนโซมชนิด *Trypanosoma confusum* (เดิมคือ *T. avium*) ซึ่งอาจเป็นกลุ่มสปิชีส์ซับซ้อนที่ถูกถ่ายทอดโดยริ้นดำอย่างน้อยที่สุด 7 ชนิด (Adler et al., 2004)

แบคทีเรีย (bacteria)

แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในริ้นดำมีน้อยมาก พบแบคทีเรียที่ไม่ทราบชนิดและสร้างซิสต์สีขาวในตัวอ่อนริ้นดำกลุ่มสปิชีส์ซับซ้อน ชนิด *Simulium venustum* (Weiser and Undeen, 1981) นอกจากนี้มีรายงานการพบแบคทีเรียชนิด *Bacillus amyloliquefaciens* ในตัวอ่อนริ้นดำกลุ่มสปิชีส์ซับซ้อนชนิด *Simulium tuberosum* (Reeves and Nayduch, 2002)

ไวรัส (virus)

พบไวรัสหลายชนิดในตัวอ่อนริ้นดำ กลไกการถ่ายทอดส่วนใหญ่ไม่ทราบ ไวรัสที่พบมากที่สุดคือ ไวรัสชนิด ไซโทพลาสซึมิก โพลีฮีดโรซิส (cytoplasmic polyhedrosis virus) ซึ่งมีผลต่อเยื่อผิวหนังทางเดินอาหารส่วนกลาง และกาสทริก ซีกา (gastric caeca) ของตัวอ่อนริ้นดำ (Weiser and Undeen, 1981) ซึ่งสังเกตจากการมองเห็นผ่านทะลุผิวหนังตัวอ่อนริ้นดำที่มีชีวิตจะเห็นเป็นแถบขาวที่บอบๆ ทางเดินอาหารส่วนกลาง ในอเมริกาเหนือพบไวรัสชนิดนี้ในริ้นดำอย่างน้อยที่สุด 10 ชนิด นอกจากนี้ยังมีอิริเดสเซนซ์ ไวรัส (iridescent

virus) ที่ทำให้ตัวอ่อนริ้นดำมีสีน้ำเงินซึ่งพบในริ้นดำ 4 ชนิดในอเมริกาเหนือ (Weiser and Undeen, 1981) และพบปาร์ทิเคิลส์ที่มีลักษณะคล้ายไวรัส (virus-like particles) ในริ้นดำ 3 ชนิด (Federici and Lacey, 1987)

ปรสิตภายนอก

ตัวไรน้ำ (Hydracarina หรือ Hydrachnellae)

เป็นปรสิตที่อยู่ภายนอกของริ้นดำ ตัวอ่อนไรน้ำจะเข้าไปในเปลือกหุ้มตัวดักแด้ริ้นดำเพื่อพัก่อน มันใช้ขาคู่หน้าแทงเข้าไปในเปลือกหุ้มดักแด้ ปกติริ้นดำเพศเมียมีตัวไรน้ำมากกว่าเพศผู้ 2-5 เท่า และพบตัวไรน้ำมากกว่า 30 ตัวในริ้นดำเพศเมียหนึ่งตัว (Davies, 1959) ตัวไรน้ำจะเกาะที่ฐานของช่องท้องริ้นดำและมีผลลดประสิทธิภาพในการผลิตลูกของริ้นดำ ไรน้ำที่พบในอเมริกาเหนือมีเพียง 2 ชนิด นอกจากนี้ยังพบ *Sperchon jasperensis* ในริ้นดำประมาณ 10 ชนิดในแคนาดา (Davies, 1959) และ *Sperchon texana* ในริ้นดำ 1 ชนิดในรัฐเท็กซัส (Davis and Cook, 1985)

ตัวห้ำ (predators)

ในอเมริกาเหนือมีรายงานว่าตัวเต็มวัยริ้นดำประมาณ 0.8% เป็นเหยื่อของพืชกินแมลงชนิด *Sarracenia purpurea* (Cresswell, 1991) นอกจากนี้ยังพบว่าในแหล่งที่มีริ้นดำมากจะเป็นแหล่งที่ให้อาหารแก่ตัวห้ำ ซึ่งมีผลต่อประชากร และการสืบพันธุ์ของตัวห้ำ ตัวอย่างเช่น ประชากรจำนวนมากของริ้นดำชนิด *Simulium vittatum* ในแม่น้ำ Laxá ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณสัตว์ต่างๆ ขึ้น เช่น ปลาเทราท์สีน้ำตาล (*Salmo trutta*) และเป็ดฮาร์ลิกวิน (*Histrionicus histrionicus*) ริ้นดำยังเป็นส่วนประกอบของอาหารที่สำคัญของเป็ดอเมริกาเหนือบางชนิด (เช่น เป็ดฮาร์ลิกวิน) และปลาหลายชนิด (Gutowski and Stauffer, 1993) พบตัวเต็มวัยริ้นดำมากกว่า 1,600 ตัว และตัวอ่อนประมาณ 600 ตัวในท้องปลาเทราท์ในแคนาดา (Ide, 1942). ในโอเรกอนประมาณ 80.3% - 86.5% ของแมลงริ้นดำ 4 ชนิดตกเป็นเหยื่อของตัวห้ำ (Speir, 1975)

ศัตรูธรรมชาติและสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยร่วมกับตัวอ่อนริ้นดำในประเทศไทย

มีรายงานการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับปรสิตและสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยร่วมกับตัวอ่อนริ้นดำสกุล *Simulium* จำนวน 9 ชนิด ที่เก็บจากแหล่งน้ำไหลธรรมชาติในบริเวณภาคเหนือของประเทศไทย (Jitklang et al., unpublished data) ตัวอ่อนริ้นดำที่ทำการศึกษ ได้แก่ ตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. asakoe*, *S. chamlongi*, *S. Chiangmaiense*, *S. fenestratum*, *S. feuerborni*, *S. nakhonense*, *S. nodosum*, *S. quinquestratum* และ *S. tani* จากการศึกษพบว่า ร้อยละของการพบปรสิตมีค่าต่ำกว่า 10 ในทุกฤดูกาลในตัวอ่อนริ้นดำแต่ละชนิด ชนิดของปรสิตและสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยร่วมกับตัวอ่อนริ้นดำ มีดังนี้

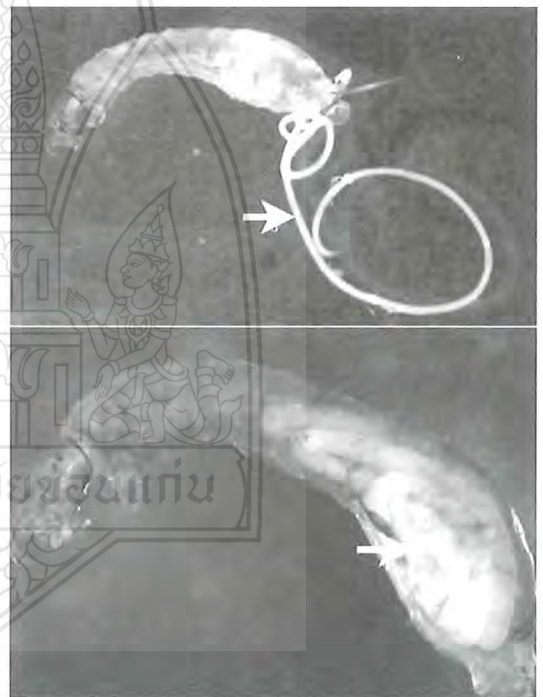
1. หนอนพยาธิตัวกลมที่ไม่ทราบชนิดจัดอยู่ในวงศ์ Mermithidae พบในตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. tani* (รูปที่ 3)

2. เชื้อราชั้น Chytridiomycetes ชนิด *Coelomycidium simulii* พบในตัวอ่อนริ้นดำ ชนิด *S. chamlongi* (รูปที่ 4) และ เชื้อราชั้น Trichomycetes ชนิด *Harpella melusinae* พบในทางเดินอาหารส่วนกลางของตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. asakoe* (รูปที่ 5) นอกจากนี้ยังพบเชื้อรา 3 ชนิดในทางเดินอาหารส่วนปลายของตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. asakoe* ได้แก่ ชนิด *Genistellospora homothallica* (รูปที่ 6) ชนิด *Rennella* sp (รูปที่ 7) และชนิด *Simuliomyces microspora* (รูปที่ 8) และพบเชื้อราชนิด *Smittium* sp. ในทางเดินอาหารตอนปลายของตัวอ่อนริ้นดำชนิด *Simulium quinquestratum* (รูปที่ 9)

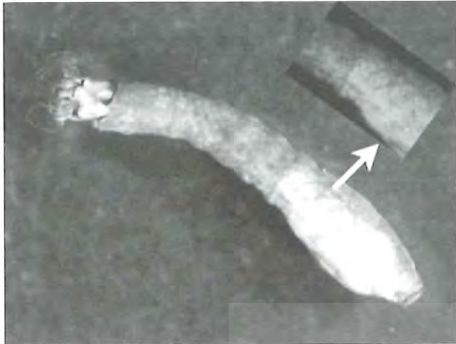
3. กลุ่มไมโครสปอริเดียที่ไม่ทราบชื่อในตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. feuerborni* (รูปที่ 10) และสปอร์ของไมโครสปอริเดียที่ไม่ทราบชื่อในตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. nakhonense* (รูปที่ 11)

4. กลุ่มอิกทีโอสปอเรียนส์สกุล *Paramoebidium* sp. (รูปที่ 12) พบในทางเดินอาหารส่วนปลายของตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. asakoe*

จากการศึกษาเบื้องต้นชี้ให้เห็นถึงความหลากหลายของชนิดของปรสิตและสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยร่วมกับตัวอ่อนริ้นดำในประเทศไทย ถ้ามีการศึกษาปรสิตและสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยร่วมกับตัวอ่อนริ้นดำในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศให้มากกว่านี้ อาจพบปรสิตและสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ที่ยังไม่มีรายงานมาก่อน นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางการศึกษาประโยชน์และโทษของสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ต่อแมลงริ้นดำและการศึกษาความสัมพันธ์ของวิวัฒนาการร่วม (coevolutionary relations) ของพันธุกรรมระหว่างริ้นดำกับปรสิตหรือสิ่งมีชีวิตเหล่านั้น จึงสมควรที่จะได้ศึกษาปรสิตและสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยร่วมกับตัวอ่อนริ้นดำให้กว้างขวางมากขึ้นในอนาคต



รูปที่ 3 หนอนพยาธิตัวกลมพวก mermithids (ลูกศรชี้) ที่พบในตัวอ่อนแมลงริ้นดำชนิด *Simulium tani* (ภาพบน) และริ้นดำชนิด *Simulium nakhonense* (ภาพล่าง)



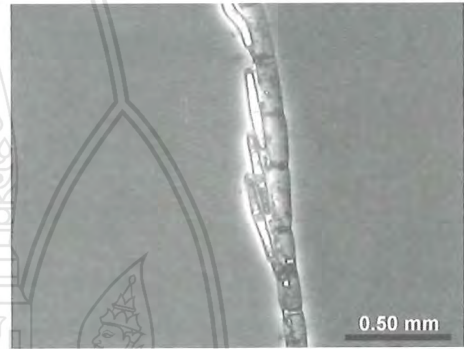
รูปที่ 4 กลุ่มเชื้อราชั้น Chytridiomycetes ชนิด *Coelomycidium simulii* (ลูกศรชี้) ที่พบในตัวอ่อนแมลงวันค้ำชนิด *Simulium cham-longi*



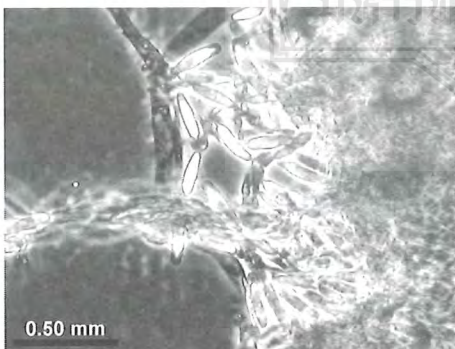
รูปที่ 5 เชื้อราชั้น Trichomycetes ชนิด *Harpella melusinae* ที่พบในทางเดินอาหารตอนกลางของตัวอ่อนแมลงวันค้ำชนิด *Simulium asakoae*



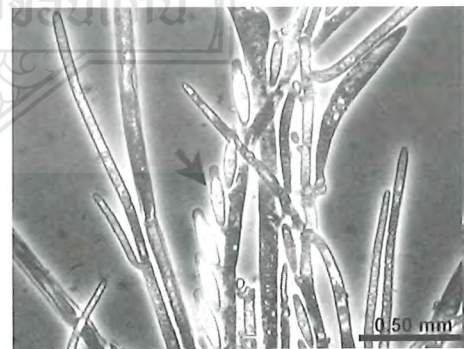
รูปที่ 6 เชื้อราชั้น Trichomycetes ชนิด *Genistella homothallica* ที่พบในทางเดินอาหารตอนปลายของตัวอ่อนแมลงวันค้ำชนิด *Simulium asakoae*



รูปที่ 7 เชื้อราชั้น Trichomycetes ชนิด *Pennella* sp. ที่พบในทางเดินอาหารตอนปลายของตัวอ่อนแมลงวันค้ำชนิด *Simulium asakoae*



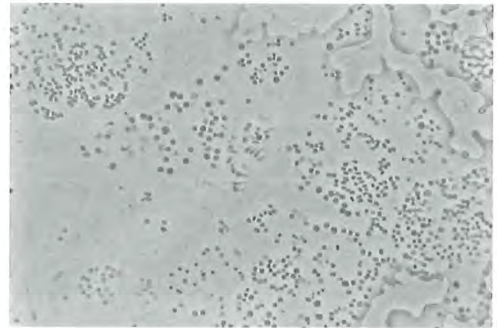
รูปที่ 8 เชื้อราชั้น Trichomycetes ชนิด *Simulio-mycetes microsporus* ที่พบในทางเดินอาหารตอนปลายของตัวอ่อนแมลงวันค้ำชนิด *Simulium asakoae*



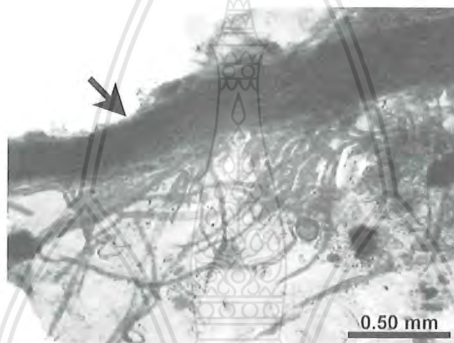
รูปที่ 9 เชื้อราชั้น Trichomycetes ชนิด *Smittium* sp. ที่พบในทางเดินอาหารตอนปลายของตัวอ่อนแมลงวันค้ำชนิด *Simulium quinquestratum*



รูปที่ 10 กลุ่มไมโครสปอริเดียที่ไม่ทราบชื่อในตัวอ่อนแมลงริ้นดำชนิด *Simulium feuerborni*



รูปที่ 11 สปอร์ของไมโครสปอริเดียที่ไม่ทราบชื่อในตัวอ่อนริ้นดำชนิด *Simulium nakhonense*



รูปที่ 12 โพรโทซัวชั้น Ishthyosporae ชนิด *Paramoebidium* sp. (ลูกสร้อย) ที่พบในทางเดินอาหารตอนปลายของตัวอ่อนริ้นดำชนิด *Simulium asakoe* มันอยู่ร่วมกับเชื้อราชนิด *Simuliumyces microsporus* (เห็นทลเป็นเส้นๆ ย้อมติดสีน้ำเงิน)

เอกสารอ้างอิง

เจลิยา กุวัจนะคลิก ชัยณรงค์ บุญเข็มทอง และ สุวรรณี

พยุหเสนา. 2544. ความหลากหลายและพันธุศาสตร์เชิงประชากรของสปีชีส์ของริ้นดำในประเทศไทย. ใน: รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2544. วิสุทธิ์ ไบไม้ และรังสีมา คุ่มหอม (บรรณาธิการ). หน้า 286-311. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. บริษัทจิรวัดณ์เอ็กซ์เพรส จำกัด กรุงเทพฯ.

พวงเพ็ญ ศิริรักษ์. 2544. พรรณพืชวงศ์จิงของไทย. ใน: รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2544. วิสุทธิ์ ไบไม้ และ รังสีมา คุ่มหอม (บรรณาธิการ). หน้า 63-77. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. บริษัทจิรวัดณ์เอ็กซ์เพรส จำกัด กรุงเทพฯ.

ละออศรี เสนาะเมือง. 2544. ความหลากหลายของแมลงก้นดอสน้ำจืดในประเทศไทย. ใน:

รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2544. วิสุทธิ์ ไบไม้ และรังสีมา คุ่มหอม (บรรณาธิการ). หน้า 1-16. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. บริษัทจิรวัดณ์เอ็กซ์เพรส จำกัด กรุงเทพฯ.

วิสุทธิ์ ไบไม้. (2532). ความหลากหลายทางชีวภาพ. ในหนังสือ “การสัมมนาชีววิทยา ครั้งที่ 7 เรื่องความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย.” หน้า 1-13. บรรณาธิการ: สิริวัฒน์ วงศ์ศิริ และ ศุภชัย หล่อโลหการ บริษัทประชาชน จำกัด กรุงเทพฯ.

วิสุทธิ์ ไบไม้. (2542). สรรพชีวิตไม่หยุดนิ่งในสิ่งแวดล้อมที่แปรเปลี่ยน. วารสารเวชศาสตร์สิ่งแวดล้อม 1(2): 438-457.

- วิสุทธิ ไบไม่. (2545). วัฒนธรรมมนุษย์และความหลากหลายทางชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท จีรวัฒน์ เอ็กซ์เพรส จำกัด. 314 หน้า.
- อาภรณ์ มหพันธ์, มยุรี ตั้งธนาวัฒน์, วชิร กัลยาลัง และ วิมลภา อรุณไพโรจน์. 2544. ใน: รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2544. วิสุทธิ ไบไม่ และรังสิมา คุ่มหอม (บรรณาธิการ). หน้า 24-33. จัดพิมพ์โดยโครงการ BRT. บริษัท จีรวัฒน์เอ็กซ์เพรส จำกัด กรุงเทพฯ.
- Adler, P. H. and McCredie, J. W. (2002). Blackflies (Simuliidae). In: *Medical and veterinary entomology*, (Mullen, G. and Durden, L. eds.), pp. 185-202. Academic Press, San Diego. 710 pp.
- Adler, P. H., Currie, D. C. and Wood, D. M. (2004). The black flies (Simuliidae) of North America. Cornell University Press, Ithaca, New York. 939 pp.
- Beard, C. E. and Adler, P. H. (2002). Seasonality of trichomycetes in larval black flies from South Carolina, USA. *Mycologia* 94: 200-209.
- Beaudoin, R. L. and Wills, W. (1968). *Haplosporidium simulii* sp. N. (Haplosporida: Haplosporidiidae), parasitic in larval of *Simulium venustum* Say. *J. Invertebr. Pathol.* 10: 374-378.
- Bennett, G. F. (1961). On the specificity and transmission of some avian trypanosomes. *Can. J. Zool.* 39: 17-33.
- Bennett, G. F. and Squires-Parsons. (1992). The leucocytozoids of the avian families Anatidae and Emberizidae s. l., with descriptions of three new *Leucocytozoon* species. *Can. J. Zool.* 70: 2007-2014.
- Benny, G. L. and O'Donnell, K. (2000). *Amoebidium parasiticum* is a protozoan, not a Trichomycete. *Mycologia* 92: 1133-1137.
- Boucias, D. G., Becnel, J. J., White, S. E. and Bott, M. (2001). In vivo and in vitro development of the protist *Helicosporidium* sp. *J. Eukaryot. Microbiol.* 48: 460-470.
- Condon, W. J. and Gordon, R. (1977). Some effects of mermithid parasitism on the larval blackflies *Prosimulium mixtum fuscum* and *Simulium venustum*. *J. Invertebr. Pathol.* 29: 56-62.
- Cresswell, J. E. (1991). Capture rates and composition of insect prey of the pitcher plant *Sarracenia purpurea*. *Am. Midland Nat.* 125: 1-9.
- Crosskey, R. W. (1990). The natural history of blackflies. John Wiley, Chichester, U.K. 710 pp.
- Davies, D. M. (1959). The parasitism of black flies (Diptera, Simuliidae) by larval water mites mainly of the genus *Sperchon*. *Can. J. Zool.* 37: 353-369.
- Davis, J. R. and Cook, D. R. (1985). An unusual new species of *Sperchon* (Acari: Sperchonidae) from Texas, with notes on its biology. *T. Am. Microsc. Soc.* 104: 113-121.
- Federici, B. A. and Lacey, L. A. (1987). Intranuclear disease of uncertain etiology in larvae of the blackfly, *Simulium vittatum*. *J. Invertebr. Pathol.* 50: 184-190.
- Gutowski, M. J. and Stauffer, J. R. (1993). Selective predation by *Noturus insignis* (Richardson) (Teleostei: Ictaluridae) in the Delaware River. *Am. Midland Nat.* 129: 309-318.
- Hazard, E. I. and Oldacre, S. W. (1975). Revision of Microsporidia (Protozoa) close to *Thelohania*, with descriptions of one new family, eight new genera, and thirteen new species. United States Department of Agriculture Technical Bulletin 1530: 1-104.

- Ide, F.P. (1942). Availability of aquatic insects as food of the speckled trout, *Salvelinus fontinalis*. Transactions of the North American Wildlife Conference 7: 442-450.
- Jitklang, S. and Kuvangkadilok, C. (2007). A new species of *Simulium* (*Gomphostilbia*) (Diptera: Simuliidae) from southern Thailand, with description of its polytene chromosomes. *Studia dipterologica* 14: 369-375.
- Jitklang, S., Kuvangkadilok, C., Baimai, V., Takaoka, H. and Adler, P.H. (2008). Cytogenetics and morphotaxonomy of the *Simulium* (*Gomphostilbia*) *ceylonicum* species group (Diptera: Simuliidae) in Thailand. *Zootaxa* 1917: 1-28.
- Kanjana-Opas, A., Sangnoi Y., Eiamsaard, P., Cheun-Arom, T., Srisukchayakul, P., Arunpaiojana, V. and Yokota, A. (2007). Biodiversity of marine gliding bacteria in Thailand. In *Abstracts: Research and Thesis 2007*, V. Baimai and R. Kumhom (eds.), p. 148. Jirawat Express Co., Ltd., Bangkok
- Kuvangkadilok, C. and Takaoka, H. (2000). Taxonomic notes on Simuliidae (Diptera) from Thailand: description of a new species and new distributional records of nine known species. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.* 28, 167-175
- Kuvangkadilok, C., Lualon, U. and Baimai, V. (2008). Cytotaxonomy of *Simulium siamense* Takaoka and Suzuki (Diptera: Simuliidae) in Thailand. *Genome* 51: 972-987.
- Lichtwardt, R. W. (1976). Tricomycetes. In: Recent advances in aquatic mycology, (Jones, E. B. G. ed.), pp 651-671. Halsted Press, John Wiley, New York. 749 pp.
- Lichtwardt, R. W. (1986). The Trichomycetes, fungal associates of arthropods. Springer-Verlag, New York. 343 pp.
- Mathis, A. (2000). Microsporidia emerging advances in understanding the basic biology of these unique organisms. *Int. J. Parasitol.* 30: 795-804.
- McCreadie, J. W. and Adler, P. H. (1999). Parasites of larval black flies (Diptera: Simuliidae) and environmental factors associated with their distributions. *Invertebr. Zool.* 118: 310-318.
- Molloy, D. P. and Jamnback, H. (1975). Laboratory transmission of mermithids parasitic in black flies. *Mosquito News* 35: 337-342.
- Nadeau, M. P., Dunphy, G. B. and Boisvert, J. L. (1996). Development of *Erynia conica* (zygomycetes: Entomophthorales) on the cuticle of the adult black flies *Simulium rostratum* and *Simulium decorum* (Diptera: Simuliidae). *J. Invertebr. Pathol.* 68: 50-58.
- Nakwa, A. (2007). Bird diversity in grassland at Tung Salang Luang National Park. In *Abstracts: Research and Thesis 2007*, V. Baimai and R. Kumhom (eds.), p. 256. Jirawat Express Co., Ltd., Bangkok
- Nolan, R. A. (1976). Physiological studies on an isolate of *Saprolegnia ferax* from the larval gut of the black fly *Simulium vittatum*. *Mycologia* 68: 523-540.
- Nolan, R. A. and Lewis, D. J. (1974). Studies on *Pythiopsis cymosa* from Newfoundland. *T. Brit. Mycol. Soc.* 62: 163-179.
- Poinar, G. O. Jr. (1981). Mermithid Nematodes of Black flies. In *Blackflies: the future for biological methods in integrated control*, (Laird, M. ed.), pp. 159-170. Academic Press. London. 399 pp.
- Pramual, P. and Tangkawanit, U. (2008). A new species of *Simulium* (*Gomphostilbia*) (Diptera: Simuliidae) from Northeastern

- Thailand. Med. Entomol. Zool. (in press).
- Reeves, W. K. and Nayduch, D. (2002). Pathogenic *Bacillus* from a larva of the *Simulium tuberosum* species complex (Diptera: simuliidae). J. Invertebr. Pathol. 79: 126-128.
- Ridley, M. (1996). Evolution (second edition). Blackwell Science, Inc. Cambridge, Massachusetts. 719 pp.
- Shemanchuk, J. A. and Humber, R. A. (1978). *Entomophthora culicis* (Phycomycetes: Entomophthorales) parasitizing black fly adults (Diptera: Simuliidae) in Alberta. Can. Entomologist 110: 253-256.
- Speir, J. A. (1975). The ecology and production dynamics of four black fly species (Diptera: Simuliidae) in western Oregon streams. Ph.D. thesis. Oregon State University, Corvallis. 297 pp.
- Steele, E. J. and Noblet, G. P. (2001). Gametogenesis, fertilization and ookinete differentiation of *Leucocytozoon smithi*. J. Eukaryot. Microbiol. 48: 118-125.
- Strickland, E. H. (1911). Some parasites of *Simulium* larvae and their effects on the development of the host. Biological Bulletin of the Marine Biological Laboratory, Woods Hole 21: 302-338.
- Tangkawanit, U., Kuvangkadilok, C., Baimai, V. and Adler, P.H. (2009). Cytosystematics of the *Simulium tuberosum* group (Diptera: Simuliidae) in Thailand. Zool. J. Linn. Soc-Lond. (in press).
- Takaoka, H. and Choochote, W. (2004). A list of and keys to black flies (Diptera: Simuliidae) in Thailand. Trop. Med. Health 32: 189-197.
- Takaoka, H. and Choochote, W. (2005). Two new species of black flies (Diptera: Simuliidae) from northern Thailand. Med. Entomol. Zool. 56: 319-334.
- Takaoka, H. and Choochote, W. (2006). A new species of the subgenus *Simulium* (*Asiosimulium*) (Diptera: Simuliidae) from Thailand. Med. Entomol. Zool. 57: 45-48.
- Takaoka, H. and Kuvangkadilok, C. (1999). Four new species of black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. Jpn. J. Trop. Med. Hyg. 27: 497-509.
- Takaoka, H. and Saito, K. (1996). A new species and new records of black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. Jpn. J. Trop. Med. Hyg. 24: 163-169.
- Takaoka, H., and Suzuki, H. (1984). The black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. Jpn. J. Sanit. Zool. 35: 7-45.
- Tartar, A., Boucias, D. G., Adams, B. J. and Becnel, J. J. (2002). Phylogenetic analysis identifies the invertebrate pathogen *Helicosporidium* sp. as a green alga (Chlorophyta). Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52: 273-279.
- Weiser, J. and Undeen, A. H. (1981). Diseases of blackflies. In *Blackflies: the future for biological methods in integrated control*, (Laird, M. ed.), pp. 181-196. Academic Press. London. 399 pp.
- Weiser, J. and Zizka, Z. (1974a). The ultrastructure of the chytrid *Coelomycidium simulii* Deb. II. Division of the thallus [sic] and structures of zoospores. Česká Mykologie 28: 227-232.
- Weiser, J. and Zizka, Z. (1974b). The ultrastructure of the chytrid *Coelomycidium simulii* Deb. I. Ultrastructure of the thalli. Česká Mykologie 28: 159-162.

การทำลายเซลล์เจ้าบ้านของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* Destruction of Host Cells by *Burkholderia pseudomallei*

อิชญา มุ่งสันติสุข¹

บทนำ

Burkholderia pseudomallei (*B. pseudomallei*) เป็นแบคทีเรียทรนแท่ง ชนิดกรัมลบ ที่ทำให้เกิดโรค เมลิออยโดสิส (Meliodosis) ซึ่งระบาดในประเทศเขตร้อน ได้แก่ ประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทางเหนือของประเทศออสเตรเลีย และประเทศในเขตเส้นศูนย์สูตร รวมทั้งประเทศไทยด้วย (Howe et al., 1971; Chaowagul et al., 1989; Leelarasamee and Bovornkitti, 1989; Yabuuchi and Arakawa, 1993) โดยในประเทศไทยนั้นจะพบอุบัติการณ์ของโรคนี้นมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และผู้ป่วยมีอัตราการตายสูง จึงจัดว่าเป็นโรคติดต่อที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย *B. pseudomallei* นั้นพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในดิน โคลน แหล่งน้ำนิ่ง และนาข้าว ในหน้าแล้งเชื้อมักจะอาศัยอยู่ในดิน แต่หน้าฝนหลังจากฝนตกได้สักระยะ เชื้อที่อยู่ในดินจะถูกชะขึ้นมาบนผิวดิน ประกอบกับเชื้อมีส่วนที่ทำให้เคลื่อนที่ได้ เรียกว่า แฟลกเจลลา (flagella) จึงสามารถเคลื่อนที่มาบริเวณผิวน้ำดิน โคลน และผิวน้ำได้ คนและสัตว์ที่อยู่ในบริเวณที่มีเชื้อจึงมีโอกาสเป็นโรคได้ง่าย เชื้อนี้จะติดต่อดูคนและสัตว์จากการสัมผัสโดยตรงบริเวณผิวหนังที่มีบาดแผล และจากการหายใจเอาละอองน้ำและดินที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปในร่างกาย ผู้ที่มีโอกาสติดเชื้อได้ง่ายในหน้าฝนมักจะเป็นชาวนา

เนื่องจากเป็นช่วงทำนา ทำให้ต้องสัมผัสกับบริเวณที่มีความเสี่ยงของโรคสูง อีกทั้งเขื่อนยังมีกระบาดในคนที่มิภูมิคุ้มกันต่ำและผู้ป่วยมักจะเสียชีวิตก่อนการวินิจฉัยโรคเนื่องจากอาการของผู้ป่วยไม่ชัดเจน ต้องทำการตรวจหาเชื้อในร่างกายก่อน การทำลายเซลล์เจ้าบ้านของเชื้อ *B. pseudomallei* นั้นมีทั้งที่เมื่อเซลล์ได้รับเชื้อแล้ว เซลล์จะสร้างและปล่อยสารบางชนิดออกมาทำลายเซลล์และตายในที่สุด และเชื้อมีกลไกในการยับยั้งการสร้างหรือปล่อยสารของเซลล์ออกมาทำลายเชื้อ

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei*

B. pseudomallei เป็นแบคทีเรียชนิดกรัมลบ ที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม (saprophytic bacteria) เชื้อนี้มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 x 1.2 ไมครอน ติดสีเข้มเฉพาะปลายทั้ง 2 ข้าง (bipolar staining) ตรงกลางติดสีจางทำให้มองคล้ายเข็มกลัดซ่อนปลาย (closed safety pin) เชื้อจะสร้าง exopolysaccharide glycocalyx แต่ไม่สร้างสปอร์ จีโนมที่สมบูรณ์ของเชื้อจะประกอบไปด้วยโครโมโซม 2 ชุดที่มีขนาดต่างกัน คือ 4.07 และ 3.17 เมกะเบส โดยมีส่วนประกอบ G+C ที่ 68% (Holden et al., 2004) แฟลกเจลลาของเชื้อมีโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ (แฟลกเจลลิน) น้ำหนักโมเลกุล 43,400 ดาลตัน โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์หายไป 15 คู่เบส (ประมาณกรดอะมิโน 5 ตัว) (Sonthayanon

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล แขวงพญาไท เขตราชเทวี กทม. 10400

et al., 2002) นอกจากนี้ไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide; LPS) ของผนังเซลล์ของเชื้อสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มตามโครงสร้างของ O-antigen คือ type I antigen ซึ่งประกอบด้วย 2-O-acetylated-6-deoxy- β -D-manno-heptopyranosyl residues ที่ต่อกันด้วย 1,3-linked homopolymer แบบไม่มีกิ่ง และ type II antigen ซึ่งประกอบด้วย (-3)- β -D-glucopyranose-(1-3)-6-deoxy- α -L-talopyranosyl-(1-disaccharide repeats (L-6dTalp: ~33% O-4 acetylated และ O-2 methylated; 66% O-2 acetylated) ซึ่งเป็น heteropolymer แบบไม่มีกิ่ง (DeShazer et al., 1998; Brett and Woods, 2000) เชื้อ *B. pseudomallei* มีคุณสมบัติทางชีวเคมีคือ ไม่สามารถใช้น้ำตาล L-arabinose ได้ (ara-) ซึ่งทำให้จำแนกเชื้อชนิดนี้ออกจากเชื้อสายพันธุ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรค คือ *Burkholderia thailandensis* (*B. thailandensis*) ที่สามารถใช้น้ำตาลชนิดนี้ได้ (ara+) เชื้อ *B. pseudomallei* สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา (nutrient agar) ได้ และสร้างโคโลนีที่มองเห็นได้ชัดเจนหลังจากบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยลักษณะโคโลนีมีตั้งแต่แบบเป็นเมือกขอบเรียบไปจนถึงขรุขระ เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-4°C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ คือ 37°C นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเหลวที่มีค่าความเป็นกรดค่าที่ pH 4.5 ภายใต้สภาวะการให้อากาศ และอยู่รอดได้ในปริมาณเชื้อที่สูง (10^9 CFU/ml) เป็นเวลาถึง 30 วัน

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา พบว่าส่วนใหญ่เชื้อ *B. pseudomallei* จะผ่านเข้าสู่ร่างกายของมนุษย์ทางบาดแผลและเข้าสู่กระแสเลือด และทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการไข้สูง อาจมีอาการช็อคได้ และเสียชีวิตก่อนการวินิจฉัยโรค (Mays and Ricketts, 1975) ซึ่งอาการเหล่านี้ หากผู้รักษาไม่ทราบหรือไม่สังเกตเห็นว่าจะเป็นอาการของโรคmelioidosis และผู้ป่วยได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากๆ อาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตในเวลาเพียง 2-3 วัน ทั้งนี้ หากได้รับการรักษาอย่างถูกต้องและทันทั่วถึง จะทำให้ผู้ป่วยจะสามารถหายเป็น

ปกติได้ง่าย สำหรับการวินิจฉัยโรคนั้นสามารถทำได้โดยการนำสิ่งส่งตรวจ (specimens) ของผู้ป่วย เช่น เลือด ปัสสาวะ เสมหะ หรือหนองมาเพาะเลี้ยงเพื่อตรวจหาเชื้อ ซึ่งใช้เวลา 3-5 วัน และการรักษายาจริงจะใช้ระยะเวลา 18-20 สัปดาห์ โดยอาจใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิดร่วมกัน เช่น doxycycline ร่วมกับ co-trimoxazole หรือ chloramphenicol ร่วมกับ doxycycline แต่ในระยะเวลาที่มีความรุนแรงจะใช้ยา ceftazidime ฉีดเข้ากระแสเลือดและอาจให้ยา co-trimoxazole ร่วมกับระยะ maintenance phase ด้วย

กลไกการก่อให้เกิดโรคมะลิออยโดสิส

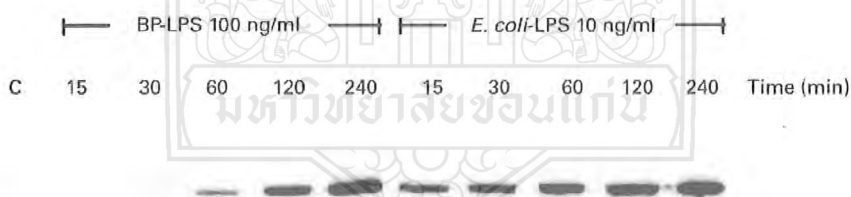
เชื้อ *B. pseudomallei* มีกลไกการก่อให้เกิดโรคโดยเชื้อมีแอนติเจนที่เป็นปัจจัยรุนแรง (virulence factor) โดยอาจเป็นแอนติเจนบนผิวนอกของเชื้อ (surface antigen) ได้แก่ โปรตีนแฟลกเจลลิน (Brett et al., 1994), ไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (Matsuura et al., 1996) โปรตีนที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (Gotoh et al., 1994) และ exopolysaccharide glycocalyx ซึ่งการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) ของเชื้อนี้จะทำให้เชื้อสามารถหลบหลีกการถูกจับกินโดยเม็ดเลือดขาวได้ และเชื้อสามารถเจริญในเซลล์ได้ อีกทั้งไบโอฟิล์มยังป้องกันไม่ให้สารต้านจุลชีพเข้าไปทำลายเชื้อได้ง่าย (Vorachit et al., 1995) แอนติเจนที่เป็นปัจจัยรุนแรงอีกประเภทหนึ่งคือ สิ่งที่เชื้อผลิตออกมา (extracellular products) เช่น lethal exotoxin, hemolysin, protease และ dermonecrotxin เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อยังมี type III secretion system (T3SS) ซึ่งมีส่วนสำคัญในการทำให้โปรตีนที่มีผลต่างๆ ของเชื้อ เช่น BopE effector protein และ BipD translocator protein เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านได้ โดยมีรายงานว่า การทำงานที่ผิดปกติไปของยีน *bsaQ* และ *bsaZ* ซึ่งถอดรหัสให้โปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของ T3SS นั้นทำให้การหลั่งของ BopE และ BipD ลดลง ทั้งยังมีผลต่อการแพร่กระจายของเชื้อเข้าไปในเซลล์เจ้าบ้านที่ไม่ใช่เซลล์ลี้กนิน และทำให้การรวมตัวกันของเซลล์แมโครฟาจหลายเซลล์

เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ที่มีหลายนิวเคลียส (Multinucleated giant cells; MNGC) ข้างและมีขนาดของ MNGC เล็กถึง (Muangsombut et al., 2008)

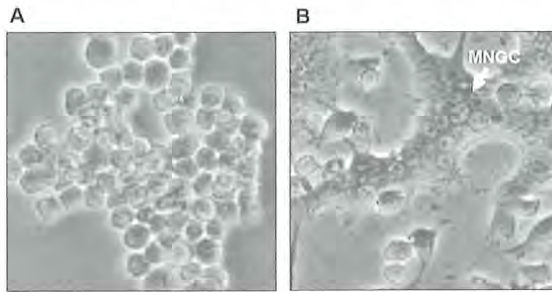
จากงานวิจัยในสัตว์ทดลอง พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของสัตว์เมื่อได้รับเชื้อ *B. pseudomallei* และในมนุษย์ร่างกายจะมีการตอบสนองต่อการติดเชื้อ ทั้งระบบ humoral และ cellular immunity โดยมากกว่า 90% จะมีการผลิต IgG และ IgM (Ashdown et al., 1989) การศึกษากับซีรัมมนุษย์เมื่อได้รับเชื้อ พบว่า มีการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ทาง alternative pathway (Egan and Gordon, 1996) นอกจากนี้การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบ innate และระบบ cellular immunity นั้น จะพบอินเทอเฟียร์อนแกรมมา (interferon-gamma) ในระดับสูงซึ่งจะเสริมการต่อต้านการติดเชื้อในร่างกายได้อีกด้วย (Lauw et al., 1999; Ulett et al., 2000)

B. pseudomallei สามารถมีชีวิตและเพิ่มปริมาณในเซลล์กลืนกิน เช่น แมคโครฟาจ และที่ไม่ใช่เซลล์กลืนกิน เช่น เซลล์เยื่อบุผิว ได้ (Pruksachartvuthi

et al., 1990; Jones et al., 1996) จากรายงานการวิจัย เชื้อชนิดนี้สามารถหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันแบบ innate immunity ได้โดยจากการกระตุ้นเซลล์แมคโครฟาจด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ของเชื้อ *B. pseudomallei* พบว่าเซลล์แมคโครฟาจมีอัตราการผลิตไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) และการแสดงออกของ inducible nitric oxide (iNOS) ที่ต่ำ (รูปที่ 1) ทำให้แมคโครฟาจไม่สามารถทำลายเชื้อได้ (Utaisincharn et al., 2001) นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์หลังจากได้รับเชื้อ *B. pseudomallei* ซึ่งแบคทีเรียสามารถหลบเลี่ยงการถูกทำลายโดยแมคโครฟาจ และสามารถทำให้เกิด MNGC (รูปที่ 2) ในขณะที่ *B. thailandensis* ไม่ก่อให้เกิด MNGC (Nuchtas et al., 2007) การทำให้เซลล์เจ้าบ้านเกิด MNGC ได้ นั้น นอกจากจะมีผลมาจาก T3SS แล้ว ยังพบว่ามีผลมาจากอื่น rpoS ของเชื้อ *B. pseudomallei* ได้อีกด้วย (Utaisincharn et al., 2006; Lengwehasatit et al., 2008) ซึ่ง RpoS (stationary-phase sigma factor) จะกระตุ้นให้ยีนอื่นๆ แสดงออกเพื่อตอบสนองต่อภาวะเครียดของเชื้อ



รูปที่ 1 การแสดงออกของโปรตีน inducible nitric oxide synthase (iNOS) ของเซลล์แมคโครฟาจของหนู (RAW 264.7) ที่ได้รับการกระตุ้นโดยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide; LPS) ของเชื้อ *B. pseudomallei* เทียบกับเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) ซึ่งตรวจสอบโดยวิธี Western blot analysis (Utaisincharn et al., 2000)



รูปที่ 2 เซลล์แมคโครฟาจของหนู (RAW264.7) ปกติที่ไม่ได้รับเชื้อ (A) และเซลล์ที่ได้รับเชื้อ *B. pseudomallei* (B) โดยถูกครแสดงการเกิดการรวมตัวของเซลล์กลายเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีหลายนิวเคลียส (MNGC) (Nuchtas, 2007)

การตายของเซลล์ที่ได้รับเชื้อ *B. pseudomallei*

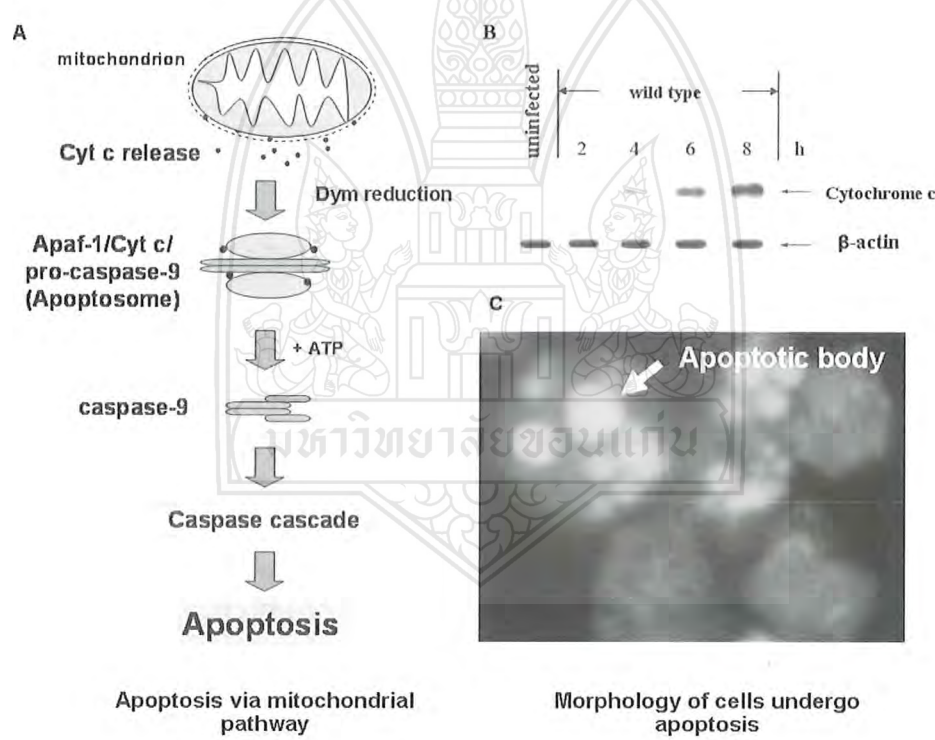
เชื้อ *B. pseudomallei* สามารถกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์กลืนกินและเซลล์ที่ไม่กลืนกิน แต่เซลล์กลืนกินจะเกิดการตายได้รวดเร็วกว่าเซลล์ที่ไม่กลืนกิน รายงานวิจัยในหลอดทดลอง พบว่า *B. pseudomallei* ทำให้เกิดความเป็นพิษ (cytotoxicity) ในเซลล์แมคโครฟาจของหนู (RAW264.7) โดยวัดจากการที่เซลล์หลั่งเอนไซม์ lactate dehydrogenase (LDH) ออกมาเป็นจำนวนมาก (เมื่อเทียบกับ *B. thailandensis*) หลังจากที่ได้รับเชื้อในปริมาณเชื้อต่อเซลล์จำนวน 2 ต่อ 1 การหลั่งของเอนไซม์ออกมาในอาหารเลี้ยงเซลล์ จะมากขึ้นเมื่อเวลาในการรับเชื้อมากขึ้น ซึ่งนำไปสู่การตายของเซลล์แบบเนโครซิส (necrosis; การที่เซลล์บวมและแตกตาย) ในที่สุด ในขณะที่เซลล์เยื่อหุ้มของมนุษย์ (A549) ที่ได้รับเชื้อในปริมาณเชื้อต่อเซลล์จำนวน 10 ต่อ 1 นั้น จะมีการหลั่งของเอนไซม์ LDH ในปริมาณที่น้อยกว่า นอกจากนี้ยังพบว่า *B. pseudomallei* สามารถกระตุ้นให้เซลล์เกิดการหดตัวและมีการลดลงของความต่างศักย์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial membrane potential; Dym) เป็นผลให้เกิดการรั่วของไซโทโครมซี (cytochrome c) จากไมโทคอนเดรีย นำไปสู่การกระตุ้นเป็นลำดับขั้นของเอนไซม์แคสเพส 9 และแคสเพส 3 ซึ่งเป็น cysteine protease (Lengwehasatit et al., 2008) (รูปที่ 3) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ บ่งชี้ว่าเซลล์มี

การส่งสัญญาณภายในเพื่อมาทำลายตัวเอง หรือเรียกว่าเป็นการตายแบบอะพอพโทซิส (apoptosis) โดยผ่านวิถีที่ขึ้นกับเอนไซม์แคสเพส อย่างไรก็ตาม ยังมีรายงานพบว่าเชื้อ *B. pseudomallei* สามารถกระตุ้นให้เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโทซิสโดยไม่ผ่านวิถีที่ขึ้นกับเอนไซม์แคสเพสอีกด้วย โดยตรวจพบการเคลื่อนที่ของโปรตีน apoptotic inducing factor (AIF) จากไมโทคอนเดรียสู่ไซโทพลาซึมและนิวเคลียสตามลำดับ ซึ่ง AIF จะทำงานร่วมกับโปรตีน endo G ทำให้เกิดการหดตัวของโครมาตินและการทำลายของดีเอ็นเอเป็นชิ้นเล็กๆ (Enari et al., 1998; Wang et al., 2002) สาเหตุการตายของเซลล์ที่ได้รับเชื้อ *B. pseudomallei* นั้น พบว่า มีผลมาจากการทำงานของยีน *spoA* ของเชื้อด้วย เนื่องจากเชื้อที่ไม่มียีนนี้จะกระตุ้นให้เซลล์แมคโครฟาจเกิดอะพอพโทซิสได้น้อย (Nuchtas, 2007)

การเกิดการตายแบบอะพอพโทซิสของเซลล์ที่ได้รับเชื้อ *B. pseudomallei* นั้นต้องอาศัยการเข้าไปสู่เซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการทำลายเซลล์หรือก่อให้เกิดโรคของแบคทีเรียชนิดนี้คือโปรตีนหรือสารพิษ ของแบคทีเรีย ดังจะเห็นได้จากรายงานที่พบว่า เชื้อที่ทำให้ตายด้วยความร้อนที่ 100 °C เป็นเวลา 10 นาที นั้นไม่สามารถกระตุ้นให้เซลล์ตายได้ (Nuchtas, 2007) และโปรตีน BipB (type-III-secreted proteins; “translocator”) ของเชื้อ *B. pseudomallei* มีส่วนเกี่ยวข้องกับการรวมตัวของเซลล์เป็น MNGC

และการเกิดอะพอพโทซิส (Suparak et al., 2005) การที่เซลล์เจ้าบ้านเกิดอะพอพโทซิสจะทำให้เชื้อถูกกักอยู่ใน apoptotic bodies และเมื่อเซลล์ที่กลืนกินอื่นๆ จับกินเซลล์ที่ตายแล้วนี้ จะทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจายไปยังเซลล์บริเวณอื่นๆ โดยอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เชื้อสามารถก่อให้เกิดโรคในที่สุด อีกประการหนึ่ง คือ แม้การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่จะนำไปสู่การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสเกิดขึ้นในขณะที่เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเซลล์ที่วัดได้มีปริมาณสูง อาจเป็นไปได้ว่าเซลล์มีการตายแบบเนโครซิสซาลง ซึ่งมีรายงานพบได้ในเซลล์แมคโครฟาจที่ติดเชื้อ *Listeria monocytogenes* โดยเชื้ออาศัยเซลล์ที่มีลักษณะของ “pseudo-healthy” ในการหลบหลีกการถูกทำลายจากเซลล์กลืนกินชนิดอื่นๆ (Barsig and Kaufmann, 1997)

ดังนั้นจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถมีชีวิตอยู่รอดภายในเซลล์ได้ในเซลล์แมคโครฟาจ นอกจากนี้เชื้อ *B. pseudomallei* จะทำให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซิสแล้ว ยังสามารถกระตุ้นให้เกิดการตายแบบอื่นๆ ได้อีก เช่น แบบไพโรพโทซิส (pyroptosis) ซึ่งเป็นการตายของเซลล์แบบควบคุม ที่เกิดร่วมกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยจะสามารถ ตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์แคสเพส 1 ร่วมด้วย และแบบ อองโคซิส (oncosis) ซึ่งเป็นช่วงต้นๆ ของเนโครซิส โดยเป็นการตายที่เซลล์มีลักษณะบวมและมีการปรากฏของ phosphatidylserine (PS) residues บนส่วนนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเซลล์ที่ตายแบบอะพอพโทซิส (Sun et al., 2005)



รูปที่ 3 (A) การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส โดยผ่านวิถีไมโทคอนเดรียที่ขึ้นกับแคสเพส (B) การตรวจหาไซโทโครมซี โดยวิธี Western blot analysis พบไซโทโครมซีจากแมคโครฟาจที่ติดเชื้อ *B. pseudomallei* และ β-actin เป็นตัวควบคุม (C) เซลล์ที่มีการตายแบบอะพอพโทซิส ตรวจหาเซลล์ที่เกิด apoptotic body ได้จากการย้อมสีเซลล์ด้วยสารเรืองแสง DAPI staining (Lengwehasatit et al., 2008)

สรุป

จากรายงานวิจัยต่างๆ ที่ผ่านมามะเห็นได้ว่า เชื้อ *B. pseudomallei* มีกลไกในการอยู่รอดภายในเซลล์เจ้าบ้านด้วยการหลบหลีกกลไกการทำลายเชื้อของเซลล์ หรือการทำลายเซลล์ และเซลล์เจ้าบ้านก็มีกลไกการทำลายตัวเซลล์เองเพื่อไม่ให้เชื้อแบคทีเรียสามารถแพร่กระจายได้ จึงสรุปได้ว่า การก่อให้เกิดโรคของการติดเชื้อชนิดนี้ขึ้นกับความสมดุลของการตอบสนองของเซลล์เจ้าบ้านและเชื้อก่อโรค

เอกสารอ้างอิง

- Ashdown, L.R., Johnson, R.W., Koehler, J.M., Cooney, C.A. (1989). Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of clinical and subclinical melioidosis. *J Infect Dis.* 160(2):253-260.
- Barsig, J., Kaufmann, S.H. (1997). The mechanism of cell death in *Listeria monocytogenes*-infected murine macrophages is distinct from apoptosis. *Infect Immun.* 65(10):4075-4081.
- Brett, P.J., Mah, D.C., Woods, D.E. (1994). Isolation and characterization of *Pseudomonas pseudomallei* flagellin proteins. *Infect Immun.* 62(5):1914-1919.
- Brett, P.J., Woods, D.E. (2000). Pathogenesis of and immunity to melioidosis. *Acta Trop.* 74(2-3):201-210.
- Chaowagul, W., White, N.J., Dance, D.A., Wattanagoon, Y., Naigowit, P., Davis, T.M., Looareesuwan, S., Pitakwatchara, N. (1989). Melioidosis: a major cause of community-acquired septicemia in northeastern Thailand. *J Infect Dis.* 159(5):890-899.
- DeShazer, D., Brett, P.J., Woods, D.E. (1998). The type II O-antigenic polysaccharide moiety of *Burkholderia pseudomallei* lipopolysaccharide is required for serum resistance and virulence. *Mol Microbiol.* 30(5):1081-1100.
- Egan, A.M., Gordon, D.L. (1996). *Burkholderia pseudomallei* activates complement and is ingested but not killed by polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun.* 64(12):4952-4959.
- Enari, M., Sakahira, H., Yokoyama, H., Okawa, K., Iwamatsu, A., Nagata, S. (1998). A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature.* 391(6662):43-50.
- Gotoh, N., White, N.J., Chaowagul, W., Woods, D.E. (1994). Isolation and characterization of the outer-membrane proteins of *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei*. *Microbiology.* 140(4):797-805.
- Holden, M.T., Titball, R.W., Peacock, S.J., Cerdeno-Tarraga, A.M., Atkins, T., Crossman, L.C., et al. (2004). Genomic plasticity of the causative agent of melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101(39):14240-14245.
- Howe, C., Sampath, A., Spotnitz, M. (1971). The *pseudomallei* group: a review. *Infect Dis.* 124(6):598-606.
- Jones, A.L., Beveridge, T.J., Woods, D.E. (1996). Intracellular survival of *Burkholderia pseudomallei*. *Infect Immun.* 64(3):782-790.
- Lauw, F.N., Simpson, A.J., Prins, J.M., Smith, M.D., Kurimoto, M., van Deventer, S.J., Speelman, P., Chaowagul, W., White, N.J., van der Poll, T. (1999). Elevated plasma concentrations of interferon (IFN)-gamma and the IFN-gamma-inducing cytokines interleukin (IL)-18, IL-12, and IL-15 in severe melioidosis. *J Infect Dis.* 180(6):1878-1885.

- Leelarasamee, A., Bovornkitti, S. (1989). Melioidosis: review and update. *Rev Infect Dis.* 11(3):413-425.
- Lengwehasatit, I., Nuchtas, A., Tungpradabkul, S., Sirisinha, S., Utaisinchaoen, P. (2008). Involvement of *B. pseudomallei* RpoS in apoptotic cell death in mouse macrophages. *Microb Pathog.* 44:238-245.
- Mays, E.E., Ricketts, E.A. (1975). Melioidosis: recrudescence associated with bronchogenic carcinoma twenty-six years following initial geographic exposure. *Chest.* 68(2):261-263.
- Muangsoombut, V., Suparak, S., Pumirat, P., Damnin, S., Vattanaviboon, P., Thongboonkerd, V., Korbsrisate, S. (2008). Inactivation of *Burkholderia pseudomallei* bsaQ results in decreased invasion efficiency and delayed escape of bacteria from endocytic vesicles. *Arch Microbiol.* 190:623-631.
- Nuchtas, A. (2007). The induction of apoptosis through the mitochondrial pathway in mouse macrophages infected with *Burkholderia pseudomallei*. Master Thesis.
- Pruksachartvuthi, S., Aswapokee, N., Thankerngpol, K. (1990). Survival of *Pseudomonas pseudomallei* in human phagocytes. *J Med Microbiol.* 31(2):109-114.
- Sonthayanon, P., Krasao, P., Wuthiekanun, V., Panyim, S., Tungpradabkul, S. (2002). A simple method to detect and differentiate *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia thailandensis* using specific flagellin gene primers. *Mol Cell Probes.* 16(3):217-222.
- Sun, G.W., Lu, J., Pervaiz, S., Cao, W.P., Gan, Y.-H. (2005). Caspase-1 dependent macrophage death induced by *Burkholderia pseudomallei*. *Cell Microb.* 7:1447-1458.
- Suparak, S., Kespichayawattana, W., Haque, A., Easton, A., Damnin, S., Lertmemongkolchai, G., Bancroft, G.J., Korbsrisate, S. (2005). Multinucleated giant cell formation and apoptosis in infected host cells is mediated by *Burkholderia pseudomallei* type III secretion protein BipB. *J Bacteriol.* 187(18): 6556-6560.
- Ulett, G.C., Ketheesan, N., Hirst, R.G. (2000). Cytokine gene expression in innately susceptible BALB/c mice and relatively resistant C57BL/6 mice during infection with virulent *Burkholderia pseudomallei*. *Infect Immun.* 68(4):2034-2042.
- Utaisinchaoen, P., Arjcharoen, S., Limposuwan, K., Tungpradabkul, S., Sirisinha, S. (2006). *Burkholderia pseudomallei* RpoS regulates multinucleated giant cell formation and inducible nitric oxide synthase expression in mouse macrophage cell line (RAW264.7). *Microb Pathog.* 40(4):184-189.
- Utaisinchaoen, P., Tangthawornchaikul, N., Kespichayawattana, W., Chaisuriya, P., Sirisinha, S. (2001). *Burkholderia pseudomallei* interferes with inducible nitric oxide synthase (iNOS) production: a possible mechanism of evading macrophage killing. *Microbiol Immunol.* 45(4):307-313.
- Utaisinchaoen, P., Tangthawornchaikul, N., Kespichayawattana, W., Anuntagool, N., Chaisuriya, P., Sirisinha, S. (2000). Kinetic studies of the production of nitric oxide (NO) and tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) in macrophages stimulated with *Burkholderia pseudomallei* endotoxin. *Clin Exp Immunol.* 122(3):324-329.

- Vorachit, M., Lam, K., Jayanetra, P., Costerton, J.W. (1995). Electron microscopy study of the mode of growth of *Pseudomonas pseudomallei* in vitro and in vivo. J Trop Med Hyg. 98(6):379-391.
- Wang, X., Yang, C., Chai, J., Shi, Y., Xue, D. (2002). Mechanisms of AIF-mediated apoptotic DNA degradation in *Caenorhabditis elegans*. Science. 298(5598):1587-1592.
- Yabuuchi, E., Arakawa, M. (1993). *Burkholderia pseudomallei* and melioidosis: be aware in temperate area. Microbiol Immunol. 37(11): 823-836.



นิติวิทยาศาสตร์กับกระบวนการยุติธรรม Forensic Science and Justice Process

อาคม เกียร ¹

นิติวิทยาศาสตร์ (Forensic Science) มีผู้ให้คำนิยามไว้มากมาย แต่กล่าวโดยสรุปรวมความแล้ว หมายถึง การนำเอาความรู้ในด้านวิทยาศาสตร์สาขาต่างๆ มาประยุกต์ใช้กับกฎหมายในการสืบสวนสอบสวน การดำเนินคดีทางกฎหมาย เพื่อช่วยกระบวนการยุติธรรมค้นหาความจริงในการพิสูจน์หลักฐาน และนำไปสู่ผู้กระทำผิดอาญา (Peter R. De forest, 1983 และ อรรถพล แซ่มสุวรรณวงศ์, 2544)

ในปัจจุบัน หลายๆ ประเทศในโลกทั้งในยุโรป อเมริกา และเอเชีย รวมทั้งประเทศไทย ได้มีการนำเอานิติวิทยาศาสตร์มาใช้ควบคู่กับกระบวนการยุติธรรม ซึ่งนับวันจะให้ความสำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ เพื่อลดการโต้แย้ง ความหวาดระแวงระหว่างผู้ใช้กฎหมายกับผู้ถูกกล่าวหา เพราะวิทยาศาสตร์เป็นเรื่องของหลักการและเหตุผลที่แท้จริง สามารถพิสูจน์ได้

กระบวนการยุติธรรม (Justice Process) หมายถึงแบบแผนวิธีดำเนินการแก่ผู้ฝ่าฝืนกฎหมายเพื่อให้ความยุติธรรมแก่ทุกฝ่ายในสังคม (ดิเรก ควรสมาคม, 2552) สำหรับกระบวนการยุติธรรมของประเทศไทยเรานั้น เป็นระบบกล่าวหา (Accusatorial System) กล่าวคือ เป็นระบบที่ฝ่ายกล่าวหา (โจทก์) มีหน้าที่นำพยานหลักฐานฝ่ายของตนมาเบิกความกล่าวหาเพื่อพิสูจน์ความผิดของจำเลย ส่วนฝ่ายที่ถูกกล่าวหา (จำเลย) ก็มีหน้าที่นำพยานหลักฐานของตนมาเบิกความรับรอง

ความบริสุทธิ์ของตนให้ศาลรับฟังแล้วตัดสินคดีไปตามน้ำหนักพยานหลักฐานของแต่ละฝ่าย ระบบนี้จะให้ความสำคัญเป็นอย่างมากกับหลักเกณฑ์ต่อไปนี้

1. หลักการสันนิษฐานว่าจำเลยเป็นผู้บริสุทธิ์จนกว่าจะพิสูจน์ให้ศาลเชื่อโดยปราศจากข้อสงสัยว่าจำเลยกระทำผิดจริง
2. ถือหลักสำคัญว่าโจทก์และจำเลยมีฐานะเท่าเทียมกัน

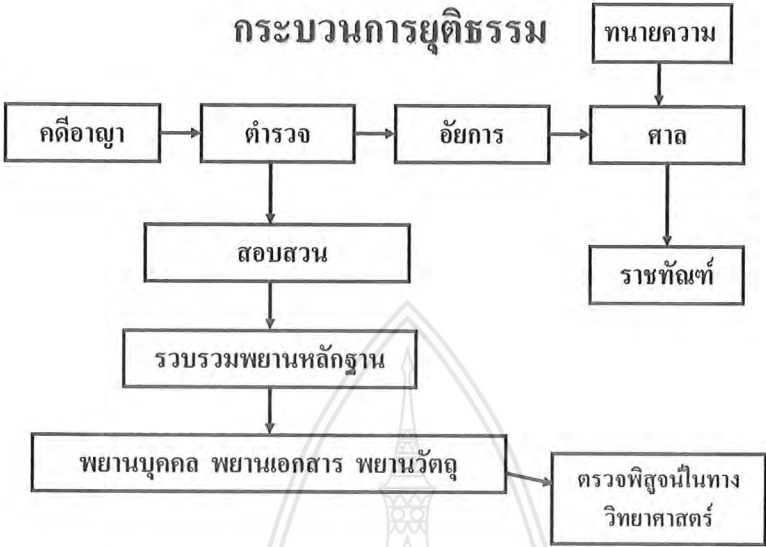
3. ศาลจะวางตนเป็นกลางโดยเคร่งครัด ทำหน้าที่เหมือนกรรมการตัดสินกีฬา คอยควบคุมให้ทั้งสองฝ่ายปฏิบัติตามกฎหมายลักษณะพยานโดยเคร่งครัด

4. ศาลจะมีบทบาทค้นหาความจริงน้อยมาก เพราะถือว่าเป็นหน้าที่ของคู่กรณีหรือคู่ความที่จะต้องแสวงหาพยานหลักฐานมาแสดงต่อศาลด้วยตนเอง

ในกระบวนการยุติธรรมของประเทศไทยเรามีหน่วยงานที่เกี่ยวข้องอยู่หลายหน่วย ดังแสดงในรูปที่ 1

จากรูปที่ 1 กระบวนการยุติธรรมของประเทศไทย ในที่นี้จะพูดถึงเฉพาะทางอาญา ซึ่งเป็นเรื่องที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยในชีวิตและทรัพย์สิน ความสงบสุขของสังคม เป็นเรื่องที่สำคัญ และเป็นเรื่องใกล้ตัวที่ทุกคนควรที่จะได้รู้จัก เพื่อจะเป็นประโยชน์ในการดำเนินชีวิต

¹ งานพิสูจน์หลักฐานวิทยาการเขต 23 ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000



รูปที่ 1 กระบวนการยุติธรรมของประเทศไทย (เฉพาะทางอาญา)

คดีอาญา หมายถึง คดีที่เกี่ยวกับความผิดและมีโทษซึ่งกำหนดไว้ในประมวลกฎหมายอาญา และกฎหมายอื่นๆ ที่มีโทษทางอาญา เช่น พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พระราชบัญญัติจราจรทางบก พระราชบัญญัติอาวุธปืนฯ เป็นต้น ซึ่งโทษทางอาญามีอยู่ 5 สถาน คือ ประหารชีวิต จำคุก กักขัง ปรับ และริบทรัพย์สิน (ประมวลกฎหมายอาญา มาตรา 18)

เมื่อมีการกระทำความผิดตามกฎหมายใดก็ตาม ที่ระบุว่าการกระทำความผิดนั้นมีโทษทางอาญาดังที่ได้กล่าวมานั้น ถือว่าเป็นคดีอาญา และหน่วยงานแรกของกระบวนการยุติธรรมที่เข้ามาเกี่ยวข้อง คือ ตำรวจ โดยตำรวจจะทำหน้าที่ในการสอบสวน ซึ่งในกระบวนการสอบสวนก็จะมีการรวบรวมพยานหลักฐาน เพื่อทราบข้อเท็จจริงหรือพิสูจน์ความผิด และเพื่อที่จะเอาตัวผู้กระทำความผิดมาฟ้องลงโทษ(ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 2(11)) เมื่อตำรวจรวบรวมพยานหลักฐานเสร็จแล้วก็จะสรุปสำนวนว่าจะส่งฟ้องผู้ต้องหาหรือไม่ แล้วจึงส่งเรื่องไปยังอัยการ ซึ่งอัยการนี้อาจจะเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ทนายแผ่นดิน มีหน้าที่ในการพิจารณาสำนวนของตำรวจที่ส่งมาว่า มีพยานหลักฐานเพียงพอที่จะส่งฟ้องผู้ต้องหาต่อศาลหรือไม่ ถ้าส่งฟ้อง

หน่วยงานต่อมาที่เข้ามาเกี่ยวข้องคือ ศาล ก็จะทำหน้าที่ในการตัดสินคดีความต่างๆ ตามกฎหมาย โดยจะพิจารณาจากพยานหลักฐานจากทั้งฝ่ายโจทก์และฝ่ายจำเลย นำมาสืบแสดงต่อศาล ซึ่งในขั้นตอนนี้จะมีอีกหน่วยงานหนึ่งเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย คือ ทนายความของฝ่ายจำเลย ที่จะต้องมาแก้ต่างให้ลูกความของตนเอง เมื่อศาลพิจารณาซึ่งน้ำหนักพยานหลักฐานของทั้งสองฝ่ายแล้ว ถ้าเห็นว่า น้ำหนักพยานหลักฐาน (ความน่าเชื่อถือ) ของฝ่ายโจทก์มีน้ำหนักพอที่จะตัดสินลงโทษจำเลยไปตามความผิดที่ถูกกล่าวหา จำเลยก็จะถูกนำไปสู่หน่วยงานสุดท้าย คือ ราชทัณฑ์ หรือเรือนจำ เพื่อรับโทษตามที่ศาลพิพากษา แต่ถ้าศาลเห็นว่าน้ำหนักพยานหลักฐานของฝ่ายโจทก์ยังไม่สามารถที่จะพิสูจน์ความผิดของจำเลยได้ ศาลก็จะยกฟ้อง และปล่อยตัวจำเลยเป็นอิสระไป

อย่างไรก็ตาม การที่ศาลจะตัดสินลงโทษจำเลยหรือไม่ สิ่งที่สำคัญที่สุด ก็คือ พยานหลักฐาน (Evidence) นั้นเอง โดยพยานหลักฐาน นั้น หมายถึง สิ่งใดๆ ที่สามารถจับต้องได้ตามกฎหมาย และเป็นสิ่งที่สามารถนำเสนอในชั้นศาล เพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริงในคดีได้ (อรรถพล เข้มสุวรรณวงศ์, 2544) ไม่ว่าจะเป็น

พยานบุคคล พยานเอกสาร พยานวัตถุ ตลอดจนหลักฐานอื่นๆ ซึ่งอาจจะใช้เป็นเครื่องพิสูจน์การกระทำผิดได้ (ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 226) ซึ่งพยานหลักฐานในสำนวนการสอบสวนของเจ้าหน้าที่ตำรวจ (พนักงานสอบสวน) รวบรวมไว้ในขั้นตอนการสอบสวนนั้น มีอยู่ 3 ประเภท คือ

1. พยานบุคคล หมายถึง คำให้การของบุคคลที่มาให้การต่อหน้าพนักงานเจ้าหน้าที่ตามที่กฎหมายกำหนด ศาลจะรับรู้จากการที่พยานบุคคลเป็นผู้เล่าเรื่องราวให้ฟัง หรือการตอบคำถามของศาลที่เกี่ยวกับข้อเท็จจริงที่พยานได้ประสบเหตุการณ์ ได้เห็น ได้ยิน หรือได้ฟังมา อาจจะเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ประจักษ์พยาน

2. พยานเอกสาร หมายถึง ข้อความใดๆ ที่ปรากฏเป็นลายลักษณ์อักษร หรือรูปรอยใดที่สามารถใช้เป็นเครื่องหมายแทนคำพูด เพื่อให้เข้าใจข้อความหรือตามความหมายนั้นๆ ได้ ไม่ว่าจะเป็นบันทึกด้วยการเขียน พิมพ์ แกะสลัก บนวัตถุใดๆ เช่น กระดาษ ผ้า โลหะ ไม้ เป็นต้น

3. พยานวัตถุ หรือวัตถุพยาน หมายถึง สิ่งใดๆ ที่สามารถจะให้ศาลหรือพนักงานเจ้าหน้าที่ตรวจสอบเพื่อให้ข้อเท็จจริงอันเป็นประโยชน์ต่อการพิจารณาคดี เช่น มีด ปืน ท่อนไม้ ยาเสพติด เป็นต้น

ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์นั้น ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับพยานเอกสารและพยานวัตถุ โดยเฉพาะพยานวัตถุที่จะเข้ามาในคดีอาญานั้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ

3.1 พยานวัตถุประเภทที่มีไว้เป็นความผิด ซึ่งโดยทั่วไปแล้ววัตถุประเภทไหนที่มีไว้เป็นความผิดนั้น ก็จะมีกฎหมายออกมาควบคุมเป็นเรื่อยๆ ไป เช่น ยาเสพติด อาวุธปืน วัตถุระเบิด เป็นต้น

3.2 พยานวัตถุประเภทที่ได้ใช้ในการกระทำความผิด พยานวัตถุประเภทนี้มีหลากหลายชนิดขึ้นอยู่กับลักษณะการกระทำความผิดนั้นๆ มีดที่ใช้แทง ปืนที่ใช้ยิง ไขควงที่ใช้ขันแฉะ ท่อนไม้ที่ใช้ตี เป็นต้น

3.3 พยานวัตถุประเภทที่ได้มาจากการกระทำความผิด เป็นทรัพย์สินต่างๆ ที่คนร้ายโจรกรรมไป เช่น รถยนต์ สร้อยคอทองคำ ธนบัตร เป็นต้น

พยานวัตถุทั้งสามประเภทดังกล่าว เมื่อตรวจยึดเข้ามาเป็นของกลางในคดีแล้ว จะต้องมีการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ เพื่อที่จะทำให้ข้อเท็จจริงต่างๆ กระจางขึ้น และให้ผู้รู้กฎหมายในกระบวนการยุติธรรม จะใช้ได้อย่างถูกต้อง เป็นธรรมแก่คู่กรณี ตรงตามเจตนารมณ์ของกฎหมาย เพราะถ้าไม่มีการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์แล้ว ข้อเท็จจริงในส่วนนั้นอาจจะไม่เพียงพอที่ศาลจะพิพากษาลงโทษจำเลยได้ ซึ่งจะเป็นเหตุให้ศาลยกฟ้องและปล่อยตัวจำเลยไป เพราะกฎหมายเกี่ยวกับพยานหลักฐานวางหลักไว้ว่า ให้ศาลใช้ดุลพินิจวินิจฉัยชี้ขาดน้ำหนักพยานหลักฐานทั้งปวง อย่าพิพากษาลงโทษจนกว่าจะแน่ใจว่ามีการกระทำความผิดจริงและจำเลยเป็นผู้กระทำความผิดนั้น เมื่อมีความสงสัยตามสมควรว่าจำเลยได้กระทำความผิดหรือไม่ ให้ยกประโยชน์แห่งความสงสัยให้จำเลย (ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 227)

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า การตรวจพิสูจน์พยานวัตถุของกลางในคดีจึงมีความสำคัญและจำเป็นในกระบวนการยุติธรรม เพื่อให้เห็นชัดเจนนยิ่งขึ้น จึงขอยกตัวอย่างประกอบ 3 ตัวอย่าง ดังนี้

ตัวอย่างที่ 1 ในคดียาเสพติด เจ้าหน้าที่ตำรวจจับกุมผู้ต้องหาได้พร้อมของกลาง ยาเม็ดกลมแบนสีส้มจำนวน 2,000 เม็ด และแจ้งข้อหาว่า มียาเสพติดให้โทษประเภท 1 (ยาบ้า) ไว้ในครอบครองเพื่อจำหน่าย โดยข้อกฎหมายที่เกี่ยวข้องกับเรื่องนี้มีดังนี้

1. พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 มาตรา 15 บัญญัติว่า ห้ามมิให้ผู้ใดผลิต นำเข้า ส่งออก จำหน่าย หรือมีไว้ในครอบครองซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท 1 เว้นแต่รัฐมนตรีจะได้อนุญาตเฉพาะในกรณีจำเป็นเพื่อประโยชน์ของทางราชการ

วรรคสาม การผลิต นำเข้า ส่งออก หรือมีไว้ในครอบครองซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท 1 ปริมาณดังต่อไปนี้ ให้ถือว่าเป็นการผลิต นำเข้า ส่งออก



รูปที่ 2 แสดงรูปร่างลักษณะของยาบ้า

หรือมีไว้ในครอบครองเพื่อจำหน่าย

(1) เด็กซ์โตรัลโซรไฮด์ หรือ แอล เอส ดี มีปริมาณคำนวณเป็นสารบริสุทธิ์ตั้งแต่ศูนย์จุดเจ็ดห้า มิลลิกรัมขึ้นไป หรือมียาเสพติดที่มีสารดังกล่าวผสมอยู่จำนวนสิบห้าหน่วยการใช้ขึ้นไป หรือมีน้ำหนักสุทธิตั้งแต่สามร้อยมิลลิกรัมขึ้นไป

(2) แอมเฟตามีนหรืออนุพันธ์แอมเฟตามีน มีปริมาณคำนวณเป็นสารบริสุทธิ์ตั้งแต่สามร้อยเจ็ดสิบห้า มิลลิกรัมขึ้นไป หรือมียาเสพติดที่มีสารดังกล่าวผสมอยู่จำนวนสิบห้าหน่วยการใช้ขึ้นไป หรือมีน้ำหนักสุทธิตั้งแต่หนึ่งจุดห้ากรัมขึ้นไป

2. พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 มาตรา 66 บัญญัติว่า ผู้ใดจำหน่ายหรือมีไว้ในครอบครองเพื่อจำหน่ายซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท 1 โดยไม่ได้รับอนุญาต และมีปริมาณคำนวณเป็นสารบริสุทธิ์ หรือมีจำนวนหน่วยการใช้ หรือมีน้ำหนักสุทธิไม่ถึงปริมาณที่กำหนดตาม มาตรา 15 วรรคสาม ต้องระวางโทษจำคุกตั้งแต่สี่ปีถึงสิบห้าปี หรือปรับตั้งแต่แปดหมื่นบาทถึงสามแสนบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

ถ้ายาเสพติดให้โทษตามวรรคหนึ่งมีปริมาณคำนวณเป็นสารบริสุทธิ์ ตั้งแต่ปริมาณที่กำหนดตาม มาตรา 15 วรรคสาม แต่ไม่เกินยี่สิบกรัม ต้องระวางโทษจำคุกตั้งแต่สี่ปีถึงจำคุกตลอดชีวิต และปรับตั้งแต่สี่แสนบาทถึงห้าล้านบาท

ถ้ายาเสพติดให้โทษตามวรรคหนึ่งมีปริมาณคำนวณเป็นสารบริสุทธิ์เกินยี่สิบกรัมขึ้นไป ต้องระวางโทษจำคุกตลอดชีวิต และปรับตั้งแต่หนึ่งล้านบาทถึงห้าล้านบาท หรือประหารชีวิต

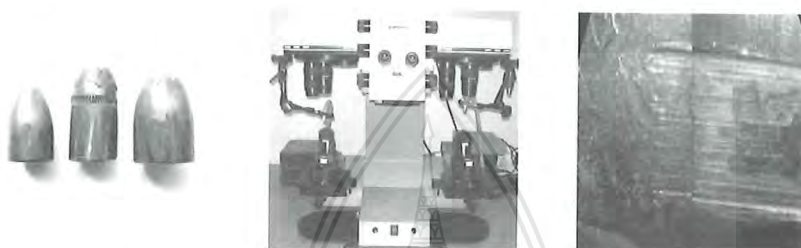
จากข้อเท็จจริงและข้อกฎหมายดังกล่าว จะเห็นได้ว่า ถ้าไม่มีการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ จะไม่สามารถรู้ได้ว่ายาเม็ดกลมแบนสี่เหลี่ยม จำนวน 2,000 เม็ด ของกลางนั้นเป็นยาเสพติดหรือไม่ ชนิดใด และมีปริมาณสารบริสุทธิ์เท่าใด และศาลก็จะไม่มีข้อเท็จจริงในส่วนนี้ที่จะต้องนำไปปรับใช้กับข้อกฎหมายดังกล่าวมาข้างต้น และก็จะไม่สามารถกำหนดโทษที่จะลงแก่จำเลยได้ว่าจะเข้ากับข้อกฎหมายในวรรคใด ของมาตรา 66 จึงจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจพิสูจน์ของกลางในทางวิทยาศาสตร์ ถ้ามีการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ สมมติว่าของกลางดังกล่าว น้ำหนักสุทธิ รวม 200 กรัม ตรวจพบเมทแอมเฟตามีน ไฮโดรคลอไรด์ซึ่งเป็นเกลือของเมทแอมเฟตามีนและเป็นอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน มีปริมาณสารบริสุทธิ์ร้อยละ 25 คำนวณเป็นน้ำหนักสารบริสุทธิ์ได้ 50 กรัม ซึ่งเมทแอมเฟตามีนนี้จัดเป็นยาเสพติดให้โทษในประเภท 1 จากข้อเท็จจริงที่ได้จากการตรวจพิสูจน์นี้จะเห็นได้ว่า สามารถที่จะนำไปปรับใช้กับข้อกฎหมายในมาตรา 66 ได้ คือ จะเข้าในข้อกฎหมาย วรรคสาม ของมาตรา 66 นั่นคือ ศาลจะต้องลงโทษจำเลยในวรรคนี้ คือ ต้องระวางโทษจำคุกตลอดชีวิต และปรับตั้งแต่หนึ่งล้านบาทถึงห้าล้านบาท หรือประหารชีวิต

ตัวอย่างที่ 2 ในคดีฆาตกรรม เมื่อมีเสียงปืนดังขึ้น 1 นัด ในชุมชนเวลากลางคืน และมีผู้เสียชีวิตในเหตุการณ์ จากการตรวจค้นทุกคนในชุมชนที่เกิดเหตุพบว่า ได้อาวุธปืน 10 กระบอก จากผู้ครอบครอง 10 คน ตกเป็นผู้ต้องหาในคดีนี้ ถ้าไม่มีการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ โอกาสที่คนร้ายจะถูกลงโทษจะมีน้อยมาก เพราะเหตุเกิดในเวลากลางคืน พยานบุคคลที่เห็นเหตุการณ์แทบจะไม่มี อย่างไรก็ตาม เมื่อมีการชันสูตรพลิกศพผู้เสียชีวิตแล้วได้ถูกกระสุนปืนที่ฝังอยู่ภายในศพ นำมาตรวจพิสูจน์เปรียบเทียบกับลูกกระสุน

ปิ่นที่ยังจากปิ่นผู้ต้องหาทั้ง 10 กระบอก โดยใช้กล้องจุลทรรศน์เปรียบเทียบ (Comparison Microscope) ก็จะ สามารถแยกแยะปิ่นกระบอกที่ไม่เกี่ยวข้องกับคดีออกไป ได้ และถ้ามีปิ่นกระบอกใดที่ใช้ก่อเหตุในคดีนี้ก็จะ สามารถตรวจพิสูจน์ยืนยันได้ ซึ่งพยานหลักฐานใน

ส่วนนี้จะมีประโยชน์ทั้งในการแยกผู้บริสุทธิ์ออกจากคดี และในขณะเดียวกันก็จะใช้ในการยืนยันการกระทำผิด ของผู้กระทำผิด

ตัวอย่างที่ 3 ในคดีเกี่ยวกับทรัพย์ ในสถานที่



รูปที่ 3 แสดงลูกกระสุนปืนแบบต่างๆ กล้องจุลทรรศน์เปรียบเทียบ และภาพถ่ายตำแหน่งเกิดลูกกระสุนปืน จากกล้องจุลทรรศน์เปรียบเทียบ

เกิดเหตุที่คนร้ายโจรกรรมทรัพย์สินไป และมีร่องรอย จดแหวหรือรอยคันต่างๆ เจ้าหน้าที่ตรวจสถานที่เกิดเหตุ ได้ตรวจเก็บลายนิ้วมือแฝงจากสถานที่เกิดเหตุ เมื่อ ทำการตรวจพิสูจน์โดยผู้ชำนาญการ เปรียบเทียบกับ ลายนิ้วมือของบุคคลใดแล้ว จะเป็นหลักฐานที่สำคัญ ในการยืนยันการกระทำผิดของบุคคลนั้น เพราะว่า ลายนิ้วมือ (Fingerprint) ของคนเราในโลกนี้แต่ละคน ไม่เหมือนกัน ซึ่ง เซอร์ ฟรานซิส กาลตัน (ทัศนะ, 2532) ได้ให้ความเห็นว่า โอกาสที่ลายนิ้วมือของสองคนจะมา เหมือนได้กันนั้น มีโอกาสน้อยมาก ถ้าคำนวณเป็น ตัวเลขแล้วจะได้น้อยกว่าพันล้าน นอกจากนี้ลายนิ้วมือ

ของคนเรายังไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้น จึงสามารถ ใช้เป็นหลักฐานในการยืนยันตัวบุคคลได้ โดยความเป็น เอกลักษณะของลายนิ้วมือดังกล่าวจะแสดงออกมาใน ลักษณะของลายเส้นคือเส้นนูนและเส้นร่อง โดยใน ลายเส้นนั้นก็จะมียูปร่างแบบต่างๆ กัน ตลอดจนจุด ลักษณะสำคัญพิเศษ (Minutia) เช่น เส้นแตก (Bifurcation) เส้นขาด (Ending suddenly) เส้นทะเลสาบ (Enclosure) เป็นต้น ก็แตกต่างกันออกไป ซึ่งแต่ละคน ก็จะได้รับ การถ่ายทอดมาจากพ่อและแม่ทางยีน เป็น ตัวควบคุมการเกิดลักษณะต่างๆ ดังกล่าว



รูปที่ 4 แสดงลายนิ้วมือและจุดลักษณะสำคัญพิเศษ (Minutia)

จากกรณีตัวอย่างทั้งสามตัวอย่างดังกล่าวจะเห็นว่า งานด้านนิติวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับการตรวจพิสูจน์พยานวัตถุ ได้ช่วยทำให้ข้อเท็จจริงในคดีความมีความกระจ่างชัดเจนยิ่งขึ้น และง่ายต่อการที่ผู้ใช้กฎหมายในกระบวนการยุติธรรมจะวิเคราะห์ พิจารณา หรือมีคำพิพากษาคัดสินคดีโดยปราศจากข้อสงสัย อันจะส่งผลต่อการอำนวยความยุติธรรมให้แก่คู่กรณี และผลสุดท้ายก็คือความสงบสุขของสังคมโดยรวมนั่นเอง

เอกสารอ้างอิง

ดิเรก ควรสมาคม. (2552). ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับกฎหมาย. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ : บริษัทสำนักพิมพ์วิญญูชน จำกัด. 237-255.

ทัศนะ สุวรรณจุฑะ. (2532). นิติเวชศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ห้างหุ้นส่วนจำกัด ภาพพิมพ์. 9-11.

ประมวลกฎหมายอาญา.

ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา.

เริงธรรม ลัดพลี. (2545). คำอธิบายกฎหมาย พยานหลักฐาน. กรุงเทพฯ : บริษัท สำนักพิมพ์วิญญูชน จำกัด. 1-16.

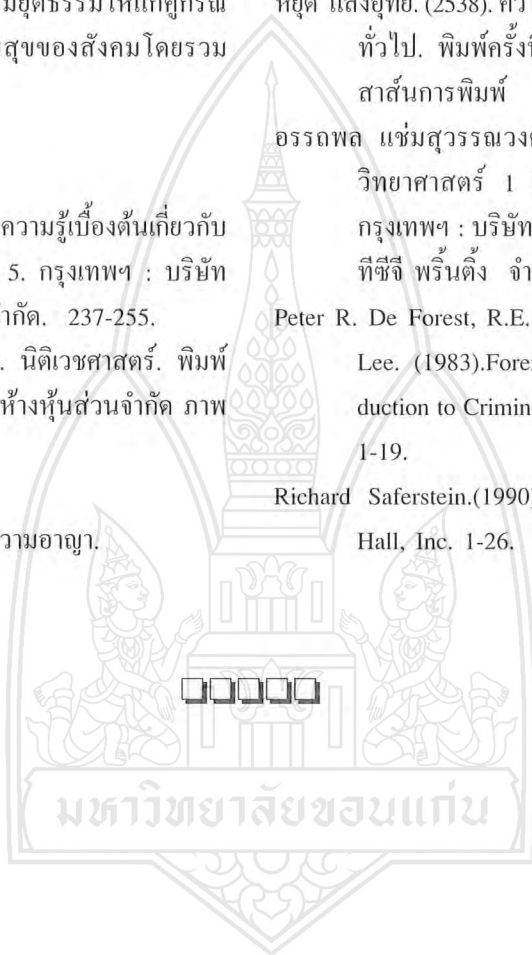
สำนักงาน ป.ป.ส. กระทรวงยุติธรรม. (2546). รวมกฎหมายยาเสพติด. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์คุรุสภา. 238-253.

หยุด แสงอุทัย. (2538). ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับกฎหมายทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 12. กรุงเทพฯ : รุ่งเรืองสาส์นการพิมพ์

อรรถพล แซ่มสุวรรณวงศ์, พล.ต.ท. (2544). นิติ-วิทยาศาสตร์ 1 เพื่อการสืบสวนสอบสวน. กรุงเทพฯ : บริษัท ดาวฤกษ์ จำกัด และ บริษัท ทีซีจี พรินต์ติ้ง จำกัด. 2-11.

Peter R. De Forest, R.E. Gaensslen, and Henry C. Lee. (1983). Forensic Science An Introduction to Criminalistics : McGraw-Hill, Inc. 1-19.

Richard Saferstein. (1990). Criminalistics. : Prentice Hall, Inc. 1-26.



มัธยmiddotมลอการิทมิ

Logarithmic Mean

จริยา สิงห์ดำ¹ และ สมใจ จิตพิทักษ์^{1*}

1. บทนำ สำหรับจำนวนจริงบวก a, b ใด ๆ มัธยmiddotมพื้นฐานที่สำคัญ ได้แก่ มัธยmiddotมเลขคณิต (arithmetic mean : $\bar{a}(a, b)$) มัธยmiddotมเรขาคณิต (geometric mean : $\bar{g}(a, b)$) และมัธยmiddotมฮาร์โมนิก (harmonic mean : $\bar{h}(a, b)$) นิยามตามลำดับดังนี้

$$\bar{a}(a, b) = \frac{a+b}{2}, \quad \bar{g}(a, b) = \sqrt{ab}, \quad \bar{h}(a, b) = \frac{2}{\frac{1}{a} + \frac{1}{b}} = \frac{2ab}{a+b}$$

และเมื่อ $a \neq b$ มัธยmiddotมลอการิทมิ (logarithmic mean : $\bar{l}(a, b)$) นิยามดังนี้

$$\bar{l}(a, b) = \frac{b-a}{\ln b - \ln a} = \frac{b-a}{\ln \frac{b}{a}}$$

ความสัมพันธ์ระหว่างมัธยmiddotมข้างต้นคือ เมื่อ $0 < a < b$

$$a < \bar{h}(a, b) < \bar{g}(a, b) < \bar{l}(a, b) < \bar{a}(a, b) < b \quad (1)$$

การพิสูจน์สมการ

$$a < \bar{h}(a, b) < \bar{g}(a, b) < \bar{a}(a, b) < b \quad (2)$$

สามารถทำได้โดยง่ายดังนี้ จาก $0 < a < b$ จะได้ $0 < a^2 + ab < 2ab$ ดังนั้น

$$a < \frac{2ab}{a+b} = \bar{h}(a, b) \quad (3)$$

จาก $x^2 > 0$ ทุก $x \neq 0$ จะได้ $(\sqrt{a} - \sqrt{b})^2 > 0$ ดังนั้น

$$\bar{g}(a, b) = \sqrt{ab} < \frac{a+b}{2} = \bar{a}(a, b) < b \quad (4)$$

จาก (4) เมื่อหารตลอดด้วย $ab \neq 0$ จะได้

$$\frac{1}{\sqrt{ab}} < \frac{\frac{1}{b} + \frac{1}{a}}{2}$$

นั่นคือ

$$\bar{h}(a, b) = \frac{2}{\frac{1}{a} + \frac{1}{b}} < \sqrt{ab} = \bar{g}(a, b) \quad (5)$$

¹ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ หมู่ 4 ต.เขารูปช้าง อ.เมือง จ.สงขลา 90000

* Corresponding author, E-mail: somjai@tsu.ac.th.

จาก (3), (4) และ (5) จะได้ (2)

บทความนี้จะพิสูจน์สมการที่เหลือคือ

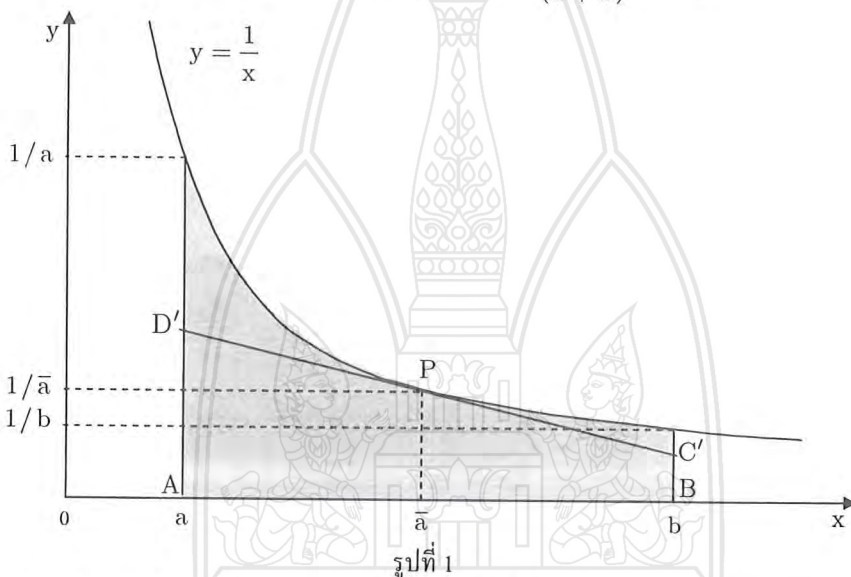
$$\bar{g}(a, b) < \bar{l}(a, b) < \bar{a}(a, b) \quad (6)$$

โดยวิธีเรขาคณิตและวิธีวิเคราะห์ แนวคิดสำคัญได้จาก [3]

2. ความรู้พื้นฐาน การพิสูจน์สมการ (6) โดยวิธีเรขาคณิตอาศัยบทตั้งต่อไปนี้

บทตั้ง 2.1 ให้ $0 < a < b$ และ $f(x) = 1/x$ เป็นฟังก์ชันบน $[a, b]$ ให้ $\bar{a} = (a + b)/2$ ถ้า $P(\bar{a}, f(\bar{a}))$ เป็นจุดบนเส้นโค้ง $y = 1/x$ และ $D'C'$ เป็นเส้นสัมผัสเส้นโค้ง y ที่จุด P แล้ว

$$\text{พ.ท.} \square ABC'D' = f(\bar{a})(b - a) = \left(\frac{2}{a + b} \right)(b - a)$$



รูปที่ 1

การพิสูจน์ ให้ m เป็นความชันของเส้นตรง $D'C'$ ซึ่งผ่านจุด $P(\bar{a}, f(\bar{a}))$ จะได้สมการของเส้นตรง $D'C'$ คือ

$$y - f(\bar{a}) = m(x - \bar{a})$$

หรือ

$$y = f(\bar{a}) + m(x - \bar{a})$$

ถ้าพิกัดของจุด C' และ D' คือ $(x_{C'}, y_{C'})$ และ $(x_{D'}, y_{D'})$ ตามลำดับ แล้ว

$$x_{C'} = b, \quad y_{C'} = f(\bar{a}) + m(b - \bar{a})$$

และ

$$x_{D'} = a, \quad y_{D'} = f(\bar{a}) + m(a - \bar{a})$$

เนื่องจากสี่เหลี่ยม $ABC'D'$ เป็นสี่เหลี่ยมคางหมู ดังนั้นจากสูตรของพื้นที่สี่เหลี่ยมคางหมูจะได้

$$\text{พ.ท.} \square ABC'D' = \frac{1}{2}(b-a)(y_{C'} + y_{D'}) \quad (7)$$

แต่

$$y_{C'} + y_{D'} = 2f(\bar{a}) + m(b+a-2\bar{a})$$

เนื่องจาก $\bar{a} = (a+b)/2$ จะได้ $b+a-2\bar{a} = 0$ ดังนั้น

$$y_{C'} + y_{D'} = 2f(\bar{a}) = \frac{4}{a+b} \quad (8)$$

ดังนั้น จาก (7) และ (8) จะได้

$$\text{พ.ท.} \square ABC'D' = f(\bar{a})(b-a) = \left(\frac{2}{a+b}\right)(b-a) \quad \square$$

การพิสูจน์อสมการ (6) โดยวิธีวิเคราะห์ อาศัยอสมการมัชฌิมเลขคณิต-เรขาคณิต (AM – GM inequality)

$$\sqrt[n]{a_1 a_2 \dots a_n} \leq \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n} \quad (9)$$

เมื่อ $a_1, a_2, \dots, a_n$ เป็นจำนวนจริงบวก (การพิสูจน์ดู [2]) และบทตั้ง 2.2 ซึ่งการพิสูจน์อาศัยความรู้จากแคลคูลัสพื้นฐานคือ ถ้า u เป็นฟังก์ชันที่หาอนุพันธ์ของ x และ $y = a^u$ แล้ว

$$\frac{dy}{dx} = \frac{d}{dx}[a^u] = (\ln a) a^u \frac{du}{dx}$$

บทตั้ง 2.2 ถ้า $0 < a < b$ ให้ $r = b/a > 1$ และ $f(x) = x[r^{1/x} - 1]$ แล้ว

$$\lim_{x \rightarrow \infty} f(x) = \ln r = \ln(b/a)$$

การพิสูจน์ เขียน $f(x)$ ใหม่ในรูป

$$f(x) = \frac{r^{1/x} - 1}{1/x} = \frac{g(x)}{h(x)}$$

โดยที่ $g(x) = r^{1/x} - 1$ และ $h(x) = 1/x$ จะได้

$$\lim_{x \rightarrow \infty} g(x) = 0 \quad \text{และ} \quad \lim_{x \rightarrow \infty} h(x) = 0$$

โดยกฎโลปีตาล จะได้

$$\begin{aligned} \lim_{x \rightarrow \infty} f(x) &= \lim_{x \rightarrow \infty} \frac{g(x)}{h(x)} = \lim_{x \rightarrow \infty} \frac{g'(x)}{h'(x)} \\ &= \lim_{x \rightarrow \infty} \frac{(\ln r) r^{1/x} \left(-1/x^2\right)}{-1/x^2} = \ln r = \ln \frac{b}{a} \end{aligned} \quad \square$$

บทตั้ง 2.3 ให้ $x \geq 0$ จะได้ $\tanh x \leq x$

การพิสูจน์ กรณี $x = 0$ จะได้

$$\tanh x = \tanh 0 = \frac{e^0 - e^{-0}}{e^0 + e^{-0}} = 0 = x$$

กรณี $x > 0$ จาก

$$e^x = 1 + x + \frac{x^2}{2!} + \frac{x^3}{3!} + \dots \quad \text{และ} \quad e^{-x} = 1 - x + \frac{x^2}{2!} - \frac{x^3}{3!} + \dots$$

จะได้

$$\begin{aligned} e^x - e^{-x} &= 2x + \frac{2x^3}{3!} + \frac{2x^5}{5!} + \dots = 2x \left(1 + \frac{x^2}{3!} + \frac{x^4}{5!} + \dots \right) \\ &< 2x \left(1 + \frac{x^2}{2!} + \frac{x^4}{4!} + \dots \right) \end{aligned}$$

และ

$$e^x + e^{-x} = 2 + \frac{2x^2}{2!} + \frac{2x^4}{4!} + \dots = 2 \left(1 + \frac{x^2}{2!} + \frac{x^4}{4!} + \dots \right)$$

ดังนั้น

$$\tanh x = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}} < x$$

□

3. ผลลัพธ์หลัก ทฤษฎีต่อไปนี้เป็นทฤษฎีบท (6) ที่กล่าวถึงในบทนำ

ทฤษฎีบท ให้ a, b เป็นจำนวนจริงบวกที่ $a < b$ จะได้

$$\sqrt{ab} < \frac{b-a}{\ln(b/a)} < \frac{a+b}{2}$$

การพิสูจน์ (I) วิธีเรขาคณิต

พิจารณาพื้นที่แรเงาภายใต้เส้นโค้ง $y = 1/x$ เหนือแกน x ระหว่างเส้นตรง $x = a$ และ $x = b$ ของฟังก์ชัน $f(x) = 1/x$ ซึ่งต่อเนื่องบนช่วง $[a, b]$ โดยที่ $0 < a < b$ ดังรูปที่ 2

พิจารณาพื้นที่สี่เหลี่ยมคางหมู ABCD ให้ $A = (a, 0)$ และ $B = (b, 0)$ เป็นจุดบนแกน x ให้ C และ D เป็นจุดบนเส้นโค้งที่มีพิกัดคือ $(b, 1/b)$ และ $(a, 1/a)$ ตามลำดับ เห็นได้ชัดว่าพื้นที่สี่เหลี่ยมคางหมู ABCD มากกว่าพื้นที่ภายใต้เส้นโค้ง $y = 1/x$ ที่แรเงา นั่นคือ

$$\text{พ.ท.} \square ABCD > \int_a^b \frac{1}{x} dx = \ln b - \ln a = \ln \frac{b}{a} \quad (10)$$

(II) โดย วิธีวิเคราะห์

ให้ $0 < a < b$ ให้ $r = b/a$ พิจารณาลำดับของจำนวนจริงบวก

$$a, ar^{\frac{1}{n}}, ar^{\frac{2}{n}}, \dots, ar^{\frac{n-1}{n}}, \quad n \in \mathbb{N}$$

จากอสมการมัธยิมเลขคณิต-เรขาคณิต จะได้

$$GM = \sqrt[n]{a \left(ar^{\frac{1}{n}} \right) \dots \left(ar^{\frac{n-1}{n}} \right)} < \frac{a + ar^{\frac{1}{n}} + \dots + ar^{\frac{n-1}{n}}}{n} = AM$$

แต่

$$GM = \left(a^n \cdot r^{\frac{1}{n} + \dots + \frac{n-1}{n}} \right)^{1/n} = ar^{\frac{n-1}{2n}}$$

และ

$$AM = \frac{a}{n} \left(\frac{1-r}{1-r^{1/n}} \right) = \frac{a}{n} \left(\frac{r-1}{r^{1/n}-1} \right)$$

ดังนั้น

$$ar^{\frac{n-1}{2n}} < \frac{a}{n} \left(\frac{r-1}{r^{1/n}-1} \right)$$

หรือ

$$r^{\frac{n-1}{2n}} < (r-1) \frac{1}{n(r^{1/n}-1)}$$

โดยสมบัติคงรูปอันดับในการหาขีดจำกัดและบทตั้ง 2.2 จะได้

$$\lim_{n \rightarrow \infty} r^{\frac{n-1}{2n}} < (r-1) \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n(r^{1/n}-1)}$$

นั่นคือ

$$r^{1/2} < (r-1) \frac{1}{\ln r}$$

ซึ่งจะได้

$$\sqrt{\frac{b}{a}} < \frac{b-a}{a} \cdot \frac{1}{\ln(b/a)}$$

หรือ

$$\sqrt{ab} < \frac{b-a}{\ln(b/a)}$$

นั่นคือ

$$\bar{g}(a, b) < \bar{l}(a, b)$$

(14)

จากอสมการ $\tanh x < x$ เมื่อ $x > 0$ แทน x ด้วย $\ln \sqrt{b/a}$ จะได้

$$\tanh\left(\ln\sqrt{\frac{b}{a}}\right) = \frac{e^{\ln\sqrt{\frac{b}{a}}} - e^{-\ln\sqrt{\frac{b}{a}}}}{e^{\ln\sqrt{\frac{b}{a}}} + e^{-\ln\sqrt{\frac{b}{a}}}} = \frac{\sqrt{\frac{b}{a}} - \sqrt{\frac{a}{b}}}{\sqrt{\frac{b}{a}} + \sqrt{\frac{a}{b}}} = \frac{b-a}{b+a} < \frac{1}{2}\ln\left(\frac{b}{a}\right)$$

หรือ

$$\frac{b-a}{\ln\frac{b}{a}} < \frac{a+b}{2}$$

ซึ่งจะได้

$$\bar{l}(a, b) < \bar{a}(a, b) \tag{15}$$

จาก (14) และ (15) จะได้ (6)

$$\bar{g}(a, b) < \bar{l}(a, b) < \bar{a}(a, b) \quad \square$$

4. กิตติกรรมประกาศ ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่บรรณาธิการเชิญเป็นผู้กลั่นกรอง ประเมินบทความและให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไข ขอขอบคุณภาควิชาคณิตศาสตร์ที่เอื้อเฟื้ออุปการะ และสิ่งอำนวยความสะดวกในการเตรียมบทความ

5. เอกสารอ้างอิง

- พุทธินันท์ รัตคาม และ สมใจ จิตพิทักษ์. (2549). “ฟังก์ชันคอนเวกซ์ อสมการเจนเสน และการประยุกต์,” วารสารวิทยาศาสตร์ทักษิณ. 3(2): 1-12.
- ศิริกัญญา กิตติวุฒิ และสมใจ จิตพิทักษ์. (2549). “อสมการมัชฌิมเลขคณิต-เรขาคณิต: การพิสูจน์ทวิวิธี,” วารสารวิทยาศาสตร์ทักษิณ. 3(1): 1-10.
- Bruce, Ian. (1997). “Logarithmic mean,” The Mathematical Gazette. 81: 89-92.

อาหารธรรมชาติของปูนา *Esanthelphusa dugasti*

Rathbun, 1902 ในฤดูฝน

Natural Diet of the Rice-Field Crab, *Esanthelphusa Dugasti*

Rathbun, 1902 in Rainy Season

นพคุณ ภักดิ์เมธรงค์^{1*} ปิยะเนตร จันทร์ธีระติกุล² และอาณัติ จันทร์ธีระติกุล³

บทคัดย่อ

ในการวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอาหารธรรมชาติที่ปูนากินในกระเพาะอาหาร และความสัมพันธ์ของการเจริญกับระบบนิเวศของปูนาชนิด *Esanthelphusa dugasti* ในเขตพื้นที่ ด.ศรีสมเด็จ อ.ศรีสมเด็จ จ.ร้อยเอ็ด โดยทำการเก็บตัวอย่างปูนาจาก 5 แหล่ง ในช่วงฤดูฝนเป็นเวลา 5 เดือน (มิถุนายน - ตุลาคม พ.ศ. 2550) แต่ละเดือนเก็บตัวอย่างปูอย่างน้อยจำนวน 30 ตัว จำแนกเพศ วัดขนาดความยาวของแผ่นกระดอง (Carapace Length, CL) ความกว้างของแผ่นกระดอง (Carapace Width, CW) ชั่งน้ำหนักตัว (wet Body Weight, BW) และชั่งน้ำหนักของกระเพาะอาหาร (Stomach Weight, SW) แยกอาหารออกจากกระเพาะอาหาร และทำการจำแนกชนิดของอาหารภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereoscopic microscope) ผลการศึกษาพบว่า ชนิดของอาหารที่ปูนากินมีความสัมพันธ์กับระบบนิเวศ ชนิดของอาหารที่พบ ได้แก่ หญ้า ฟางข้าว เปลือกหอย มดแดง ปีกแมลง เมล็ดพืช เกล็ดปลา ลูกปูนาและพบอาหารที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด สัดส่วนของการพบและไม่พบอาหารในกระเพาะลดลงจากเดือนมิถุนายนถึงตุลาคมและพบว่า ความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตปูนาเพศผู้และเพศเมียได้สมการดังนี้ $BW = 0.0008CL^{2.9447}$ และ $BW = 0.0012CL^{2.8343}$ ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Abstract

The aims of this study were to determine the diets in stomach content, the habitat and a relative growth of the rice-field crab, *Esanthelphusa dugasti* in Srisomdej Sub District, Srisomdej District, Roi-et Province. At least thirty samples were collected from five parts of the selective area, for 5 months during rainy season (June-October 2007). The crabs were identified to male or female. The Carapace Length (CL), Carapace Width (CW), wet Body Weight (BW) and Stomach Weight or Stomach Content (SW) were examined and the contents in their stomachs were considered under stereoscopic microscope. The relative growth was assessed from relationship between carapace lengths (CL), wet Body Weight (BW). Furthermore,

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ด.ขามเรียง อ.เมือง จ.มหาสารคาม 44000

² ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ด.ขามเรียง อ.เมือง จ.มหาสารคาม 44000

³ โครงการจัดตั้งคณะสัตวแพทยศาสตร์และสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ด.ขามเรียง อ.เมือง จ.มหาสารคาม 44000

* Corresponding author, E-mail: noppakun241@yahoo.com

then was the relationship between the diets and the habitat. The dietary composition were grass, rice straw, shell fragment of a snail, ant, insect's wing, seeds, scale of small fish, juvenile crabs and 2 unknown diets. The opportunistic of finding diets in the stomachs declined from June to October. The results showed that the relative growth of male and female crabs were $BW = 0.0008CL^{2.9447}$ and $BW = 0.0012CL^{2.8343}$, respectively.

บทนำ

ปูนาชนิด *Esanthelphusa dugasti* ในประเทศไทย มีการแพร่กระจายใน 40 จังหวัดทั่วประเทศ โดยพบในภาคอีสาน 16 จังหวัด (สมพงษ์ และคณะ, 2542) เป็นปูน้ำจืดที่มีบทบาทหลายอย่างในระบบนิเวศ เช่น ทำหน้าที่ในการย่อยสลายโดยกินสารอินทรีย์ รวมไปถึงพืชและสัตว์ที่ตายแล้วที่อยู่ในดิน เป็นผู้ล่าสำหรับสัตว์ที่มีขนาดเล็ก ๆ เช่น ไรน้ำ ลูกน้ำ กุ้ง และลูกปลาขนาดเล็ก เป็นต้น (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, 2548) ผลผลิตปูนาทั้งหมดในปัจจุบันได้มาจากการจับหรือรวบรวมของเกษตรกร ชาวบ้าน และชาวประมงที่หาปลา โดยจับปูนาจากแหล่งน้ำทั่วไป นอกจากนี้ยังได้จากนาข้าว และบ่อปลาในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ผลผลิตที่ได้ทั้งหมดจะถูกนำไปเป็นอาหาร ทำให้ประชากรปูนาในแหล่งน้ำธรรมชาติในภาคตะวันออกเฉียงเหนือลดลงอย่างรวดเร็ว มีการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยาของปูนาทางด้านอายุ และการเจริญเติบโตของปูนา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงปูนาเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงสัตว์อื่นที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (อดิศักดิ์, 2545) แต่ข้อมูลด้านอาหารของปูชนิดนี้ยังไม่ได้มีการศึกษาอย่างชัดเจน ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษานิสัยของอาหารที่ปูนาในธรรมชาติเพื่อเป็นข้อมูลในการเพาะเลี้ยงปูนาในอนาคต โดยมีวัตถุประสงค์ของงานวิจัย คือ ศึกษาอาหารธรรมชาติที่ปูนากินในกระเพาะอาหารและความสัมพันธ์ของการเจริญกับระบบนิเวศของปูนาชนิด *Esanthelphusa dugasti* ในเขตพื้นที่ ต.ศรีสมเด็จ อ.ศรีสมเด็จ จ.ร้อยเอ็ด เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานและเป็นแนวทางในการจัดการต่างๆ เช่น การเพาะเลี้ยง การขยายพันธุ์ การอนุรักษ์พันธุ์ปูนาในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวมถึงการได้ข้อมูลในการเลือกชนิดของอาหารปูนาเพื่อทำการเพาะเลี้ยงให้เป็นสัตว์เศรษฐกิจ และนำมาซึ่งการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรในอนาคต

วิธีดำเนินงาน

การกำหนดพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง โดยสถานที่ที่ดำเนินการเก็บตัวอย่างนั้นเป็นพื้นที่ต.ศรีสมเด็จ อ.ศรีสมเด็จ จ.ร้อยเอ็ด ซึ่งมีทั้งหมด 13 หมู่บ้าน แบ่งออกเป็นเขตเก็บตัวอย่างได้ทั้งหมด 5 เขต ได้แก่

1. เขตที่ 1 บ้านหนองสองห้อง หมู่ที่ 2 และบ้านหนองเม็ก หมู่ที่ 8
2. เขตที่ 2 บ้านโคกข่า หมู่ที่ 5 และบ้านหนองโก หมู่ที่ 6
3. เขตที่ 3 ชุมชนบ้านเหล่าล้อ หมู่ที่ 1, 4, 7
4. เขตที่ 4 บ้านหนองสะแบง หมู่ที่ 9
5. เขตที่ 5 เขตตัวอำเภอสรีสมเด็จ

การเก็บตัวอย่างทำโดยเก็บตัวอย่างด้วยมือ (Hand Collecting) และการขุด โดยทำการค้นหาปูนาที่อยู่ในรูที่อยู่ตามพื้นดิน เก็บภาพถ่ายของพื้นที่เก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งบันทึกลักษณะของระบบนิเวศของพื้นที่นั้นๆ ด้วย เช่น ลักษณะของพื้นที่ แหล่งน้ำ หรือสิ่งต่างๆ ที่พบตามพื้นดิน รวมไปถึงค่าปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของปูนา เช่น อุณหภูมิ ความชื้นของดิน และปริมาณน้ำฝน เป็นต้น เก็บตัวอย่างในเขตพื้นที่ที่กำหนดไว้ โดยเก็บครั้งละอย่างน้อย 30 ตัวเป็นเวลา 5 เดือน คือ เดือนมิถุนายน กรกฎาคม สิงหาคม กันยายน และตุลาคม 2550 โดยเก็บทุกวันที่ 16 ของเดือน ในช่วงเวลา 07.00 น.- 09.00 น. จากนั้นนำปูที่เก็บมาทำความสะอาด โดยการล้างเศษดินที่ติดมากับตัวปูออก และนำมารักษาสภาพโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอทำการเก็บข้อมูลต่างๆ ต่อไป

การศึกษาและเก็บข้อมูลในห้องปฏิบัติการ

ทำการชั่งน้ำหนักตัว (Wet Body Weight, BW) น้ำหนักตัวที่ชั่งเป็นน้ำหนักสด เริ่มจากทำความสะอาดปู

โดยการล้างในน้ำสะอาด จากนั้นนำไปชั่งกับเครื่องชั่งแบบละเอียดและทำการบันทึกข้อมูล วัดความยาวของกระดอง (Carapace Length, CL) โดยใช้เวอร์เนียร์แคลิเปอร์ (Vernier Caliper) ซึ่งมีค่าที่ละเอียดที่สุดที่สามารถอ่านได้จากเครื่องมือ (Least Count) เท่ากับ 0.05 mm จำแนกอาหารภายในกระเพาะอาหารของปูโดยใช้หลักการของ de Lestang et al. (2000) และทำการแยกกระเพาะอาหารปูส่วน Cardiac Stomach ออกจากส่วนลำตัวของปู จากนั้นทำการแยกอาหารภายในกระเพาะอาหารไปตรวจดูภายใต้กล้องผ่าตัดและกล้องจุลทรรศน์ ทำการจำแนกชนิดของอาหารจากการสังเกตด้วยสายตา ตัวอย่างของอาหารบางชนิดที่ตรวจพบและนำไปบันทึกภาพใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ Olympus รุ่น SZH 10 หาสัดส่วนของอาหารแต่ละชนิดที่พบในกระเพาะอาหารของปูนา ซึ่งน้ำหนักของกระเพาะอาหารที่มีอาหารที่ปูกิน (Stomach Weight, Stomach Content, SW) บันทึกผล

วิเคราะห์ลักษณะของระบบนิเวศของพื้นที่เก็บตัวอย่าง

สร้างแบบจำลอง โดยใช้วิธีการสร้างแบบจำลองด้วยการบรรยาย (Word Model) เป็นการอธิบายระบบต่างๆ ของสภาพแวดล้อมในเขตพื้นที่นั้นๆ ด้วยการบรรยายเป็นถ้อยคำ (จิราภรณ์, 2537)

ผลการศึกษา

การศึกษาระบบนิเวศของปูนา พบว่า ปูนาชอบขุดรูอาศัยอยู่ตามทุ่งนา คันนา บริเวณชายคลอง

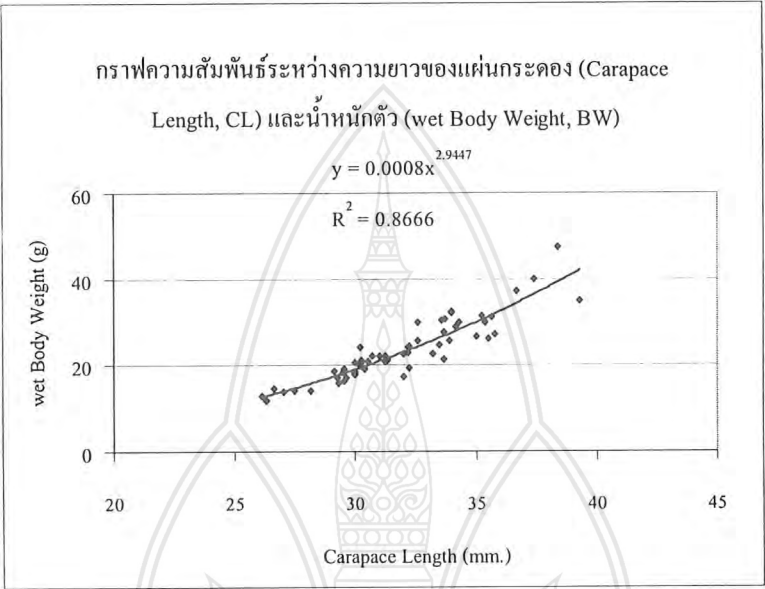
คันคู และคันคลองชลประทานต่างๆ โดยมีแหล่งอาหารและแหล่งน้ำเป็นปัจจัยหลัก ลักษณะและตำแหน่งของรูปูนาแตกต่างกันตามสภาพของพื้นที่ ปริมาณน้ำฝน น้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิต ปูจึงขุดรูในบริเวณที่น้ำท่วมไม่ถึง ปูนาในเขตพื้นที่ ต.ศรีสมเด็จ อ.ศรีสมเด็จ จ.ร้อยเอ็ด มักพบในพื้นที่ลุ่มเป็นส่วนใหญ่ โดยขุดรูอาศัยตามคันนา คันลำห้วย ในบริเวณที่ดินค่อนข้างชื้นแต่น้ำท่วมไม่ถึง ดังนั้น จึงพบปูจำนวนมากในพื้นที่มีแหล่งน้ำ หรือพื้นที่ใกล้แหล่งน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะของดินในพื้นที่ที่ศึกษามีลักษณะเป็นดินร่วนปนทราย อีกทั้งมีความชื้นในดินซึ่งทำให้เหมาะแก่การขุดรูอยู่อาศัยของปูนา โดยปูนามักอาศัยอยู่รูละ 1 ตัว มีบ้างที่พบว่ามี 2 ตัวใน 1 รู ในกรณีที่เกิดฝนตก น้ำท่วมคันนา ปูนาไม่สามารถอยู่ในรูได้ และออกจากรู ในเดือนสิงหาคมของการเก็บตัวอย่างในการวิจัยครั้งนี้ เป็นผลทำให้ไม่สามารถเก็บตัวอย่างปูนาได้เลย ในช่วงที่เกิดฝนตก เกิดอุทกภัย น้ำท่วมคันนา ปูนาจะไม่อยู่ในรู แต่หลบอาศัย เกาะอยู่ตามกอหญ้าริมน้ำ โดยใช้ก้ามเกาะดินหญ้าพุงตัวลอยอยู่ในน้ำ จากการศึกษาพบว่า ปูนาในเขตพื้นที่ ต.ศรีสมเด็จ อ.ศรีสมเด็จ จ.ร้อยเอ็ด เป็นปูนาชนิด *Esantheiphusa dugasti* ในงานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างปูนาทั้งหมด 145 ตัว เป็นปูเพศผู้ จำนวน 59 ตัว และปูเพศเมีย จำนวน 86 ตัว ขนาดความยาวของแผ่นกระดอง ขนาดความกว้างของแผ่นกระดองน้ำหนักตัวของปูนาเพศผู้และเพศเมียแสดงในตารางที่ 1 และหาความสัมพันธ์ของการเจริญทั้งในเพศผู้ แสดงในรูปที่ 1 และเพศเมีย แสดงในรูปที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวของแผ่นกระดอง ความกว้างของแผ่นกระดอง น้ำหนักตัวและน้ำหนักกระเพาะของปูนาเพศผู้และเพศเมีย

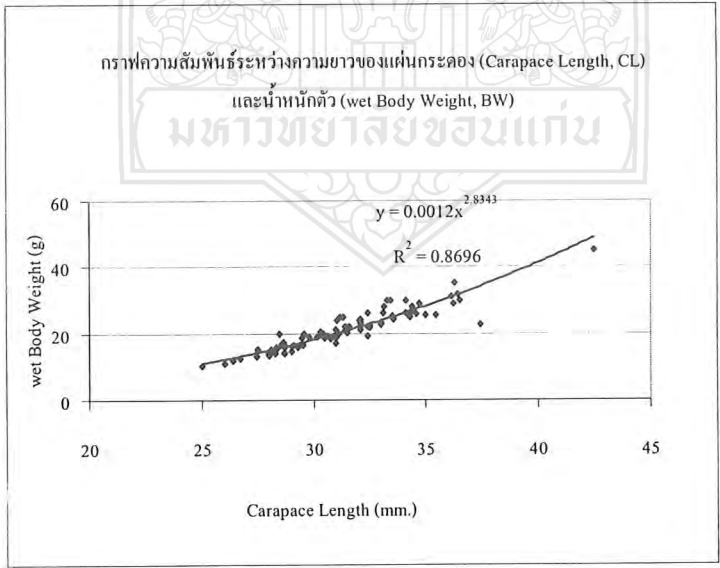
	ความยาวของแผ่นกระดอง (มม.) ± SEM	ความกว้างของแผ่นกระดอง (มม.) ± SEM	น้ำหนักตัว (กรัม) ± SEM	น้ำหนักกระเพาะที่มีอาหาร ที่ปูกิน (กรัม) ± SEM
เพศผู้	31.88 ± 2.93	40.61 ± 3.70	23.40 ± 6.99	0.16 ± 0.06
เพศเมีย	31.40 ± 2.95	40.47 ± 3.93	21.35 ± 5.99	0.16 ± 0.07

พบว่า ความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตทั้งเพศผู้และเพศเมียเป็นความสัมพันธ์แบบ positive allometric growth โดยเพศผู้มีความสัมพันธ์คือ $BW = 0.0008CL^{2.9447}$ ดังแสดงในรูปที่ 1 และเพศ

เมียมีความสัมพันธ์คือ $BW = 0.0012CL^{2.8343}$ ดังแสดงในรูปที่ 2 เมื่อ BW = น้ำหนักตัว (wet Body Weight) และ CL = ความยาวของแผ่นกระดอง (Carapace Length)



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ของการเจริญแบบ positive allometric growth ของปูนาเพศผู้

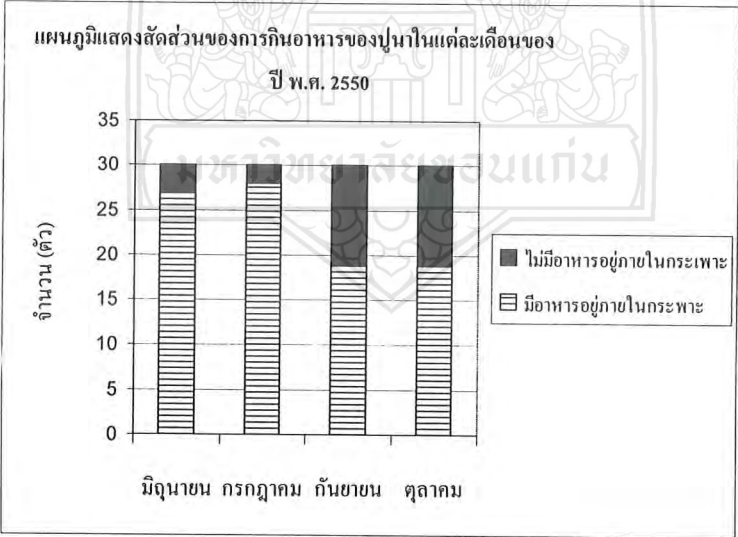


รูปที่ 2 ความสัมพันธ์การเจริญแบบ positive allometric growth ของปูนาเพศเมีย

อาหารของปูนาในเขตพื้นที่ ต.ศรีสมเด็จ อ.ศรีสมเด็จ จ.ร้อยเอ็ด ในแต่ละเดือน พบว่า มีตัวอย่างอาหารที่สามารถจำแนกได้ทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ หอย ฟางข้าว เปลือกหอย มดแดง ปีกแมลง เมล็ดพืช เกล็ดปลา และตัวอ่อนของปูนา โดยมีตัวอย่างที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้อีก 2 ชนิด คือ Unknown 1 และ Unknown 2 แสดงในตารางที่ 2 สัดส่วนของการพบและไม่พบอาหารในกระเพาะอาหารปูนาตั้งแต่มีถุนายนถึงตุลาคม แสดงในรูปที่ 3

ตารางที่ 2 ความถี่ของชนิดอาหารที่พบในกระเพาะอาหารของปูนาเดือนมีถุนายนถึงตุลาคม 2550

ชนิดของอาหาร	จำนวนปูที่พบอาหารในกระเพาะอาหาร (ตัว)			
	มีถุนายน	กรกฎาคม	กันยายน	ตุลาคม
1. หอย	19	16	15	18
2. ฟางข้าว	12	1	3	-
3. เปลือกหอย	10	4	7	1
4. มดแดง	9	8	3	2
5. ปีกแมลง	3	-	1	1
6. เมล็ดพืช	-	1	-	-
7. เกล็ดปลา	1	-	-	-
8. ตัวอ่อนปูนา	-	5	-	-
9. Unknown 1	-	-	1	-
10. Unknown 2	-	-	-	1



รูปที่ 3 สัดส่วนของปูนาที่มีและไม่มีอาหารในกระเพาะอาหารตั้งแต่เดือนมีถุนายน กรกฎาคม กันยายนและตุลาคม พ.ศ. 2550 (หมายเหตุ: เดือนสิงหาคมไม่สามารถเก็บตัวอย่างเนื่องจากน้ำท่วมพื้นที่ศึกษา)

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การเจริญเติบโตของปูนาเพศผู้และเพศเมียเป็นแบบอัลโลเมตริก เช่นเดียวกับปูทะเล *Uca bergersi* ในบราซิล (Benetti and Negreiros-Fransozo, 2004) และงานวิจัยยังพบว่า ระบบนิเวศและฤดูกาลเป็นตัวกำหนดความถี่ในการพบอาหารในกระเพาะปูนา ในระบบนิเวศที่ศึกษาปูนามีบทบาทเป็นผู้บริโภคประเภทผู้ล่า (predator) จากการศึกษาชนิดอาหารที่พบเรียงตามลำดับความถี่ได้ดังนี้ คือ หญ้า ฟางข้าว หอย แมลง ปลา และแมกเกอร์ทั้งตัวอ่อนปูนา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยว่า ปูนากินพืชที่มีลำต้นอ่อน เช่น ต้นข้าว หญ้า และวัชพืชต่างๆ ส่วนสัตว์ที่เป็นอาหารของปูนา ได้แก่ ไรน้ำ ลูกน้ำ กุ้งฝอย ลูกหอย ปลาขนาดเล็ก และตัวอ่อนของแมลงที่เจริญภายในน้ำ รวมทั้งปูด้วยกันที่มีขนาดเล็ก หรือที่กำลังลอกคราบ (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, 2548) ซึ่งอาหารเหล่านี้สามารถพบได้ทั่วไปในพื้นที่เก็บตัวอย่าง แต่ในช่วงที่มีความแห้งแล้งเช่นเดือนกันยายนและตุลาคม พบตัวอ่อนปูนาในกระเพาะ แสดงถึงการลดลงของแหล่งอาหารปูจึงกินลูกปูตนเอง และคาดว่าในเดือนถัดไปจนถึงพฤษภาคมของปีถัดไป ความถี่ของการพบอาหารในกระเพาะปูลดลงตามลำดับ

เนื่องจากลักษณะระบบนิเวศที่ปูนาเลือกอยู่อาศัยซึ่งต้องมีแหล่งน้ำและแหล่งอาหารเป็นปัจจัยหลักต่อขนาดของปู (Benetti and Negreiros-Fransozo, 2004) จากงานวิจัยนี้ พบว่าในพื้นที่ ด.ศรีสมเด็จ อ.ศรีสมเด็จ จ.ร้อยเอ็ด ซึ่งได้แบ่งออกเป็นพื้นที่เก็บตัวอย่างทั้งหมด 5 เขตนั้น พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นดินร่วนปนทราย อุ้มน้ำได้ไม่ดีและน้ำก็เป็นปัจจัยสำคัญต่อการดำรงชีวิตของปู พบว่า ระบบนิเวศที่ปูนาอยู่อาศัยสามารถแบ่งเป็น 2 แบบใหญ่ๆ ตามลักษณะการมีและไม่มีแหล่งน้ำในพื้นที่ ในเดือนสิงหาคมไม่สามารถเก็บตัวอย่างปูนาได้เนื่องจากมีปริมาณน้ำฝนมากทำให้เกิดน้ำท่วมในพื้นที่ ต่อมาเดือนกันยายนจนถึงตุลาคมความถี่ของปูที่ไม่มีอาหารในกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้น

ดังนั้น อาหารในกระเพาะอาจจึงแตกต่างกันตามลักษณะการอาศัยของปูนา กล่าวคือ ถ้าปูนาอยู่ในเขตที่เป็นพื้นที่ลุ่มแต่ไม่มีแหล่งน้ำ อาหารของปูนา คือ หญ้า วัชพืชต่างๆ รวมทั้งตอฟางข้าว ส่วนตัวอย่างอาหารจำพวกเกล็ดปลา หรือเปลือกหอยพบน้อย เปรียบเทียบกับปูนาที่อยู่ในเขตพื้นที่ที่มีแหล่งน้ำ เช่น พื้นที่เก็บตัวอย่างที่ 1 พื้นที่หมู่บ้านหนองสองห้องหมู่ที่ 2 และหมู่บ้านหนองเม็กหมู่ที่ 8 อาหารที่พบ คือ เกล็ดปลา และเปลือกหอย

หญ้าเป็นชนิดของอาหารที่พบซึ่งเป็นประชากรส่วนใหญ่ในแหล่งที่ศึกษา และรองลงมา คือ ต้นข้าว หรือฟางข้าวเป็นอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีเยื่อใยมาก กระเพาะอาหารของปูมีลักษณะผนังพับไปมา (Setae) เหมาะกับการย่อยอาหารชิ้นใหญ่ (Woods, 1995) เป็นของแข็ง บ่งบอกถึงการมีเอนไซม์ เซลลูเลสมาก นอกจากนี้ชนิดของอาหารของปูนายังมีประเภทโปรตีน ได้แก่ หอย ปลา แมลง และตัวอ่อนปูนา แสดงว่าปูนาเป็นพวก omnivore คือ กินทั้งพืชและสัตว์ แต่ที่นำแปลก คือ ปริมาณของดินหรือซากอินทรีย์สารมีน้อยและชิ้นส่วนของพืชที่พบในกระเพาะอาหารปูนา พบทุกส่วนของพืช ได้แก่ ลำต้น ราก และใบ ในขณะที่รายงานของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยกล่าวว่า อาหารของปูนา คือ ดินที่มีสารอินทรีย์และปูนาชอบกัดกินต้นข้าวหรือกัดทำลายต้นกล้าบริเวณลำต้นเท่านั้น (สำนักงานสนับสนุนการวิจัย, 2548) ปูบางชนิดในแถบอินโดแปซิฟิก *Thalamia crenata* มีรายงานว่า เป็น carnivore คือ สัตว์กินสัตว์ (Cannicci et al, 1996) ปูทะเล *Notomithrax ursus* ในประเทศนิวซีแลนด์มีพฤติกรรมการกินคล้ายปูนาในงานวิจัยนี้ กล่าวคือ มีสัดส่วนของอาหารเป็นสาหร่ายถึง 96.8% ของอาหารทั้งหมดที่เหลือเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังตัวเล็กๆ (Woods, 1993)

จากข้อมูลในเดือนมิถุนายนถึงสิงหาคมซึ่งเป็นเดือนที่มีการปลูกกล้าข้าว พบว่า สัดส่วนของต้นข้าวในกระเพาะอาหารปูนามีมาก ต่อมาเดือนกันยายนและตุลาคม สัดส่วนของพืชน้อยลงแต่สัดส่วนของ

สัตว์ในกระเพาะอาหารปูนา เช่น พอบลูกปูและเกล็ดปลา แสดงถึงการลดลงของแหล่งอาหารปู จึงเกิดการกินลูกปูนา และสัตว์อื่นๆ และคาดว่าจากเดือนตุลาคม เป็นต้นไปจะมีสัดส่วนอาหารประเภทโปรตีนมากขึ้นตามลำดับ จากผลงานวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยจะได้หาวิธีเพื่อผลิตสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปูนาในลักษณะของการจัดการในรูปแบบของฟาร์มปูนาต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2550 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

จิราภรณ์ คชเสนี. 2537. หลักนิเวศวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย .

สมพงษ์ คุณย์จินดาชาพร, พรชัย จารุรัตน์จามร, สำเนา ทองสาย. 2542. การศึกษาชีววิทยาของปูนา. ขอนแก่น: ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 2548. โครงการปู: ปูนา. Available: http://www.Crab-trf.com/na_crab.php. (19 กรกฎาคม 2550).

อดิศักดิ์ อาจหาญ. 2545. เปลี่ยนนาข้าวเป็นนาปูเพื่อแก้ปัญหาเศรษฐกิจ. วารสารวลัยรุกขเวช: 6-9.

Benetti, A.S. and Negreiros-Fransozo, M. 2004. Relative growth of *Uca burgersi* (Crustacea, Ocypodidae) from two mangroves in the southeastern Brazilian coast. Brasil: *Iheringia*, Sér. Zool, Porto Alegre. 94(1): 67-72.

Cannicci, S. et al. 1996. Natural diet and feeding habits of *Thalamita crenata* (Decapoda: Portunidae). Journal of crustacean biology. 16(4): 678-683.

de Lestang, S. et al. 2000. Dietary composition of the blue swimmer crab *Portunus pelagicus* L. Does it vary with body size and shell state and between estuaries. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 246: 241-257.

Woods, C. M.C. 1993. Natural diet of the crab *Notomithrax ursus* (Brachyura: Majidae) at Oaro, South Island, New Zealand. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. 27: 309-315.

Woods, C. M.C. 1995. Functional morphology of the forgut of the spider crab *Notomithrax ursus* (Brachyura: Majidae). Journal of crustacean biology. 15(2): 220-227.



ผลของยาเตตราซัยคลินต่อความเป็นพิษของตับ
และการสร้างสเปิร์มในหนูเมาส์
Effect of Tetracycline on Hepatotoxicity and
Spermatogenesis in Mice (*Mus musculus* Linn.)

นพพรรษ ทวีปท^{1*} และ อำพา เหลืองภิรมย์²

บทคัดย่อ

หนูเมาส์เพศผู้ อายุ 16-18 สัปดาห์ ได้รับยาเตตราซัยคลินขนาดทางปาก 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม (100 กรัม/น้ำหนักตัว) เป็นเวลา 14 วัน พบว่า กลุ่มที่ได้รับขนาด 20 มิลลิกรัม/100 กรัม/น้ำหนักตัว มีระดับเอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) เพิ่มขึ้น (137.67±59.51 IU/l) และแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (23.33±17.61 IU/l) อย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ ผลตรวจจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับพบการทำลายร้อยละ 83.33 ประกอบด้วยบริเวณเซลล์ตาย บางเซลล์มีนิวเคลียสขยายใหญ่ มีการแทรกของเม็ดเลือดขาวตามช่องไซนัสของตับและพบถุงไขมันขนาดเล็กสะสมในตับด้วย ส่วนผลของยาเตตราซัยคลินต่อการสร้างสเปิร์ม พบว่า มีผลทำให้จำนวนสเปิร์ม สเปิร์มเคลื่อนที่ปกติ สเปิร์มที่มีชีวิตมีจำนวนลดลง ส่วนสเปิร์มที่มีรูปร่างผิดปกติมีจำนวนเพิ่มขึ้นตามขนาดของยา สอดคล้องกับลักษณะทางจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่ออัณฑะที่มีจำนวนชั้น spermatocyte และชั้น spermatid ในท่อเซมินิเฟอรัสของกลุ่มที่ได้รับขนาด 15 และ 20 มิลลิกรัม/100 กรัม/น้ำหนักตัวมีจำนวนลดลง และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ สรุปได้ว่า ยาเตตราซัยคลินมีผลทำลายตับและการสร้างสเปิร์มของหนูเมาส์

Abstract

Male Swiss albino mice (aged 16-18 weeks) were gavaged daily with 10, 15 and 20 mg/100g BW of tetracycline for 14 consecutive days. Results of liver damage was found by increasing level alanine aminotransferase (ALT) in sera of treated group (20 mg/100g BW) were increased up to 137.67±59.51 IU/l and significantly different from control group (23.33±17.61 IU/l), $P < 0.05$. Concordant result of histological studies were found incidence of hepatic damage 83.33 % by necrosis area, karyomegaly, lymphocytic infiltration and microvesicular steatosis. All treated groups revealed that sperm count, number of viable sperms, number of normal moving sperms were decreased, while number of abnormal sperms were increased in a dose-dependent manner. Concurrence of histological examination also showed corresponding results with the decreasing of spermatocyte layers, spermatid layers of treated groups at dose of 15 and 20 mg/100g BW,

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

² ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

* corresponding author, E-mail: 4950200413@stdmail.kku.ac.th

which were significantly different from control group ($P < 0.05$). Conclusion is that tetracycline affect on mouse liver and spermatogenesis impairment.

คำสำคัญ : เตตราไซคลิน ความเป็นพิษต่อตับ การสร้างสเปิร์ม

Keywords : tetracycline, hepatotoxicity, spermatogenesis

บทนำ

เตตราไซคลินเป็นกลุ่มยาปฏิชีวนะที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายแยกได้จากเชื้อ *Streptomyces* ยากลุ่มนี้มีขอบเขตการออกฤทธิ์แบบกว้าง (broad spectrum) โดยมีผลต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวกหลายชนิด เช่น *Mycoplasma*, *Chlamydia* และ *Rickettsia* รวมถึงเชื้อที่ทำให้เกิดมาลาเรียด้วย (Nelson et al., 1993 และ Nelson and Levy, 1999) เตตราไซคลินออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (Schnappinger and Hillen, 1996) ผู้ป่วยที่ได้รับยาเตตราไซคลิน แม้ในความเข้มข้นที่ต่ำก็สามารถทำให้ตับเกิดการอักเสบได้ ซึ่งสัมพันธ์กับรายงานของ SADRAC (Swedish Adverse Drug Reactions Advisory Committee) พบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับยาเตตราไซคลินมีอาการน้ำดีหยุดหลั่ง (cholestasia) หรือเซลล์ตับเกิดบาดเจ็บ (hepatocellular injury) หรือเกิดขึ้นทั้งสองกรณี (Björnsson et al., 1997) George and Crawford (1996) รายงานว่า ยาปฏิชีวนะที่มีพิษต่อตับได้แก่ ยาฟลูคล็อกซาซิลลิน (flucloxacillin) ทำให้หยุดหลั่งน้ำดี และยาเตตราไซคลิน ทำให้มีการสะสมของไขมันในตับ (microvesicular steatosis) ก่อให้เกิดตับอักเสบและตับอักเสบเรื้อรังได้ (Maddrey, 2005) โดยยาเตตราไซคลินมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่ควบคุมเมแทบอลิซึมของไขมันทำให้การสังเคราะห์ triglyceride และ beta-oxidation ของกรดไขมันเพิ่มขึ้น (Yin et al., 2006) นอกจากนี้แล้ว Malcolm et al. (1996) ได้ศึกษาผลของยาไมโนไซคลิน ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของยาเตตราไซคลิน พบว่า หากได้รับยาดังกล่าวเป็นเวลานาน สามารถก่อให้เกิดตับอักเสบได้เช่นเดียวกัน Kaufman and Greene (1993) ใช้ยาเตตราไซคลินรักษาโรคในแมว พบว่า เอนไซม์ alanine aminotrans-

ferase (ALT) ในเลือดมีระดับสูง เซลล์ตับสร้างคอลาเจนเพิ่มมากขึ้นทำให้เซลล์ตับตาย ท่อน้ำดีอักเสบ และมีไขมันสะสมในตับจำนวนมาก แต่หากได้รับยาเตตราไซคลินร่วมกับวิตามินอีและซีลีเนียม สามารถลดพิษของยาเตตราไซคลินต่อตับได้ นอกจากนี้ยาเตตราไซคลินยังมีผลทำให้ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน และน้ำหนักรูท epididymis ของหนูแรทลดลง แต่เมื่อหยุดให้ยาเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ลักษณะดังกล่าวจะกลับมาเป็นปกติ (Awobajo et al., 2005) ยาปฏิชีวนะถึงแม้จะมีประโยชน์ในการต้านแบคทีเรีย แต่อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่ออวัยวะต่างๆ ในร่างกาย เช่น ตับและไต ยาปฏิชีวนะบางชนิดอาจมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ ทำให้กระทบต่อการเจริญพันธุ์ของคนและสัตว์ได้ การศึกษาครั้งนี้จึงสนใจศึกษาผลของยาเตตราไซคลินต่อตับและการเจริญพันธุ์ของหนูเมาส์เพศผู้

อุปกรณ์และการทดลอง

สัตว์ทดลอง

หนูเมาส์ (*Mus musculus*) พันธุ์ Swiss albino เพศผู้ อายุ 16-18 สัปดาห์ จากหน่วยสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลี้ยงและทดลองที่เรือนสัตว์ทดลองของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ช่วงสว่าง : ช่วงมืด เท่ากับ 14 : 10 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูป และน้ำดื่มตลอดเวลา

การเตรียมยาเตตราไซคลิน

ยาเตตราไซคลินไฮโดรคลอไรด์ ขนาด 250 มิลลิกรัมต่อแคปซูล (บริษัท Asian union laboratories CO. Ltd.) ละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ยาเตตราไซคลิน

ความเข้มข้น 10, 15 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณที่ใช้ทดลอง คือ 1 มิลลิลิตร/100 กรัมน้ำหนักตัว

การทดลอง

1. ผลของยาเตตราซัยคลินต่อเนื้อเยื่อตับ

หนูเมาส์เพศผู้ จำนวน 24 ตัว แบ่งเป็น

4 กลุ่มๆ ละ 6 ตัว

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุมให้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร/100 กรัมน้ำหนักตัว

กลุ่มที่ 2, 3 และกลุ่มที่ 4 ให้ยาเตตราซัยคลินขนาด 10, 15 และ 20 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักตัวตามลำดับ

การให้น้ำกลั่นและยาเตตราซัยคลินแก่หนูเมาส์ให้ทางปากในเวลา 9.00 น. ของทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน โดยใช้เข็มป้อนสารสู่กระเพาะอาหาร (gastric feeding needle) เมื่อครบกำหนดทำการสับสัตว์ทดลองทุกกลุ่มด้วยอีเทอร์ เก็บชิ้นเนื้อเพื่อตรวจหาระดับเอนไซม์ ALT สุ่มตัดเนื้อเยื่อตับบางส่วนแช่ในสารละลาย Bouin's fluid เพื่อรักษาสภาพ จากนั้นนำไปทำสไลด์ถาวรด้วยวิธีพาราฟิน (paraffin method) ตัดเนื้อเยื่อหนา 5 ไมครอน ย้อมสีด้วยสีฮีมาทอกซาลิน และอีโอซิน (H&E) จากนั้นนำสไลด์มาตรวจสอบจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในสไลด์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. ผลของยาเตตราซัยคลินต่อเนื้อเยื่ออวัยวะและการสร้างสเปิร์ม

จากการทดลองที่ 1 หลังสับหนูด้วยอีเทอร์ตัดท่อ epididymis และท่อ vas deferens นำไปแช่ให้ได้ตัวสเปิร์มด้วยน้ำเกลือ (0.9% NaCl) เพื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อตามวิธีของ เทวิน วงษ์พระลับ (2542) ส่วนอวัยวะตัดและแช่ใน Bouin's fluid เพื่อรักษาสภาพ และนำไปทำสไลด์ถาวรด้วยวิธีพาราฟินตรวจสอบจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่ออวัยวะในสไลด์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

วิเคราะห์ข้อมูล

ประเมินค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของระดับเอนไซม์ ALT จำนวนสเปิร์มทั้งหมด จำนวนสเปิร์มที่มีรูปร่างผิดปกติ จำนวนสเปิร์มที่เคลื่อนที่ปกติและจำนวนสเปิร์มที่มีชีวิตทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี one-way analysis of variance (ANOVA) ของโปรแกรม SPSS ส่วนลักษณะจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและอวัยวะใช้การบรรยายลักษณะที่ผิดปกติและประเมินค่าเป็นร้อยละความผิดปกติในแต่ละกลุ่มการทดลอง

ผลการทดลอง

ผลของยาเตตราซัยคลินต่อเนื้อเยื่อตับ

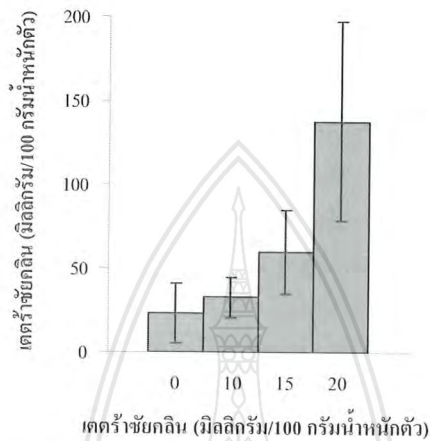
ผลต่อระดับเอนไซม์ ALT ในเลือด

หนูเมาส์กลุ่มที่ได้รับยาเตตราซัยคลินขนาด 10 และ 15 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักตัว มีระดับเอนไซม์ ALT เท่ากับ 23.67 ± 11.83 และ 60.00 ± 25.21 IU/l ตามลำดับ และไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (23.33 ± 17.61 IU/l) ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาเตตราซัยคลินขนาด 20 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักตัว มีระดับเอนไซม์ ALT เท่ากับ 137.67 ± 59.51 IU/l และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ (รูปที่ 1)

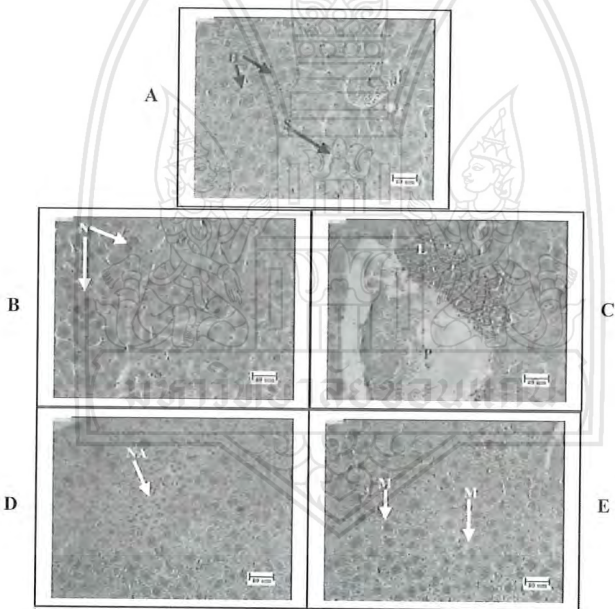
ผลต่อจุลพยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับ

จุลพยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับของกลุ่มควบคุมไม่พบความผิดปกติ ลักษณะเซลล์ตับมีขอบเขตชัดเจน นิวเคลียสกลม มีการเรียงตัวของเซลล์เป็นแถวโดยมีเส้นเลือด (central vein) เป็นศูนย์กลาง มีช่อง (sinusoid lining) ระหว่างแถวของเซลล์ตับทำให้เกิดลักษณะเป็นพู (hepatic lobule) เมื่อดูเนื้อเยื่อตับทั้งหมดจะพบพุนีจำนวนมาก ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาเตตราซัยคลินขนาด 10, 15 และ 20 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักตัว มีบริเวณเซลล์ตาย (necrosis area) กิดเป็นร้อยละ 33.33, 66.66 และ 83.33 ตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวแทรก (lymphocytic infiltration) ในเซลล์

ตับ และในบริเวณใกล้กับ central vein ร้อยละ 33.33, 66.66 และ 66.66 ตามลำดับ และยังพบไขมันสะสมในเซลล์ตับ (microvesicular steatosis) ในกลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลีนขนาด 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว ร้อยละ 83.33 (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 ระดับเอนไซม์ ALT ในเลือดของหนูเมาส์ที่ได้รับยาเตตราไซคลีน



รูปที่ 2 ลักษณะจุลพยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับหนูเมาส์ที่ได้รับยาเตตราไซคลีน (H&E, x40)
A. กลุ่มควบคุมพบเนื้อเยื่อตับปกติแสดง hepatocyte (H), sinusoid lining cell (S), และ central vein (C), B. กลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลีนขนาด 10 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว พบนิวเคลียสมีขนาดใหญ่ (N), C. กลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลีน 15 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว พบ lymphocytic infiltration (L), portal vein (P), D. กลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลีนขนาด 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว พบ necrosis area (NA), E. กลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลีนขนาด 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว พบ microvesicular steatosis (M)

ผลของยาเตร้าซัยคลินต่อคุณภาพสเปิร์มและเนื้อเยื่ออัณฑะ

ผลต่อคุณภาพสเปิร์ม

ผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อสเปิร์ม พบว่า กลุ่มที่ได้รับยาเตร้าซัยคลิน ขนาด 10 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว มีจำนวนสเปิร์มทั้งหมดจำนวนสเปิร์มที่มีชีวิต สเปิร์มที่มีรูปร่างผิดปกติ และจำนวนสเปิร์มที่เคลื่อนที่ปกติไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาเตร้าซัยคลินขนาด 15 และ 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว มีจำนวนสเปิร์มทั้งหมดลดลงและ

แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ กลุ่มที่ได้รับยาเตร้าซัยคลินขนาด 15 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว พบจำนวนสเปิร์มทั้งหมดและจำนวนสเปิร์มที่มีชีวิตลดลงแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาเตร้าซัยคลินขนาด 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว มีจำนวนสเปิร์มทั้งหมด จำนวนสเปิร์มที่มีชีวิต สเปิร์มที่เคลื่อนที่ปกติลดลง และสเปิร์มที่มีรูปร่างผิดปกติเพิ่มขึ้น แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนสเปิร์มทั้งหมด ร้อยละสเปิร์มที่เคลื่อนที่ปกติ ร้อยละสเปิร์มที่มีรูปร่างผิดปกติ และร้อยละสเปิร์มที่มีชีวิตของหนูเม้าส์ที่ได้รับยาเตร้าซัยคลิน

ยาเตร้าซัยคลิน (mg/100g BW) (N=6)	จำนวนสเปิร์มทั้งหมด ($\bar{X} \pm SD$, x 10^6 ตัว/ มล.)	สเปิร์มที่เคลื่อนที่ ปกติ ($\bar{X} \pm SD$, %)	สเปิร์มที่มีรูปร่าง ผิดปกติ ($\bar{X} \pm SD$, %)	สเปิร์มที่มีชีวิต ($\bar{X} \pm SD$, %)
0	24.40 $\pm$ 0.28 ^a	61.94 $\pm$ 3.80 ^a	24.61 $\pm$ 2.22 ^a	70.08 $\pm$ 1.29 ^a
10	23.83 $\pm$ 0.20 ^a	60.11 $\pm$ 2.78 ^a	24.72 $\pm$ 0.93 ^a	66.30 $\pm$ 2.48 ^a
15	21.6 $\pm$ 0.87 ^b	58.56 $\pm$ 1.09 ^{ab}	27.11 $\pm$ 1.07 ^a	53.04 $\pm$ 5.72 ^b
20	20.83 $\pm$ 0.97 ^b	54.50 $\pm$ 3.30 ^b	39.94 $\pm$ 3.36 ^b	52.70 $\pm$ 2.47 ^b

N = จำนวนหนูในแต่ละกลุ่มการทดลอง
อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ได้ผลไม่แตกต่างกัน
อักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ได้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

ผลต่อเนื้อเยื่ออัณฑะ

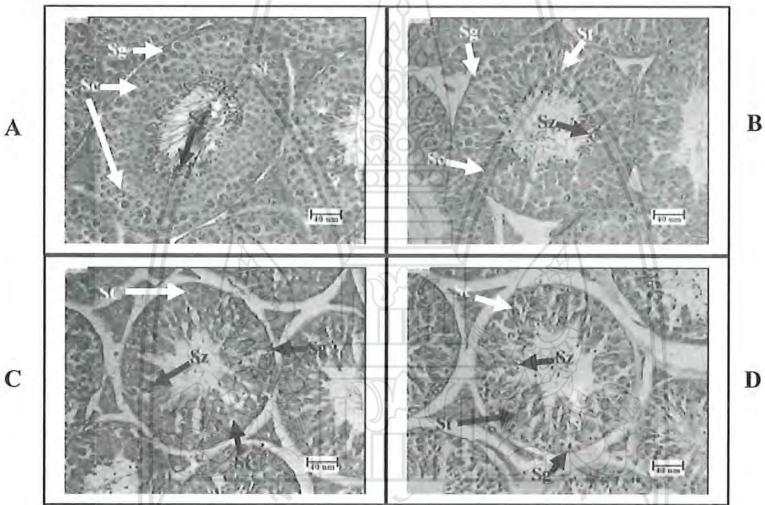
ผลการตรวจลักษณะจุลพยาธิสภาพเนื้อเยื่ออัณฑะ พบว่า กลุ่มที่ได้รับยาเตร้าซัยคลินขนาด 10 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว มีจำนวนชั้น spermatocyte เท่ากับ 2.08 $\pm$ 0.06 ชั้น และชั้น spermatid เท่ากับ 3.28 $\pm$ 0.06 ชั้น ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาเตร้าซัยคลินขนาด

15 และ 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว มีจำนวนชั้น spermatocyte เท่ากับ 1.36 $\pm$ 0.22 และ 1.14 $\pm$ 0.02 ชั้น ตามลำดับ จำนวนชั้น spermatid เท่ากับ 2.22 $\pm$ 0.17 และ 2.19 $\pm$ 0.15 ชั้น ตามลำดับ ซึ่งลดลงและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ (ตารางที่ 2 และรูปที่ 3)

ตารางที่ 2 จำนวนชั้นของเซลล์ต่างๆ ในท่อเซมินิเฟอร์สหนูเมาส์ที่ได้รับยาเตตราซัยคลิน

ยาเตตราซัยคลิน (mg/100g BW) (N=6)	จำนวนชั้น spermatocyte (X±SD)	จำนวนชั้น spermatid (X±SD)
0	2.18±0.08 ^a	3.38±0.05 ^a
10	2.08±0.06 ^a	3.28±0.06 ^a
15	1.36±0.22 ^b	2.22±0.17 ^b
20	1.14±0.02 ^c	2.19±0.15 ^b

N = จำนวนหนูในแต่ละกลุ่มการทดลอง
อักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ได้ผลไม่แตกต่างกัน
อักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ได้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ P< 0.05



รูปที่ 3 ลักษณะจุลพยาธิสภาพของท่อเซมินิเฟอร์สในอวัยวะของหนูเมาส์ที่ได้รับยาเตตราซัยคลิน (H&E, x40) แสดง spermatogonia (Sg), spermatocyte (Sc), spermatid (St) และ spermatozoa (Sz)
A. กลุ่มควบคุม พบการเรียงตัวของเซลล์ต่างๆ ปกติ
B. กลุ่มที่ได้รับยาเตตราซัยคลินขนาด 10 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว พบจำนวนชั้น spermatocyte และชั้น spermatid ลดลง
C. กลุ่มที่ได้รับยาเตตราซัยคลินขนาด 15 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว พบจำนวนชั้น spermatocyte ชั้น spermatid ลดลงมาก และพบสเปิร์มในช่องกลางท่อลดลง
D. กลุ่มที่ได้รับยาเตตราซัยคลินขนาด 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว จำนวนชั้น spermatocyte ชั้น spermatid พบน้อยมาก และพบสเปิร์มในช่องกลางท่อลดลงมาก

สรุปและอภิปรายผล

ผลของยาเตตราไซคลินต่อตับ

หนูเมาส์กลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลิน ขนาด 15 และ 20 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักตัว เป็นเวลา 14 วัน มีระดับเอนไซม์ ALT ในเลือด สูงกว่ากลุ่มควบคุม 2.57 และ 5.9 เท่า ตามลำดับ แสดงถึงตับถูกทำลายและทำลายมากขึ้นเมื่อได้รับยาขนาดสูงขึ้น หากตับเกิดการอักเสบหรือเซลล์ตับตาย จะทำให้เอนไซม์ ALT รั่วออกจากตับสู่กระแสเลือดมากขึ้น และสามารถตรวจพบเอนไซม์นี้ได้ในระดับสูง (Figlio et al., 2004) สอดคล้องกับรายงานของ Kaufman and Greene (1993) พบว่า เมวที่ได้รับยาเตตราไซคลิน ในการรักษาโรค เมื่อตรวจเลือดพบมีระดับเอนไซม์ ALT สูงมากขึ้น

ส่วนผลการตรวจลักษณะทางจุลพยาธิสภาพ เนื้อเยื่อตับหนูเมาส์ที่ได้รับยาเตตราไซคลินทุกขนาด พบเซลล์ตับตาย และมีกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวแทรก ระหว่างช่องของแถวเซลล์ตับ แต่ความรุนแรงในกลุ่มที่ได้รับยาขนาดต่ำ จะไม่รุนแรงเท่ากลุ่มที่ได้รับยาในขนาดสูง ซึ่งลักษณะดังกล่าวสามารถบ่งบอกถึงการอักเสบของตับสูงขึ้น Malcolm et al. (1996) รายงานว่า ยาไมโนไซคลินซึ่งเป็นอนุพันธ์ของยาเตตราไซคลิน สามารถชักนำให้ตับอักเสบได้ และหากได้รับยาติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดตับอักเสบเรื้อรัง การทดลองครั้งนี้ยังพบว่ากลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลินขนาด 20 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักตัว มีถุงไขมันเล็กๆ แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับด้วย ซึ่งเกิดจากยาเตตราไซคลินออกฤทธิ์รบกวนการรวมตัวของ triglyceride กับโปรตีน และยับยั้งการหลั่งไลโปโปรตีนออกจากเซลล์ตับ (วงศ์วัฒน์ ทศนิยกุล, 2538) สอดคล้องกับรายงานของ Kaufman and Greene (1993) ที่กล่าวว่า การรักษาเมว ด้วยยาเตตราไซคลินนอกจากตรวจพบมีระดับเอนไซม์ ALT ในเลือดสูงแล้ว ยังพบไขมันในเซลล์ตับเป็นจำนวนมาก Yin et al. (2006) รายงานว่า ยาเตตราไซคลินขนาด 0.1-1 กรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว มีผลต่อการแสดงออกของยีนตับของหนูแรทที่เกี่ยวข้องกับ

เมแทบอลิซึมของไขมัน จึงมีผลต่อการสังเคราะห์ triglyceride และเกิด beta-oxidation ของกรดไขมัน ทำให้มีโคเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อตับ นอกจากนี้ การตรวจสอบจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับยังพบว่า ในทุกกลุ่มทดลองที่ได้รับยาเตตราไซคลิน เนื้อเยื่อตับบางจำนวนมีนิวเคลียสขนาดใหญ่ (karyomegaly) ซึ่งอาจเป็นผลจากยาเตตราไซคลินไปทำลายเซลล์ตับ เซลล์ตับจึงมีกระบวนการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นเพื่อทดแทนเซลล์ที่ตายไป แต่ยังไม่มียางานสนับสนุน

ผลของยาเตตราไซคลินต่อคุณภาพสเปิร์ม และเนื้อเยื่ออวัยวะ

หนูเมาส์กลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลิน ขนาด 10 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว เป็นเวลา 14 วัน ไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อสเปิร์ม กลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลินขนาด 15 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว มีผลต่อจำนวนสเปิร์มทั้งหมด และจำนวนสเปิร์มที่มีชีวิต มีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนกลุ่มที่ได้รับยา 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว มีผลทำให้จำนวนสเปิร์มทั้งหมด สเปิร์มที่มีชีวิต และจำนวนสเปิร์มที่เคลื่อนที่ปกติลดลง และจำนวนสเปิร์มที่มีรูปร่างผิดปกติเพิ่มขึ้นและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ รูปร่างผิดปกติที่พบ ได้แก่ หัวไม่ต่อกับหาง (detached head) ส่วนตัวมีหยดน้ำ (medial protoplasmic droplet) ส่วนตัวและหางขม้วน (coiled middle piece and tail) ส่วนตัวโค้งงอ (bent middle piece) หางขม้วน (coli tail) ลักษณะดังกล่าวเป็นความผิดปกติระดับแรกที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการ spermatogenesis ในระยะ spermiogenesis (การเปลี่ยนจาก spermatid เป็นสเปิร์ม) (สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย, 2544) จึงทำให้จำนวนสเปิร์มทั้งหมดในกลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลินขนาด 15 และ 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อตรวจลักษณะทางจุลพยาธิสภาพเนื้อเยื่ออวัยวะ พบว่า กลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลิน ขนาด 15 และ 20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว มีจำนวนชั้น

spermatocyte จำนวนชั้น spermatid ลดลงและแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับยาเตตราไซคลินขนาด 10 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ การลดลงของชั้น spermatocyte และชั้น spermatid นี้ได้ผลสอดคล้องกับการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อซึ่งมีจำนวนสเปิร์มทั้งหมดลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Awobajo et al. (2005) รายงานว่า เมื่อได้รับยาเตตราไซคลินขนาด 12 มิลลิกรัม/100 กรัม แก่หนูแรท เป็นเวลา 14 วัน ทำให้ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและน้ำหนักรังไข่ลดลง และอาการดังกล่าวนี้สามารถกลับมาเป็นปกติหลังหยุดให้ยา 2 สัปดาห์

การศึกษารังไข่สรุปได้ว่า การได้รับยาเตตราไซคลินขนาด 15-20 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว เป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน มีผลต่อการทำลายตัวและการสร้างสเปิร์มในหนูเม้าส์ โดยอาจมีผลต่อระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนซึ่งเป็นฮอร์โมนสำคัญในกระบวนการ spermatogenesis รวมทั้ง spermiogenesis

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

เทวิน วงษ์พระลับ. (2542). การสืบพันธุ์ในสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

วงศ์วิวัฒน์ ทศนียกุล. (2538). ความเป็นพิษต่อดับ. ใน: พิษวิทยาเบื้องต้น. วงศ์วิวัฒน์ ทศนียกุล (บรรณาธิการ). หน้า 77-87. ภาควิชาพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุธีรัตน์ เอี่ยมละมัย. (2544). การผสมเทียมในโค. ภาควิชาสัตวศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Awobajo, F. O., Raji, Y., Olatunji-Bello, I I., Kunle-Alabi, F. T., Adesanya, A. O. and Awobajo,

T. O. (2005). Fourteen Days Oral Administration of Therapeutic Dosage of some Antibiotics Reduced Serum Testosterone in Male Rats. *Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences*. 5(1): 17-20.

Björnsson, E., Lindberg, J. and Olsson, R. (1997). Liver Reactions to Oral Low-Dose Tetracyclines. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 32(4): 390-395.

Figlio, L. D., Tarpley, H.L., Latimer, K. H. and Bain, P. J. (2004). A Brief Review of Alanine Aminotransferase Activity. *Veterinary Clinical Pathology Clerkship Program*. Available source: <http://www.vet.uga.edu/VPP/clerk/figlio/index.php> January 31, 2008.

George, D. K., Crawford, D. G. (1996). Antibacterial-Induced Hepatotoxicity. Incidence, Prevention, and Management. *Drug Safety*. 15(1): 79-85.

Kaufman, A. C. and Greene, C. E. (1993). Increased alanine transaminase activity associated with tetracycline administration in a cat. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 202(4): 628-630.

Maddrey, W. C. (2005). Drug-Induced Hepatotoxicity. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 39(4 Supl2): s83-s89.

Malcolm, A., Heap, T. R., Eckstein, R. P. and Lunzer, M. R. (1996). Minocycline-Induced Liver Injury. *The American Journal of Gastroenterology*. 91(8): 1641-1643.

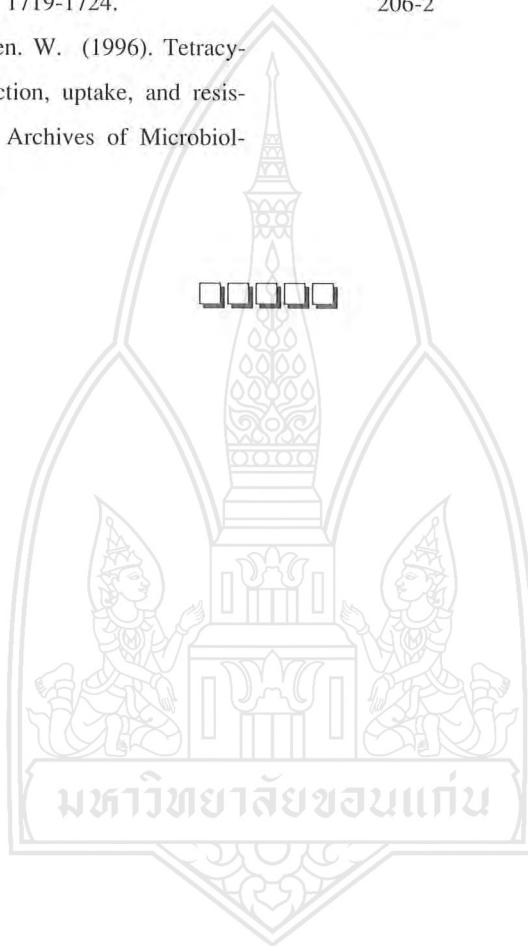
Nelson, M. L., Park, B. H., Andrew, J. S., Georgian, V. A., Thomas, B. C. and Levy, S. B. (1993). Inhibition of the Tetracycline Efflux Antiport Protein by 13-thio-substituted 5-hydroxy-6- deoxytetracyclines. *Journal of*

Medicinal Chemistry. 36: 370-377.

Nelson, M. L. and Levy, S. B. (1999). Reversal of Tetracycline Resistance Mediated by Different Bacterial Tetracycline Resistance Determinants by an Inhibitor of the Tet (B) antiport Protein. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 43: 1719-1724.

Schnappinger, D., and Hillen. W. (1996). Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Archives of Microbiology*. 165:359-369.

Yin, H. Q., Kim, M., Kim, J. H., Kong, G., Lee, M. O., Kang, K. S., Yoon, B. I., Kim, H. L. and Lee, B. H. (2006). Hepatic Gene Expression Profiling and Lipid Homeostasis in Mice Exposed to Steatogenic Drug, Tetracycline. *Toxicological Sciences*. 94(1): 206-2



การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้าน จากอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน ด้วยฟลูออไรด์ไอออนซีเล็คทีฟอิเล็กโทรด

Determination of fluoride in deep well pipe water from Suntisuk District, Nan Province by Fluoride Ion Selective Electrode

ธัญดา แสนปัญญา¹ นภา ตั้งเตรียมจิตมัน^{2*}

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้านจากอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน โดยในฤดูฝนเก็บตัวอย่างน้ำในวันที่ 12 สิงหาคม 2550 จากประปาหมู่บ้าน 13 แห่ง แห่งละ 1 จุด ส่วนในฤดูแล้งเก็บในวันที่ 10 ธันวาคม 2550 แห่งละ 3 จุด รวม 39 ตัวอย่าง วิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ด้วยฟลูออไรด์ไอออนซีเล็คทีฟอิเล็กโทรด

ผลการวิจัยพบว่า ปริมาณฟลูออไรด์ในตัวอย่างน้ำประปาในฤดูฝน มีค่าระหว่าง 0.123 ถึง 0.820 พีพีเอ็ม ส่วนในฤดูแล้งมีปริมาณฟลูออไรด์อยู่ในช่วง 0.201 ± 0.008 ถึง 0.888 ± 0.026 พีพีเอ็ม ตัวอย่างน้ำประปาหมู่บ้านจาก 13 หมู่บ้าน มีปริมาณฟลูออไรด์ในระดับที่ไม่เกินค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภคของกรมอนามัย ยกเว้นบ้านหลวงเจริญราษฎร์ น้ำตัวอย่างมีปริมาณฟลูออไรด์ 0.820 พีพีเอ็ม ในฤดูฝน และ 0.888 ± 0.026 พีพีเอ็ม ในฤดูแล้ง ซึ่งเกินค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภคของกรมอนามัย

Abstract

The determination of fluoride in deep well pipe water from 13 villages in Suntisuk district, Nan province was studied. In rainy season, 13 samples were collected in August 12, 2007, one sample from each village. In winter, 39 samples were collected in December 10, 2007, three samples from each village. The analysis was done using fluoride ion selective electrode.

The result revealed the variation of fluoride content in the samples ranged from 0.123 to 0.820 ppm in rainy season. The average was 0.258 ± 0.168 ppm. The fluoride content was varied between 0.201 ± 0.008 and 0.888 ± 0.026 ppm in winter. The average was 0.320 ± 0.203 ppm. The fluoride content in water samples from 13 villages in Suntisuk district did not exceed the maximum permissible level of standard

¹ โรงเรียนสันติสุขพิทยาคม อ.สันติสุข จ.น่าน 55000

² ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

* Corresponding author, E-mail: napa@buu.ac.th

drinking water regulated by Department of Health, Ministry of Public Health, Thailand. Except in Luangchareonrat village, the fluoride content was 0.820 ppm in rainy season and 0.888 ± 0.026 ppm in winter, which exceeded the maximum permissible level.

คำสำคัญ : ฟลูออไรด์ ฟลูออไรด์ไอออนซีล็คทีฟอิเล็กโทรด น้ำประปาหมู่บ้าน

Keywords : Fluoride Fluoride ion selective electrode Deep well pipe water

บทนำ

ฟลูออรีนเป็นธาตุหมู่ 7 ในตารางธาตุ เป็นธาตุที่เบาที่สุดในหมู่ และมีความไวต่อการทำปฏิกิริยาเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงที่สุดในบรรดาธาตุทั้งหมด ทำให้ไม่พบฟลูออรีนในรูปธาตุอิสระในธรรมชาติ แต่จะอยู่ในรูปสารประกอบเกลือฟลูออไรด์ (Robinson, 1997) มนุษย์รับฟลูออไรด์เข้าสู่ร่างกายจากการบริโภค น้ำ อาหาร หรือได้รับจากผลิตภัณฑ์ที่มีฟลูออไรด์เป็นส่วนผสม เช่น ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก เป็นต้น โดยทั่วไปฟลูออไรด์ส่วนใหญ่ที่ร่างกายได้รับจะมาจากน้ำ ปริมาณฟลูออไรด์ที่ได้จากน้ำ คิดจากระดับฟลูออไรด์ในน้ำ และปริมาณน้ำที่บริโภค ซึ่งสถิติทั้งสองนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น สภาพพื้นที่ อุณหภูมิ ความชื้น การออกกำลังกาย และพฤติกรรมกรบริโภค เป็นต้น จึงไม่สามารถประเมินเป็นค่าสากลได้ (จันทร์วิจิตร, 2546) แหล่งน้ำธรรมชาติของประเทศไทย นอกจากระบบประปาขนาดใหญ่แล้ว ยังมีแหล่งน้ำที่ขุดเจาะเพื่อนำมาทำให้เป็นระบบประปาหมู่บ้านหรือประปาภูเขา ตามลักษณะภูมิศาสตร์ของแต่ละที่ ซึ่งในการขุดเจาะบ่อน้ำจะมีการตรวจสอบคุณภาพน้ำเพื่อความปลอดภัยในการบริโภค โดยได้มีการกำหนดค่ามาตรฐานของสารต่าง ๆ ในน้ำที่ปลอดภัยต่อการบริโภค

ในระดับสากลองค์การอนามัยโลก ได้กำหนดค่ามาตรฐานน้ำดื่มไว้ โดยมีการคำนวณสารต่างๆ ให้เหมาะสมกับสภาพของแต่ละพื้นที่ ในกรณีของฟลูออไรด์ คู่มือมาตรฐานน้ำบริโภคขององค์การอนามัยโลก 1996 ได้กำหนดค่าไว้ที่ 1.5 พีพีเอ็ม ซึ่งจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิเฉลี่ยของแต่ละประเทศด้วย โดยองค์การอนามัยโลกได้ระบุไว้ว่าประเทศที่อยู่ในเขตร้อนประชาชนจะบริโภคน้ำมาก น้ำบริโภคควรมีฟลูออไรด์

ต่ำกว่า 1.5 พีพีเอ็ม ด้วยเหตุนี้ หากพิจารณาจากอุณหภูมิเฉลี่ยของประเทศไทย ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำที่เหมาะสม ควรจะมีค่าอยู่ในช่วง 0.6 - 0.8 พีพีเอ็ม (Centers for Disease Control and Prevention, 1995)

สำหรับประเทศไทยมีองค์กรต่าง ๆ ได้กำหนดมาตรฐานเกี่ยวกับน้ำดื่มไว้หลายองค์กร โดยค่ามาตรฐานเหล่านี้มีความเหลื่อมล้ำของช่วงที่แนะนำ เนื่องจากการพิจารณาเงื่อนไขการกำหนดมาตรฐานแตกต่างกัน แต่ได้มีความพยายามที่จะประสานงานร่วมกัน เพื่อให้เกิดข้อตกลงร่วมที่เกิดประโยชน์ต่อการดำรงชีวิต และสุขภาพอนามัยของประชาชนมากที่สุด จากการประชุม 4-5 ครั้งในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา นักวิชาการได้มีข้อสรุปเกี่ยวกับประเด็นฟลูออไรด์ในน้ำดื่มที่จะใช้เป็นคำแนะนำมาตรฐานสำหรับคนไทย โดยกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ได้กำหนดเกณฑ์คุณภาพน้ำบริโภคที่ระดับไม่เกิน 0.7 พีพีเอ็ม (กรมอนามัย, 2543) และกระทรวงอุตสาหกรรมได้กำหนดค่า 1.0 พีพีเอ็ม เป็นเกณฑ์อนุ โสมสูงสุดสำหรับพื้นที่ที่ขาดแคลนน้ำ (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2542)

จากข้อมูลการเฝ้าระวังน้ำบริโภคธรรมชาติทั่วประเทศ ซึ่งรวบรวมโดย กองทันตสาธารณสุข ช่วง พ.ศ. 2532-2544 พบว่า จากตัวอย่างน้ำ 58,693 ตัวอย่าง ร้อยละ 97.6 มีปริมาณฟลูออไรด์ไม่เกิน 1.0 พีพีเอ็ม ร้อยละ 2.4 มีปริมาณฟลูออไรด์อยู่ในระดับที่มีปัญหาต่อสุขภาพ หากประชาชนบริโภคในระยะเวลา นานๆ ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำที่พบสูงสุด คือ 16.38 พีพีเอ็ม พบที่ ต.หนองรี จ.กาญจนบุรี ทั้งนี้แหล่งน้ำหลัก คือ น้ำบ่อ น้ำบาดาล ประปาชุมชน และน้ำผิวดิน ตามลำดับ สำหรับจังหวัดน่านได้มีการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในหลายๆ อำเภออย่างต่อเนื่องเป็นเวลา

หลายปี แต่ยังไม่เคยมีข้อมูลของอำเภอสันติสุข ซึ่งตั้งอยู่ใกล้กับอำเภอกู่เพียง ที่พบว่ามีบางหมู่บ้านที่มีปริมาณฟลูออไรด์ในระดับที่เป็นอันตราย (กรมอนามัย, 2545)

พิษของฟลูออไรด์อาจเกิดได้ทั้งชนิดเฉียบพลันและชนิดเรื้อรังโดยขึ้นอยู่กับปริมาณของฟลูออไรด์และระยะเวลาที่ได้รับ ความเป็นพิษของฟลูออไรด์ที่มีต่อมนุษย์นั้น จะปรากฏอาการที่กระดูก ฟัน ไต ต่อมไทรอยด์ รวมไปถึงการทำงานของระบบประสาทผิดปกติ และการเจริญเติบโตช้า ปริมาณฟลูออไรด์ที่รับประทานแล้วอาจทำให้เสียชีวิตได้มีค่าเฉลี่ย 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (สุขุม, 2526) ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำหรือในอาหารที่มีมากกว่า 125 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ไตของผู้ได้รับผิดปกติ และถ้ารับประทานฟลูออไรด์ 2.5-5.0 กรัม เพียงครั้งเดียวก็จะทำให้เสียชีวิตได้ (อลงกต, 2541) นอกจากนี้ ถ้าได้รับในรูปสารประกอบของฟลูออไรด์ เช่น โซเดียมฟลูออไรด์ หรือโพแทสเซียมฟลูออไรด์ ในปริมาณมากทำให้เกิดพิษเฉียบพลัน โดยจะมีอาการอาเจียน ปวดท้อง ชัก ซาที่ตา หน้า กล้ามเนื้อของนิ้วมือ และส่วนล่างของร่างกาย ท้องเดิน อาการดังกล่าวจะเกิดขึ้นภายในเวลา 2 - 3 นาที หรือไม่เกิน 2 ชั่วโมง ส่วนความเป็นพิษเรื้อรังที่เกิดจากการรับฟลูออไรด์เข้าไปปริมาณน้อยเป็นระยะเวลานานๆ ถ้าหากได้รับฟลูออไรด์ปริมาณ 10 - 25 มิลลิกรัมต่อวันเป็นระยะเวลาหลายปี จะทำให้เกิดกระดูกคงอ หรือถ้าได้รับฟลูออไรด์มากกว่า 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในระยะเวลาแรกเกิดถึง 6 ขวบ หรือหลายปี อาการที่ปรากฏ คือ ฟันตกกระ หรือฟันดิสสีได้ง่ายและยังร่างกายได้รับฟลูออไรด์ในปริมาณที่สูงขึ้นก็ยิ่งเกิดผลกระทบที่เป็นพิษต่อกระดูกและฟัน โดยจะทำให้เคลื่อนฟันแตกง่าย ไม่สวยงาม เป็นพิษต่อต่อมไทรอยด์ เกิดนิ่วในไตและทางเดินปัสสาวะส่วนบน (ศูนย์ทันตสาธารณสุขระหว่างประเทศ ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพเขต 10 และศูนย์อนามัยสิ่งแวดล้อม เขต 10, 2545)

การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้านจากอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน เป็นการศึกษา

เบื้องต้นเกี่ยวกับปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้านสามารถบอกได้ว่า น้ำประปาในหมู่บ้านใดจากอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน มีปริมาณฟลูออไรด์อยู่ในระดับใด อีกทั้งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการศึกษาเกี่ยวกับฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้าน ในเขตอำเภอสันติสุข จังหวัดน่านอีกด้วย

วิธีดำเนินงาน

การศึกษาปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้านในเขตอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน ซึ่งมี 31 หมู่บ้าน แต่มีเพียง 13 หมู่บ้านที่มีประปาหมู่บ้าน ส่วนหมู่บ้านที่เหลือจะใช้น้ำประปาร่วมกันกับหมู่บ้านใกล้เคียง แหล่งน้ำดิบส่วนใหญ่เป็นน้ำบาดาล การวิจัยนี้จึงได้มีการเก็บตัวอย่างน้ำ จากประปาหมู่บ้านทั้ง 13 แห่ง โดยในฤดูฝน เก็บในวันที่ 12 สิงหาคม 2550 เก็บประปาละ 1 จุด เพื่อเป็นการสำรวจเบื้องต้นว่า ปริมาณฟลูออไรด์ที่มีสามารถตรวจวัดได้โดยเทคนิคฟลูออไรด์ไอออนซีล็คทีฟอิเล็กโทรด จากนั้นจึงไปเก็บตัวอย่างอีกครั้งในฤดูหนาว โดยเก็บในวันที่ 10 ธันวาคม 2550 เก็บประปาละ 3 จุด

1. วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำ

1.1 ใช้ขวดพลาสติกชนิดโพลิเอทิลีน ขนาด 60 มล. เก็บตัวอย่างน้ำจากก๊อก โดยล้างหัวก๊อกให้สะอาด แล้วเปิดน้ำแรง ๆ ไว้ 2-3 นาที ให้น้ำล้างท่อไหลออกให้หมดก่อนบรรจุลงขวด และควรเป็นเวลาที่มีน้ำไหลอย่างสม่ำเสมอ การจับขวดเก็บตัวอย่างน้ำ ควรจับบริเวณก้นขวด ก่อนเก็บตัวอย่าง ต้องใช้ตัวอย่างน้ำที่จะเก็บก๊อก (rinse) ขวดเก็บตัวอย่างก่อน 2-3 ครั้ง บรรจุน้ำให้เต็มขวดแล้วปิดจุกให้แน่น (รูปที่ 1) ปิดฉลากแจ้งรายละเอียดของตัวอย่างน้ำ (รูปที่ 2) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อนำไปวิเคราะห์หาฟลูออไรด์



(1)

เปิดน้ำแรง ๆ ไว้สัก 2-3 นาที



(2)

ล้างขวดเก็บตัวอย่างก่อน 2 - 3 ครั้ง



(3)



(4)

บรรจุน้ำให้เต็มขวด



(5)

ปิดฝาขวดให้แน่น

รูปที่ 1 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างน้ำ

เลขที่ตัวอย่าง

สถานที่เก็บ

บ้านเลขที่..... หมู่..... บ้าน ตำบล.....

อำเภอ..... จังหวัด

วันที่/เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่างน้ำ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง.....

รูปที่ 2 ฉลากสำหรับติดข้างขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2. อุปกรณ์และสารเคมี

2.1 สารมาตรฐานโซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) ชนิด AR เกรด (บริษัท E. Merck, Darmstadt, Germany)

2.2 เครื่องวัดปริมาณฟลูออไรด์ HACH model sension2 (Colorado, USA) และฟลูออไรด์ไฮออนซีเล็คทีฟอิเล็กโทรด (Orion, Boston, USA)

2.3 สารละลาย TISAB III (Total Ionic Strength Adjustment Buffer)

2.4 น้ำปราศจากไอออน

2.5 ไมโครปิเปต ขนาด 500 ไมโครลิตร

2.6 โวลุ่มเมตริกปิเปต ขนาด 2 มิลลิลิตร

และ 10 มิลลิลิตร

2.7 ขวดวัดปริมาตรพลาสติก ขนาด 100 มล. และ 500 มิลลิลิตร

2.8 ตลับพลาสติกใส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร

3. วิธีวิเคราะห์

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ (Stock fluoride solution) 100 พีพีเอ็ม

ซึ่งโซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) 0.1105 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน เทสารละลายใส่ในขวด

วัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายฟลูออไรด์เข้มข้น 100 พีพีเอ็ม

3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ 10 1 และ 0.1 พีพีเอ็ม

ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ 100 พีพีเอ็ม ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ 10 พีพีเอ็ม

นำสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ 10 พีพีเอ็ม มาเจือจางต่อด้วยวิธีเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ 1 พีพีเอ็ม จากนั้นเจือจางต่อไปอีกด้วยวิธีเดียวกันจะได้สารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ 0.1 พีพีเอ็ม

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์โดยฟลูออไรด์ไอออนซีเล็กทีฟอิเล็กโทรด

3.3.1 เตรียมเครื่องมือวิเคราะห์ โดยต่อขั้วอิเล็กโทรดฟลูออไรด์ไอออนเข้ากับเครื่องวัดปริมาณฟลูออไรด์ HACH model sension2 และปรับค่าตามที่กำหนดไว้ในคู่มือ

3.3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (ใช้การเทียบมาตรฐานทำลักษณะเดียวกันกับเครื่อง pH Meter) ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 0.10 พีพีเอ็ม มา 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย TISAB III ลงไป 0.2 มิลลิลิตร หมุนตลับพลาสติกไปมา เพื่อให้ตัวอย่างน้ำและสารละลาย TISAB III ผสมกันได้ดี จากนั้นนำมาเทียบมาตรฐานเครื่องวัด โดยนำอิเล็กโทรดจุ่มลงไปในสารละลายให้ท่วมขั้ววัด ใน

ระหว่างการวัดหมุน ตลับพลาสติกไปมาเบา ๆ เพื่อให้ผิวของแท่งอิเล็กโทรด สัมผัสสารละลายได้ทั่วถึง เครื่องจะแสดงความเข้มข้น 0.1 พีพีเอ็ม ถ้าความเข้มข้นที่แสดงไม่เท่ากับ 0.1 พีพีเอ็ม จะมีปุ่มให้หมุนปรับจนได้ค่าตรงกัน วัดสารละลาย มาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 1 และ 10 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ด้วยวิธีเดียวกัน

3.2.3 การวัดตัวอย่างน้ำ ปิเปตตัวอย่างน้ำมา 2 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในตลับพลาสติก และเติมสารละลาย TISAB III ลงไป 0.2 มิลลิลิตร หมุนตลับพลาสติกไปมา เพื่อให้ตัวอย่างน้ำและสารละลาย TISAB III ผสมกันได้ดี นำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณฟลูออไรด์ โดยใช้อิเล็กโทรดจุ่มลงไปในตัวอย่างน้ำให้ท่วมขั้ววัด ในระหว่างการวัด หมุนตลับพลาสติกไปมาเบา ๆ เพื่อให้ผิวของแท่งอิเล็กโทรดสัมผัสสารละลายได้ทั่วถึง อ่านค่าความเข้มข้นที่วัดได้เมื่อค่าที่วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ชั่วโมงบันทึกค่าไว้ ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่นแล้วซับด้วยกระดาษทิชชูให้แห้ง ก่อนนำไปวัดตัวอย่างน้ำต่อไป

ผลการวิเคราะห์

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในตัวอย่างน้ำประปาหมู่บ้าน จำนวน 13 แห่ง 13 ตัวอย่างในฤดูฝนและ 13 แห่ง 39 ตัวอย่างในฤดูแล้ง พบว่าตัวอย่างน้ำจากประปาแต่ละแห่งที่เก็บในฤดูฝน มีปริมาณฟลูออไรด์ระหว่าง 0.123 ถึง 0.820 พีพีเอ็ม ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้านในเขตอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน ที่เก็บตัวอย่างในฤดูฝน จำแนกตามประปาหมู่บ้าน

ที่	ประปาหมู่บ้าน	ปริมาณฟลูออไรด์ (พีพีเอ็ม , n = 1)
1	หนองใหม่	0.213
2	ห้วยแฮ้ว	0.248
3	ดอนใหม่	0.192
4	นาเลา	0.231
5	ป่าแดด	0.184
6	ภูแยง	0.196
7	น้ำโง้ง	0.193
8	ป่าเลว	0.409
9	หลวงเจริญราษฎร์	0.820
10	ป่าอ้อย	0.154
11	สบยาง	0.193
12	อภัยคีรี	0.214
13	น่านมั่นคง	0.123

ตัวอย่างน้ำจากประปาหมู่บ้านที่เก็บในฤดูหนาว มีปริมาณฟลูออไรด์เฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.201 ± 0.008 ถึง 0.888 ± 0.026 พีพีเอ็ม ดังตารางที่ 2 โดยในทั้งสองฤดู มีตัวอย่างน้ำจากประปา 11 แห่ง คิดเป็น 84.6% ที่มีปริมาณฟลูออไรด์ต่ำกว่า 0.3 พีพีเอ็ม ตัวอย่างน้ำจากประปา 1 แห่ง คิดเป็น 7.7% ที่มีปริมาณ

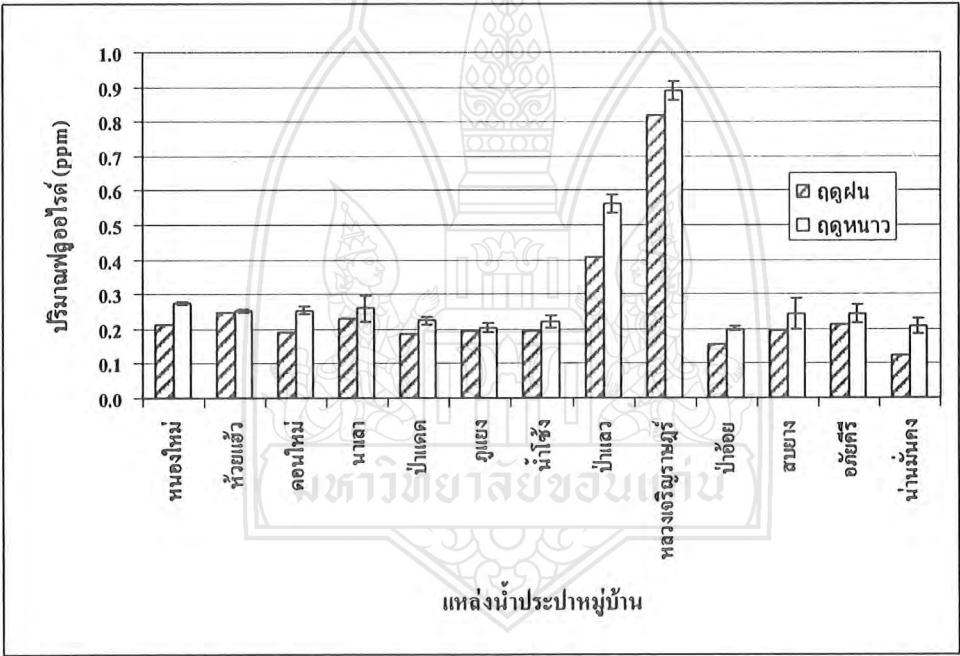
ฟลูออไรด์อยู่ระหว่าง 0.3 ถึง 0.7 พีพีเอ็ม และตัวอย่างน้ำจากประปา 1 แห่ง ที่มีปริมาณฟลูออไรด์สูงกว่า 0.7 พีพีเอ็ม เมื่อนำปริมาณฟลูออไรด์ที่พบในตัวอย่างน้ำที่เก็บในฤดูฝนและฤดูหนาวมาเปรียบเทียบกัน ได้ผลดังกราฟในรูปที่ 3

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้านในเขตอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน ที่เก็บตัวอย่างในฤดูหนาว จำแนกตามประปาหมู่บ้าน

ที่	ประปาหมู่บ้าน	ปริมาณฟลูออไรด์เฉลี่ย $\pm$ S.D. (พีพีเอ็ม , n = 9)
1	หนองใหม่	0.274 ± 0.006
2	ห้วยแฮ้ว	0.254 ± 0.004
3	ดอนใหม่	0.254 ± 0.010
4	นาเลา	0.259 ± 0.037
5	ป่าแดด	0.224 ± 0.010
6	ภูแยง	0.204 ± 0.013

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้านในเขตอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน ที่เก็บตัวอย่างในฤดูหนาว จำแนกตามประปาหมู่บ้าน (ต่อ)

ที่	ประปาหมู่บ้าน	ปริมาณฟลูออไรด์เฉลี่ย $\pm$ S.D. (พีพีเอ็ม , n = 9)
7	น้ำโช้าง	0.221 $\pm$ 0.017
8	ป่าแลว	0.561 $\pm$ 0.026
9	หลวงเจริญราษฎร์	0.888 $\pm$ 0.026
10	ป่าอ้อย	0.201 $\pm$ 0.008
11	สบบาง	0.244 $\pm$ 0.044
12	อภัยคีรี	0.245 $\pm$ 0.027
13	น่านมั่นคง	0.207 $\pm$ 0.022



รูปที่ 3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปา ในฤดูฝนและฤดูหนาว

สรุปและวิจารณ์ผล

การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้าน จากอำเภอสันติสุข จังหวัดน่าน มีการเก็บตัวอย่างน้ำในฤดูฝนเมื่อวันที่ 12 สิงหาคม 2550 จากประปาหมู่บ้านจำนวน 13 แห่ง เก็บแห่งละ 1 จุด

และเก็บตัวอย่างน้ำในฤดูหนาวเมื่อวันที่ 10 ธันวาคม 2550 จากประปาหมู่บ้าน จำนวน 13 แห่ง เก็บตัวอย่างจากประปาละ 3 จุด รวมทั้งหมด 39 ตัวอย่าง วิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์โดยใช้ฟลูออไรด์ไอออนซีเล็คทีฟ-อิเล็กโทรด พบว่า ในฤดูฝน มีปริมาณฟลูออไรด์อยู่

ในช่วง 0.123 ถึง 0.820 พีพีเอ็ม ส่วนในฤดูหนาวมีปริมาณฟลูออไรด์อยู่ในช่วง 0.201 ± 0.008 ถึง 0.888 ± 0.026 พีพีเอ็ม โดยในฤดูหนาวซึ่งเป็นช่วงที่มีปริมาณน้ำลดลง ตัวอย่างน้ำประปา 11 หมู่บ้าน มีปริมาณฟลูออไรด์เฉลี่ยต่ำกว่า 0.3 พีพีเอ็ม หมู่บ้านที่พบว่าปริมาณฟลูออไรด์สูงกว่า 0.3 พีพีเอ็ม คือ บ้านป่าแลวและบ้านหลวงเจริญราษฎร์ โดยน้ำประปาหมู่บ้านจากบ้านป่าแลวมีปริมาณฟลูออไรด์เฉลี่ย 0.561 ± 0.026 พีพีเอ็ม ซึ่งเป็นระดับที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันฟันผุและไม่ก่อให้เกิดภาวะฟันตกกระ ส่วนน้ำประปาหมู่บ้านจากบ้านหลวงเจริญราษฎร์มีปริมาณฟลูออไรด์สูงกว่า 0.7 พีพีเอ็ม ทั้งสองฤดู ปริมาณฟลูออไรด์ที่พบในตัวอย่างน้ำที่เก็บในฤดูฝน คือ 0.820 พีพีเอ็ม ส่วนในฤดูหนาวมีค่าเฉลี่ย 0.888 ± 0.026 พีพีเอ็ม ซึ่งอาจจะมีส่วนสาเหตุมาจากน้ำบาดาลที่เป็นแหล่งน้ำดิบ มีการขุดเจาะในระดับที่ลึกกว่าแหล่งน้ำดิบของประปาแห่งอื่น ๆ หรือเนื่องมาจากหมู่บ้านนี้เป็นบริเวณที่มีสายแร่ฟลูออไรด์พาดผ่าน จึงทำให้มีปริมาณฟลูออไรด์สูงกว่าหมู่บ้านอื่น

ควรมีการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในฤดูร้อนด้วย เนื่องจากปริมาณน้ำจะลดลงไปกว่านี้อาจทำให้บางหมู่บ้านมีปริมาณฟลูออไรด์สูงเกินเกณฑ์อนุโลม ซึ่งจะเพิ่มอันตรายต่อสุขภาพของผู้ที่ใช้แหล่งน้ำนี้ในการบริโภคในน้ำประปาหมู่บ้านที่พบว่าปริมาณฟลูออไรด์สูงเกิน 0.7 พีพีเอ็ม นอกจากนี้ควรมีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในแหล่งน้ำดิบเทียบกับน้ำประปา เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟลูออไรด์ที่ถูกขจัดโดยกระบวนการทำน้ำประปา เพื่อเป็นข้อมูลในการปรับปรุงกระบวนการผลิตน้ำประปาให้สามารถขจัดฟลูออไรด์ได้มากขึ้น โดยอาจใช้วิธีการกรองผ่านถ่านกระดูก (Bone Charcoal) (อลงกต, 2541) หรือการกรองด้วยระบบรีเวอร์สออสโมซิส (Reversed Osmosis)

ในพื้นที่ที่มีปริมาณฟลูออไรด์สูง หรือมีแนวโน้มที่จะมีปริมาณฟลูออไรด์สูง ควรมีการเฝ้าระวังปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำประปาหมู่บ้านอย่างต่อเนื่อง

รวมทั้งมีการให้ความรู้เรื่องประโยชน์และโทษของฟลูออไรด์และวิธีการตรวจสอบปริมาณฟลูออไรด์อย่างง่ายแก่ประชาชนอย่างทั่วถึง เพื่อที่จะได้ตระหนักถึงปัญหา และให้ความร่วมมือในการป้องกันและแก้ไขปัญหาดังกล่าว

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานทันตสาธารณสุขระหว่างประเทศ จ.เชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมอนามัย. (2543, 29 กุมภาพันธ์). เกณฑ์คุณภาพน้ำบริโภค. ประกาศกรมอนามัย.

กระทรวงอุตสาหกรรม. (2542, 13 เมษายน). กำหนดหลักเกณฑ์และมาตรการในทางวิชาการสำหรับการป้องกันด้านสาธารณสุขและป้องกันสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม.

กรมอนามัย (2545). รายงานผลการสำรวจสถานะทันตสุขภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 5 พ.ศ.2543-2544.

กรมอนามัย. (2544). ปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำบริโภคของประเทศไทย : แผนที่ฟลูออไรด์. วันที่ค้นข้อมูล 15 ตุลาคม 2550 เข้าถึงได้จาก <http://dental.anamai.moph.go.th/fluoride/waterf.asp>

ัชชาวลย์ จันทรวิจิตร. (2546). ความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการได้รับฟลูออไรด์. เชียงใหม่ : ศูนย์ทันตสาธารณสุขระหว่างประเทศ กรมอนามัย. ศูนย์ทันตสาธารณสุขระหว่างประเทศ ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพเขต 10 และศูนย์อนามัยสิ่งแวดล้อมเขต 10. (2545). ปัญหาและการแก้ไขปัญหาการได้รับฟลูออไรด์มากเกินไป สำหรับบุคลากรสาธารณสุข. เชียงใหม่: ศูนย์ทันตสาธารณสุขระหว่างประเทศ กรมอนามัย.

สุขุม ชีรดิolk. (2526). วิธีใช้ฟลูออไรด์ป้องกันฟันผุ.

กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ เสรีจำกัด

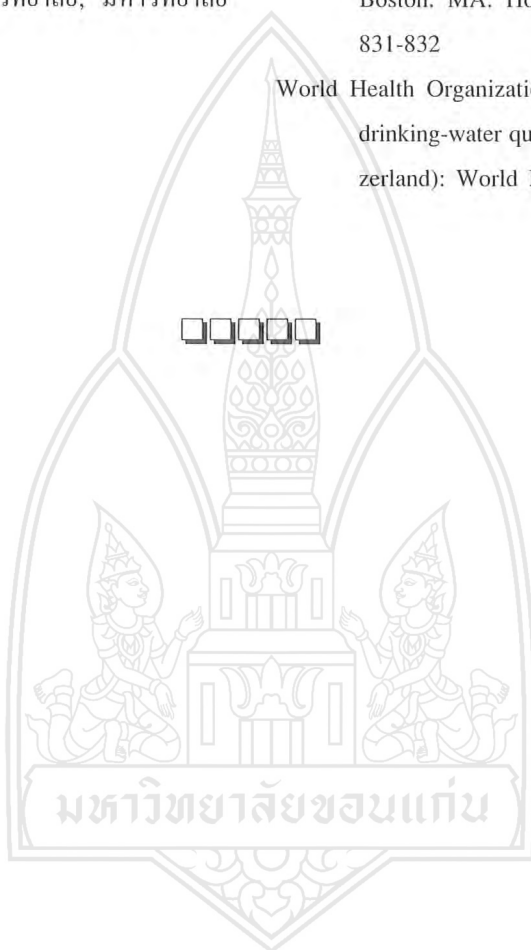
อลงกต ไชยอุปละ. (2541). ผลของความเข้มข้นของฟลูออไรด์และขนาดของถ่านกระดูกที่มีต่อการกำจัดฟลูออไรด์ในน้ำดื่ม. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Centers for Disease Control and Prevention. (1995).

Recommended Optimal Fluoride Concentrations for Public Water Supply Systems. Retrieved October 9, 2007, from <http://www.nap.edu>

Robinson, W.R. (1997). General Chemistry. (10th ed.) Boston, MA. Houghton Mifflin Company. 831-832

World Health Organization. (1996). Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Geneva (Switzerland): World Health Organization.



ผลของสารประกอบเชิงซ้อนต่อลักษณะทางสัณฐานและความต้านทาน
การกัดกร่อนของผิวเคลือบโลหะผสมนิกเกิล-ฟอสฟอรัส

Effect of Complexing Agent on Morphology and Corrosion
Resistance of Electroless Ni-P Coating

สุเมธา สุวรรณบุรณ์¹

บทคัดย่อ

ผิวเคลือบโลหะผสมนิกเกิลจากกระบวนการชุบเคลือบแบบไม่ใช้ไฟฟ้า ถูกเตรียมจากน้ำยาชุบที่ใช้ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อน พบว่าผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบที่ใช้ $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อน มีขนาดเกรนใหญ่กว่าขนาดเกรนของผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบที่ใช้ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อน ความต้านทานการกัดกร่อนของผิวเคลือบที่มีความหนา $10 \mu\text{m}$ เมื่อประเมินค่าจากกราฟ potentiodynamic polarization พบว่าผิวเคลือบที่มีขนาดเกรนใหญ่กว่ามีความต้านทานการกัดกร่อนสูงกว่าผิวเคลือบที่ประกอบด้วยเกรนที่เล็กกว่า

Abstract

Electroless nickel alloy coatings were prepared from plating bath containing $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ as complexing agent. We found that the coatings prepared from $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ bath show larger grain size comparing to the coatings prepared from $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bath. The corrosion resistance of electroless nickel coatings with the thickness of $10 \mu\text{m}$ was evaluated from a potentiodynamic polarization curve. It has been found that the coatings with larger grain size perform better corrosion resistance than that of the coating composing of smaller grain size.

คำสำคัญ: การชุบเคลือบผิวแบบไม่ใช้ไฟฟ้า สารประกอบเชิงซ้อน ความต้านทานการกัดกร่อน

Key words: electroless plating, complexing agent, corrosion resistance

¹ หลักสูตรวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

E-mail: sumetha.s@psu.ac.th

บทนำ

กระบวนการชุบเคลือบผิวแบบไม่ใช้ไฟฟ้า เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่เหมาะสำหรับการชุบเคลือบผิวทางวิศวกรรม เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถประยุกต์ใช้ได้กับผิวเคลือบหลายชนิด เช่น โลหะ โลหะผสมและวัสดุผสม เป็นต้น อีกทั้งยังสามารถใช้ชุบผิวรองรับได้หลายประเภท เช่น เหล็กกล้าคาร์บอนต่ำ อลูมิเนียมและพลาสติก เป็นต้น นอกจากนี้ การชุบเคลือบผิวแบบไม่ใช้ไฟฟ้ายังมีข้อดีเหนือกว่าการชุบเคลือบผิวแบบใช้ไฟฟ้าหลายประการ เช่น การชุบเคลือบผิวแบบไม่ใช้ไฟฟ้าไม่จำเป็นต้องใช้ตัวจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง สามารถใช้ชุบผิวรองรับที่มีรูปร่างซับซ้อนได้ ไม่ต้องใช้ที่จับชิ้นงานที่ยุ่งยาก และยังมีกำลังชุบเคลือบที่สม่ำเสมอในร่องหรือรู (Riedel, 1991)

ในทางปฏิบัติ กระบวนการชุบเคลือบผิวแบบไม่ใช้ไฟฟ้านิยมใช้ชุบผิวด้วยโลหะนิกเกิล (Ni) โดยใช้โซเดียมไฮโปฟอสไฟท์โมโนไฮดรต ($\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) เป็นตัวรีดิวส์หรือเป็นแหล่งของอิเล็กตรอนสำหรับปฏิกิริยารีดักชัน ส่งผลให้ผิวเคลือบที่เกิดขึ้นเป็นโลหะผสมระหว่างนิกเกิลกับฟอสฟอรัส (Ni-P) ทำให้ผิวเคลือบดังกล่าวมีความต้านทานการสึกหรอและความต้านทานการกัดกร่อนสูง โดยทั่วไปตัวรีดิวส์มีหลายประเภทแต่ในกระบวนการชุบเคลือบผิวด้วยเทคนิคนี้ส่วนใหญ่นิยมเลือกใช้ $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ เนื่องจากราคาถูก ละลายน้ำได้ดี และสามารถควบคุมได้ง่ายกว่าตัวรีดิวส์ชนิดอื่นๆ เป็นต้น (Gawrilov, 1979)

นักวิจัยหลายท่านได้ทำการศึกษาระบบการชุบเคลือบผิวนิกเกิล พบว่า องค์ประกอบของผิวเคลือบที่เตรียมได้จะส่งผลโดยตรงต่อสมบัติที่จะศึกษา ซึ่งองค์ประกอบของผิวเคลือบโดยทั่วไปอาจจะขึ้นกับ pH ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ ชนิดของสารประกอบเชิงซ้อนและอุณหภูมิของน้ำยาชุบเคลือบ (Ashassi-Sorkhabi et al, 2004, Baskaran et al, 2006) ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาผลของไตรโซเดียมซिटเรดไดไฮดรต ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) และไกลซีน ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่นิยมใช้เนื่องจากให้กำลังชุบเคลือบสูง อย่างไรก็ตามงานวิจัยส่วนใหญ่มักศึกษาผลของสารดังกล่าวร่วมกับสารเพิ่มความเสถียรอื่นๆ ภายใต้สถานะที่น้ำยาชุบมีความเป็นกรดหรือด่างมากๆ (Ashassi-Sorkhabi et al, 2004, Balaraju et al, 2007) ดังนั้นงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาผลของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าว ในสถานะที่ไม่มีการเติมสารเพิ่มความเสถียรภาพอื่นๆ ในระบบที่ pH เท่ากับ 6 และ 7 ที่อุณหภูมิ 70°C เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการเลือกใช้น้ำยาชุบที่มีสถานะเป็นกลาง นอกจากนี้ที่สถานะดังกล่าวการเปลี่ยนแปลงของ pH เกิดขึ้นน้อยกว่าการใช้ น้ำยาชุบที่เป็นด่างมากๆ ทำให้การควบคุมระบบที่เลือกใช้ในการศึกษาครั้งนี้ทำได้ง่ายกว่าและยังประหยัดกว่าอีกด้วย

สารเคมี เครื่องมือและวิธีการทดลอง

1. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย นิกเกิลซัลเฟตเฮปตะไฮดรต ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Fluka), โซเดียมไฮโปฟอสไฟท์โมโนไฮดรต ($\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Fluka), ไตรโซเดียมซिटเรดไดไฮดรต ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, HBD), ไกลซีน ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$, Fluka), แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH , Lab-Scan), กรดไฮโดรคลอริก (HCl , Lab-Scan) และโซเดียมคลอไรด์ (NaCl , Carlo Erba)

2. เครื่องมือ

เครื่องมือที่ใช้มีดังนี้ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM, JSM-5800 LV), dispersive X-ray spectroscopy (EDS, Oxford ISIS 300) และเครื่องวัดความต้านทานการกัดกร่อน (AUTOLAB PGSTAT 30)

3. วิธีการทดลอง

1) เตรียมน้ำยาชุบเคลือบผิวปริมาตร 350 mL ในบีกเกอร์ขนาด 600 mL โดยความเข้มข้นและเงื่อนไขทั้งหมดที่ใช้แสดงดังตารางที่ 1

2) ให้ความร้อนแก่น้ำยาชุบจนอุณหภูมิเป็น 70°C และปรับ pH ของน้ำยาชุบด้วยสารละลาย NH_4OH เจือจางให้ได้ pH ตามที่ต้องการ ระหว่างการทดลองสารละลายถูกคนตลอดเวลาด้วยแท่งแม่เหล็ก

3) นำเหล็กกล้าคาร์บอนต่ำขนาด $6 \times 6 \text{ cm}^2$ ที่ใช้เป็นผิวรองรับมาทำความสะอาดและกัดด้วยกรด HCl เข้มข้น 2M เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นจึงล้างด้วยน้ำ อะซิโตนและทำให้แห้ง

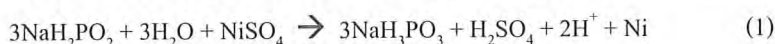
4) นำผิวรองรับที่ผ่านการเตรียมผิวแล้วมาชุบในน้ำยาที่เตรียมไว้ในข้อ 2) ให้ความหนาประมาณ $10 \mu\text{m}$ และระหว่างการชุบเคลือบผิว pH ของน้ำยาชุบจะลดลงให้ปรับ pH ของน้ำยาชุบด้วยสารละลาย NH_4OH เจือจาง เนื่องจากสารละลาย NH_4OH เจือจางไม่ส่งผลต่อเสถียรภาพของน้ำยาชุบมากนักกล่าวคือแอมโมเนียจะทำให้หน้าที่เป็นลิแกนด์จับโลหะ निकเกิด แต่แอมโมเนียที่หยดนั้นน้อยมากทำให้น้ำยาชุบไม่เกิดการตกตะกอน การวิจัยครั้งนี้ไม่เลือกใช้สารละลาย NaOH เนื่องจากไอออน Ni^{2+} จะทำปฏิกิริยากับไอออน OH^- เกิดตะกอนของ $\text{Ni}(\text{OH})_2$ ส่งผลให้น้ำยาชุบไม่สามารถใช้งานได้อีกต่อไป

5) หลังจากชุบเคลือบผิวเสร็จแล้ว นำผิวเคลือบที่เตรียมได้มาล้างด้วย น้ำ อะซิโตนและทำให้แห้ง ก่อนที่จะนำไปศึกษาสมบัติต่างๆ

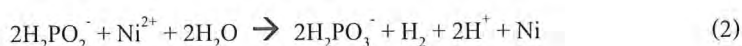
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ลักษณะทางสัณฐานและองค์ประกอบของผิวเคลือบ

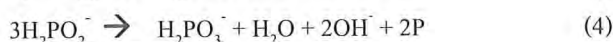
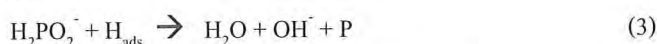
เมื่อทำการชุบเคลือบผิวรองรับเหล็กกล้าคาร์บอนต่ำด้วยน้ำยาชุบที่มีองค์ประกอบและเงื่อนไขการชุบเคลือบดังกล่าวแล้วข้างต้น ระหว่างการชุบเคลือบผิวจะเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ดังนี้ (Riddel, 1991)



หรือ



และปฏิกิริยาข้างเคียงอื่นๆ ดังนี้

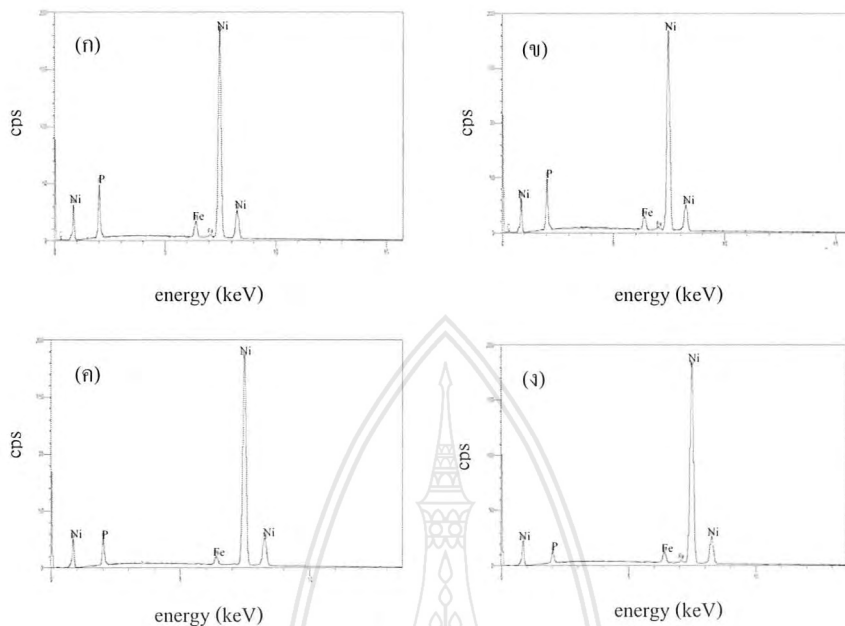


ปฏิกิริยาทั้งหมดจะเกิดขึ้นพร้อมๆ กัน ดังนั้นปริมาณของ Ni และ P ที่เข้าเคลือบจะขึ้นกับองค์ประกอบของน้ำยาชุบ pH และอุณหภูมิ ซึ่งภายใต้เงื่อนไขต่างๆ ไปในการศึกษาพบว่าปฏิกิริยาที่ (3) และ (4) จะเกิดได้ช้ากว่าปฏิกิริยาที่ (1) หรือ (2) มาก ดังนั้นปริมาณ P ในผิวเคลือบจะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ของน้ำยาชุบลดลง ซึ่งจะเห็นได้จากข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 2 เมื่อนำผิวเคลือบที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุองค์ประกอบด้วยเครื่อง energy dispersive spectroscopy ดังแสดงในรูปที่ 1

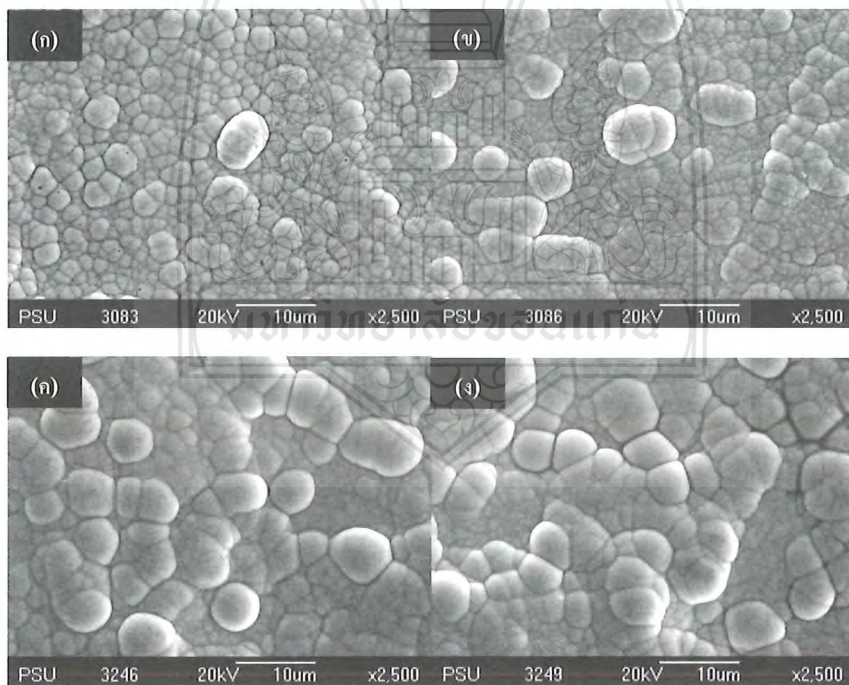
เมื่อนำผิวเคลือบที่เตรียมได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานของผิวเคลือบด้วย SEM ดังแสดงในรูปที่ 2 พบว่า ขนาดเกรนของผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบ A เล็กกว่าเกรนของผิวเคลือบที่เตรียมได้จากน้ำยาชุบ B โดยผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบ A มีขนาดเกรนเฉลี่ยเมื่อวิเคราะห์ด้วย SEM ประมาณ 2.22 และ 2.80 μm เมื่อเตรียมที่ pH เท่ากับ 6 และ 7 ตามลำดับ ในขณะที่ผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบ B มีขนาดเกรนเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันประมาณ 4.77 μm เมื่อเตรียมที่ pH เท่ากับ 6 และ 7 และจากการศึกษาพบว่าปริมาณ P ในผิวเคลือบมีความสัมพันธ์กับขนาดเกรนของผิวเคลือบ คือ ผิวเคลือบที่มีปริมาณ P สูงกว่าจะมีขนาดเกรนเฉลี่ยเล็กกว่า ซึ่งจะเห็นได้จากผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบ A ซึ่งมีปริมาณ P เป็นองค์ประกอบในผิวเคลือบสูงกว่าผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบ B ส่งผลให้ผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบ A มีขนาดเกรนเฉลี่ยที่เล็กกว่า เนื่องจากเมื่อพิจารณาจากรัศมีอะตอมของธาตุทั้งสอง พบว่ารัศมีอะตอมของ Ni ($r = 1.62 \text{ \AA}$) แตกต่างจากรัศมีอะตอมของ P ($r = 1.23 \text{ \AA}$) ดังนั้น เมื่อ P เข้าแทนที่ Ni ในโครงสร้าง fcc ทำให้โครงสร้างผลึกของ Ni เกิดการบิดเบี้ยวและการเข้าแทนที่ของ P เหล่านี้จะทำให้เกิดแรงหน่วงที่ด้านการไถของเกรน ทำให้การไถของเกรนถูกยับยั้ง (Lu et al, 2002)

ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบของน้ำยาชุบและเงื่อนไขที่ใช้ในการชุบเคลือบผิว

องค์ประกอบของน้ำยาชุบและเงื่อนไข	A	B
$\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (g/L)	14.04	14.04
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (g/L)	17.70	17.70
$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (g/L)	29.41	-
$\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ (g/L)	-	7.51
อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	70	70
pH	6-7	6-7



รูปที่ 1 แสดงข้อมูลจาก EDS ของผิวเคลือบจากน้ำยาชุบเงื่อนไขต่างๆ โดยใช้ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (ก) pH 6 และ (ข) pH 7 และเมื่อใช้ $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (ค) pH 6 และ (ง) pH 7



รูปที่ 2 แสดงรูปร่างและขนาดเกรนของผิวเคลือบจากน้ำยาชุบเงื่อนไขต่างๆ โดยใช้ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (ก) pH 6 และ (ข) pH 7 และเมื่อใช้ $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (ค) pH 6 และ (ง) pH 7

2. ความต้านทานการกัดกร่อน

ความต้านทานการกัดกร่อนของผิวเคลือบที่เตรียมได้จะถูกทดสอบในสารละลาย 5 wt% NaCl โดยชิ้นงานที่นำมาทดสอบมีพื้นที่สัมผัสสารละลาย $1 \times 1 \text{ cm}^2$ ซึ่งผลการวัดโพราไรเซชันแสดงดังรูปที่ 3

อัตราการกัดกร่อน (CR) สามารถคำนวณได้จากกฎของฟาราเดย์ ตามสมการที่ (5) (Balaraju et al, 2006) และผลการคำนวณแสดงในตารางที่ 2

$$CR = K \left[\frac{i_{corr}}{\rho_{Ni-P}} \right] EW_{Ni-P} \quad (5)$$

เมื่อ CR คือ อัตราการกัดกร่อนของผิวเคลือบ (mm/year)

K คือ ค่าคงที่ ($3.27 \times 10^{-3} \text{ mmg}/\mu\text{A.cm.year}$)

i_{corr} คือ ความหนาแน่นของกระแสกัดกร่อน

ρ_{Ni-P} คือ ความหนาแน่นของผิวเคลือบที่เตรียมได้

EW_{Ni-P} คือ น้ำหนักสมมูลของผิวเคลือบที่เตรียมได้ ซึ่งสามารถคำนวณได้จากความสัมพันธ์ในสมการที่ (6)

$$EW_{Ni-P} = \frac{w_{Ni} \cdot x \cdot w_P}{[(f_{Ni} \cdot x \cdot w_P) + (f_P \cdot x \cdot w_{Ni})]} \quad (6)$$

เมื่อ w_{Ni} และ w_P คือ น้ำหนักสมมูลของโลหะ Ni และ P ตามลำดับ ซึ่งสามารถหาได้จากสมการที่ (7)

f_{Ni} และ f_P คือ สัดส่วนของ Ni และ P ในผิวเคลือบเมื่อ ($f_{Ni} + f_P = 1$)

$$w = \frac{e}{n} \quad (7)$$

เมื่อ e คือ น้ำหนักอะตอม

n คือ วาเลนซ์ของแต่ละธาตุ

$$f_{Ni} = \frac{Ni(wt\%)}{[(Ni(wt\%)) + P(wt\%)]} \quad (8)$$

$$f_P = \frac{P(wt\%)}{[(Ni(wt\%)) + P(wt\%)]} \quad (9)$$

เมื่อ $Ni(wt\%)$ คือ ร้อยละโดยน้ำหนักของโลหะนิกเกิลในผิวเคลือบ

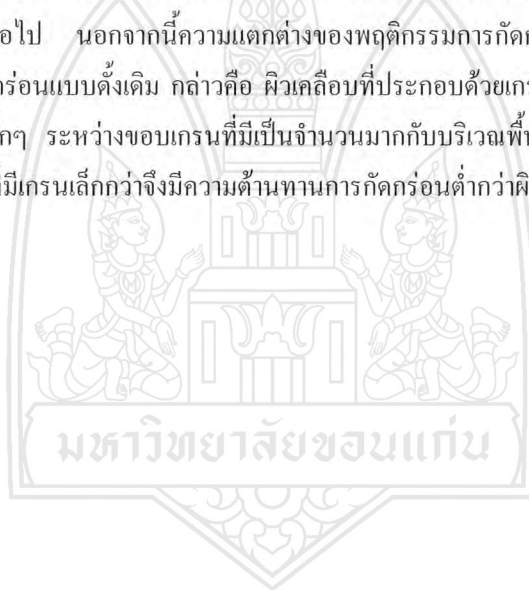
$P(wt\%)$ คือ ร้อยละโดยน้ำหนักของฟอสฟอรัสในผิวเคลือบ

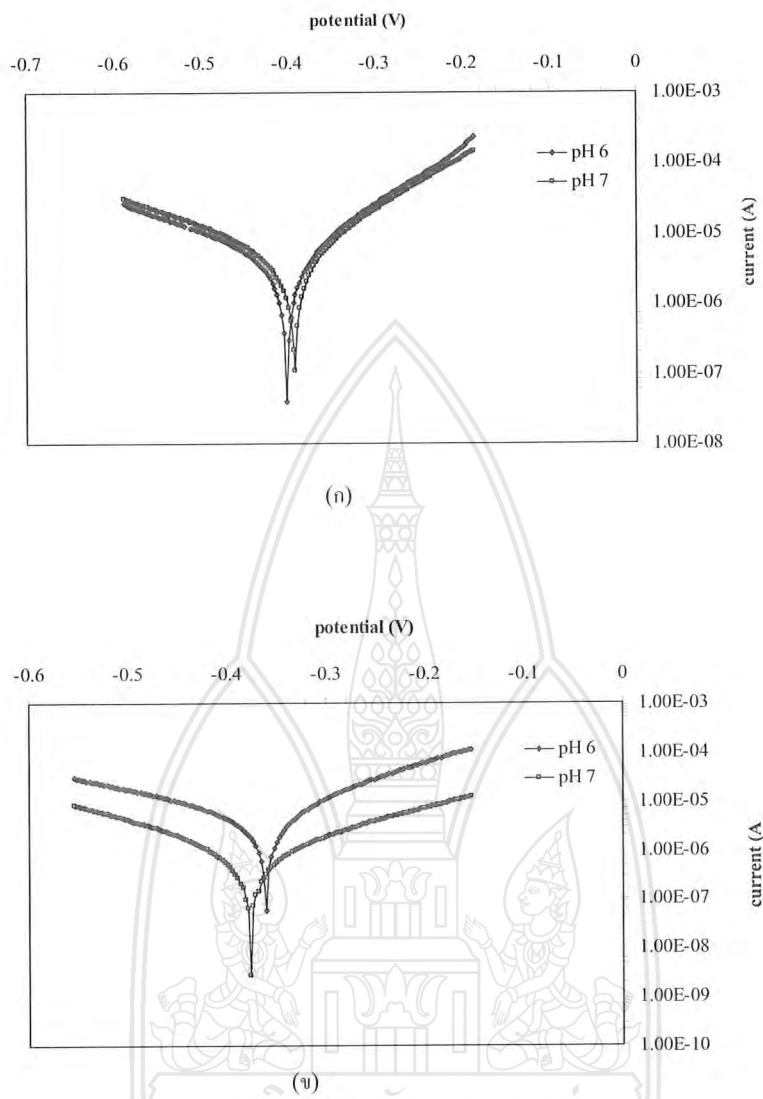
และความหนาแน่นของผิวเคลือบสามารถคำนวณได้จาก

$$\rho_{Ni-P} = \frac{\rho_{Ni} \times \rho_P}{[(f_{Ni} \times \rho_P) + (f_P \times \rho_{Ni})]} \quad (10)$$

เมื่อ ρ_{Ni} และ ρ_P คือ ความหนาแน่นของ Ni (8.908 g/cm³) และ P (1.83 g/cm³) ตามลำดับ

จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ความหนาแน่นของกระแสการกัดกร่อนลดลงและศักย์ไฟฟ้าของการกัดกร่อนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (ความต้านทานการกัดกร่อนเพิ่มขึ้น) เมื่อผิวเคลือบมีปริมาณ P เป็นองค์ประกอบ 1.71 wt% ในขณะที่ผิวเคลือบที่มีปริมาณ P เป็นองค์ประกอบตั้งแต่ 3.48-6.73 wt% นั้นมีค่าความหนาแน่นของกระแสการกัดกร่อนและศักย์ไฟฟ้าของการกัดกร่อนที่ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากผิวเคลือบที่มีปริมาณ P เป็นองค์ประกอบ 1.71 wt% มีความหนาแน่นของผิวเคลือบสูงทำให้สารละลายเข้าไปกัดกร่อนได้ยากกว่าผิวเคลือบที่มีความหนาแน่นต่ำ ทำให้ผิวเคลือบที่มีความหนาแน่นสูงกว่ามีความต้านทานการกัดกร่อนที่ดีกว่า อย่างไรก็ตามยังไม่มีกรารายงานผลความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของผิวเคลือบโลหะผสม Ni-P จากการชุบเคลือบผิวด้วยเทคนิคนี้ต่อความต้านทานการกัดกร่อนมาก่อนซึ่งผู้วิจัยจะได้ทำการศึกษาผลของปัจจัยดังกล่าวอย่างละเอียดต่อไป นอกจากนี้ความแตกต่างของพฤติกรรมการกัดกร่อนของผิวเคลือบยังสามารถอธิบายได้ด้วยทฤษฎีการกัดกร่อนแบบดั้งเดิม กล่าวคือ ผิวเคลือบที่ประกอบด้วยเกรนขนาดเล็กจะมีการเร่งให้เกิดเซลล์ไฟฟ้าเคมีเป็นบริเวณเล็กๆ ระหว่างขอบเกรนที่มีเป็นจำนวนมากกับบริเวณพื้นที่ภายในเกรน (GaO et al, 2004) ดังนั้น ผิวเคลือบที่มีเกรนเล็กกว่าจึงมีความต้านทานการกัดกร่อนต่ำกว่าผิวเคลือบที่ประกอบด้วยเกรนที่ใหญ่กว่า





รูปที่ 3 แสดงกราฟ potentiodynamic polarization ในสารละลาย 5 wt% NaCl ของผิวเคลือบที่เตรียมที่ pH 6 และ 7 เมื่อใช้สารประกอบเชิงซ้อนที่ต่างกัน (ก) $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ (ข) $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของผิวเคลือบและข้อมูลการกัดกร่อน

น้ำยาชุบ	pH	องค์ประกอบ (wt%)		w_{Ni}	w_{P}	f_{Ni}	f_{P}	$\rho_{\text{Ni-P}}$	$\text{EW}_{\text{Ni-P}}$	i_{corr} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	$-E_{\text{corr}}$ (V)	CR (mm/year)
		Ni	P									
A	6	93.27	6.73	29.35	6.19	0.9327	0.0673	7.07	23.45	5.213	0.401	5.65×10^{-2}
	7	93.31	6.69			0.9331	0.0669	7.08	23.47	5.371	0.400	5.82×10^{-2}
B	6	96.52	3.48	29.35	6.19	0.9652	0.0348	7.89	25.97	5.389	0.361	5.80×10^{-2}
	7	98.29	1.71			0.9829	0.0171	8.36	27.60	1.470	0.338	1.59×10^{-2}

(อัตราการกัดกร่อนของผิวทองรับ = $1.902 \times 10^{-1} \text{ mm/year}$)

สรุปผลการวิจัย

จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า

1. ปริมาณ P ในผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบที่ใช้ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนเปลี่ยนแปลงตาม pH น้อยมาก ในขณะที่ผิวเคลือบที่เตรียมจากน้ำยาชุบที่ใช้ $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนนั้นปริมาณ P ในผิวเคลือบจะเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง
2. ความต้านทานการกัดกร่อนของผิวเคลือบในการศึกษาครั้งนี้ขึ้นกับความหนาแน่นของผิวเคลือบ กล่าวคือ ผิวเคลือบที่มีความหนาแน่นสูงกว่าจะมีความต้านทานการกัดกร่อนดีกว่า และผิวเคลือบที่ประกอบด้วยเกรนขนาดใหญ่จะมีความต้านทานการกัดกร่อนสูงกว่าผิวเคลือบที่ประกอบด้วยเกรนขนาดเล็ก

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ ภายใต้โครงการวิจัย สัญญาเลขที่ SCI50200200190S และขอขอบคุณนางสาวจุฑารัตน์ ไยทองคำและนายอภิชาติ บางรักษ์ ที่ได้ช่วยเตรียมผิวเคลือบในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Ashassi-Sorkhabi, H. and Rafizadeh, S.H. (2004). Effect of coating time and heat treatment on structures and corrosion characteristics of electroless Ni-P alloy deposits. *Surface and Coatings Technology*. 176: 318-326.
- Balaraju, J.N., Jahan, S.M., Jain, A. and Rajam, K.S. (2007). Structure and phase transformation behavior of electroless Ni-P alloys containing tin and tungsten. *Journal of Alloys and Compounds*. 436: 319-327.
- Balaraju, J.N., Selvi, V.E., Grips, V.K.W. and Rajam, K.S. (2006). Electrochemical studies on electroless ternary and quaternary Ni-P based alloys. *Electrochimica Acta*. 52: 1064-1074.
- Gao, Y., Zheng, Z.J., Zhu, M. and Luo, C.P. (2004). Corrosion resistance of electrolessly deposited Ni-P and Ni-W-P alloys with various structures. *Materials Science and Engineering A*. 381: 98-103.
- Gawrilov, G.G. (1979) *Chemical(electroless) nickel-plating*. Great Britain: Portcullis Press. 18-23.
- Lu, G. and Zangari, G. (2002). Corrosion resistance of ternary Ni-P based alloys in sulfuric acid solutions, *Electrochimica Acta*. 47: 2969-2979.
- Riedel, W. (1991). *Electroless nickel plating*. Hertfordshire: Finishing Publications Ltd. 17-205.



ไนเตรชันของไดเบนซอลอะซิโตน Nitration of Dibenzalacetone

กิตติ อมรรักษ์^{1*} และ กิตติรัฐ รุจนพจน์¹

บทคัดย่อ

อิเล็กโตรฟิลิกไนเตรชันของไดเบนซอลอะซิโตน (ชาโลน) ภายใต้สภาวะปกติ (กรดไนตริกเข้มข้นและกรดซัลฟูริกเข้มข้น) และภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง (กรดไนตริกเข้มข้นและกรดอะซิติก) ไม่เพียงแต่เกิดโมโนไนเตรชันที่ตำแหน่งพาราของวงเบนซีน และยังให้โพลีไนเตรชันที่ตำแหน่งออร์โท และพารา นอกจากนี้ ยังเกิดออกซิเดทีฟคลีฟเวจของผลิตภัณฑ์ไนเตรชันตรงพันธะคู่ ให้ 4-ไนโตรเบนซัลดีไฮด์และ 2-ไนโตรเบนซัลดีไฮด์ตามลำดับ แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรงผลิตภัณฑ์ที่ได้เหมือนสารภายใต้สภาวะปกติ ยกเว้นการออกซิเดทีฟคลีฟเวจของพันธะคู่ สารประกอบทุกตัวตรวจสอบโดยใช้อินฟราเรดและ เอ็นเอ็มอาร์ สเปกโตรสโกปี

คำสำคัญ : ไดเบนซอลอะซิโตน (ชาโลน), อิเล็กโตรฟิลิกไนเตรชัน, ออกซิเดทีฟคลีฟเวจ

Abstract

Electrophilic nitration of dibenzalacetone (chalcone) under classical condition ($\text{HNO}_3\text{conc}/\text{H}_2\text{SO}_4\text{conc}$) and mild condition ($\text{HNO}_3\text{conc}/\text{AcOH}$) yield not only mono-nitration on para position of benzene ring but also poly-nitration on ortho and para position. Furthermore, oxidative cleavage of nitration products on double bond gives 4-nitrobenzaldehyde and 2-nitrobenzaldehyde, respectively. The products from the mild condition (HNO_3/AcOH) was similar to classical condition except no oxidation cleavage of double bond. All products was confirmed by IR and NMR spectroscopy.

Keywords : Dibenzalacetone(chalcone), electrophilic nitration, oxidative cleavage

¹ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี 12121

* Corresponding author, E-mail: kitamor@hotmail.com

บทนำ

ไนเตรชันเป็นกระบวนการใส่หมู่ฟังก์ชันไนโตร (-NO_2) เข้าไปในโมเลกุลสารอินทรีย์หรือสารประกอบอะโรมาติก โดยการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่อิเล็กโทรฟิลิกของไนโตรเนียมไอออน (NO_2^+) ปฏิกิริยานี้ได้มีการดัดแปลงใช้ศึกษากับสารอินทรีย์กันอย่างกว้างขวาง และมีบทบาทสำคัญในการประยุกต์กับอุตสาหกรรมการผลิตสารประกอบไนโตรและอนุพันธ์ต่างๆ (Glah et.al., 1989; Schofield, 1980) ทั้งนี้ เพราะว่า สารประกอบอะโรมาติก หรืออนุพันธ์ของสารประกอบที่เกิดขึ้นสามารถใช้เป็นสารมัธยันตร์ในการสังเคราะห์วัสดุอินทรีย์มากมาย ตัวอย่าง เช่น น้ำหอม ยาฆ่าแมลง สีย้อม พลาสติก ยา และวัตถุระเบิด อย่างไรก็ตาม ในการทำไนเตรชันโดยใช้กรดไนตริกเพียงอย่างเดียว การเกิดไนโตรเนียมไอออนไม่เป็นสัดส่วนกับกรดไนตริกสารเคมีที่ใช้ ดังนั้น การทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น อาจทำได้โดยการเติมกรดตัวที่สองลงไป ซึ่งในที่นี้อาจเป็นกรดแก่ เช่น กรดซัลฟูริก หรือเป็นกรดอินทรีย์ซึ่งเป็นกรดอ่อน ได้แก่ กรดอะซิติก (AcOH) ตัวอย่างระบบสารเคมีที่ใช้ในการทำไนเตรชันบางชนิดแสดงใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงสารบางชนิดที่ใช้เป็นอิเล็กโทรฟิลิกไนเตรตติง (electrophilic nitrating agent)

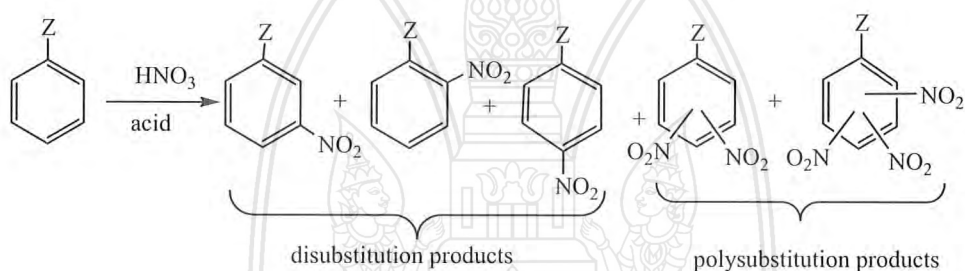
แหล่งกำเนิดไนโตรเนียมไอออน	ตัวเร่งที่เป็นกรด
กรดไนตริก	กรดซัลฟูริก กรดโพลิฟอสฟอริก กรดเปอร์คลอริก กรดอะซิติก ไฮโดรเจนเฮไลด์ กรดลิวิส กรดซัลโฟนิค
โลหะไนเตรต	กรดลิวิส กรดไตรฟลูออโรอะซิติก
อัลคิลไนเตรต	กรดซัลฟูริก กรดลิวิส
ออกไซด์ของไนโตรเจน	กรดซัลฟูริก กรดลิวิส
ไนโตรซิล ฮาไลด์	กรดลิวิส

สาร Dibenzalacetone (chalcone) (Charles. and Dolliver, 1943) หรือเรียก (1E,4E)-1,5-diphenylpenta-1,4-dien-3-one สังเคราะห์จากปฏิกิริยา crossed aldol condensation (Claisen-Schmidt reaction) ระหว่าง benzaldehyde และ acetone ในสารละลาย sodium hydroxide กับ ethanol ตำแหน่งพันธะคู่ทั้งสองของผลิตภัณฑ์แสดงค่าคลิฟิง ($J_{\text{H,H}}=16\text{Hz}$) ซึ่งเป็นรูปลักษณะตรงพันธะคู่ของ trans, trans isomer ตามรูปที่ 1



รูปที่ 1 การเตรียม dibenzalacetone

สารประกอบอะโรมาติกให้ปฏิกิริยาการแทนที่อิเล็กโตรฟิลิกอะโรมาติก (Solomons, and Frhle, (2008)) เช่น ปฏิกิริยาไนเตรชัน โดยการรีฟลักซ์ กับกรดซัลฟูริก เข้มข้น และกรดไนตริกเข้มข้น ที่ 50°C หมู่แทนที่บนสารประกอบอะโรมาติกจะมีบทบาทต่อการเข้าเกาะของอิเล็กโตรไฟล์ตัวใหม่ ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของหมู่แทนที่ตัวแรก หมู่แทนที่ที่ให้อิเล็กตรอนแก่ระบบจะให้อิเล็กโตรไฟล์ ตัวใหม่เข้าเกาะที่ตำแหน่งออร์โท (ortho) หรือพารา (para) ส่วนหมู่แทนที่ดึงอิเล็กตรอนออกจากกระบบ จะให้อิเล็กโตรไฟล์ตัวใหม่เข้าเกาะที่ตำแหน่งเมตา (meta) นอกจากนี้ inductive effect และ steric effect เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเข้าเกาะของอิเล็กโตรไฟล์ตัวใหม่ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ความเป็นไปได้ของผลิตภัณฑ์ภายใต้อิทธิพลของหมู่แทนที่ Z

จาก รูปที่ 1 Dibenzalacetone มีหมู่ฟังก์ชันที่น่าสนใจสำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป คือ พันธะคู่ ที่สามารถเกิดปฏิกิริยาแบบเติม หรือการเกิดผลิตภัณฑ์อื่นในส่วนเกี่ยวกับหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนได้ต่อไป ดังนั้น ถ้านำผลิตภัณฑ์นี้มาทำไนเตรชัน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในวงแหวนเบนซีนจะเป็นปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยอิเล็กโตรไฟล์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำไนเตรชันของสารประกอบอินทรีย์ได้มีรายงานจำนวนมาก ระบบสารอิเล็กโตรฟิลิกไนเตรดที่ใช้ทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์อะโรมาติกและเฮเทอโรไซเคิล มีหลายแบบ เช่น $\text{HNO}_3/\text{CH}_3\text{CN}$ (Keawin et al., 2005) หรือ ammonium molybdate และ HNO_3 (Sana et al., 2000) หรือภายใต้สภาวะแบบผสมวิวิธพันธ์ (heterogeneous) (Zolfigol, et al.,

2001) ที่ไม่รุนแรงด้วยส่วนผสมของ $\text{Mg}(\text{HSO}_4)_2$ หรือ $\text{NaHSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaNO_3 และ SiO_2 ที่ขึ้นในตัวทำละลายอินทรีย์ที่อุณหภูมิห้อง

ในปฏิบัติการวิชาเคมีอินทรีย์พื้นฐานทั่วไป ปฏิกริยาไนเตรชันจัดเป็นปฏิกริยาหนึ่งที่สำคัญและกำหนดให้นักศึกษาทำการทดลองเพื่อเพิ่มทักษะในการเรียนรู้การสังเคราะห์การแยก และตรวจสอบผลิตภัณฑ์สารอินทรีย์ที่เป็นไปได้ แม้ว่าเทคนิคการใส่หมู่ไนโตรเข้าไปในโมเลกุลสารอินทรีย์มีหลากหลายวิธี แต่การตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากเทคนิคพื้นฐานที่ใช้กันทั่วไปของปฏิกริยารายงานเพียงบางส่วน ส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์หลัก ขณะที่ภาวะการทดลองเปลี่ยนไป ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงด้วย ผู้ทำการวิจัยจึงมีความสนใจให้ปฏิกริยาไนเตรชันของ Dibenzalacetone เป็นต้นแบบในการศึกษาผลิตภัณฑ์ที่เป็นไปได้โดย มุ่งศึกษาเฉพาะปฏิกริยาไนเตรชันโดยใช้ $\text{HNO}_3\text{conc} / \text{H}_2\text{SO}_4\text{conc}$ หรือ $\text{HNO}_3\text{conc} / \text{AcOH}$ และคาดว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ใหม่อาจประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้

การทดลอง

ตอนที่ 1 ไนเตรชันด้วย conc.HNO_3 กับ $\text{conc.H}_2\text{SO}_4$

หยดสารผสมที่เย็นของ HNO_3 เข้มข้น กับ H_2SO_4 เข้มข้น อย่างละ 10 ml ลงในสารละลาย CH_2Cl_2 ซึ่งมี dibenzalacetone (2.34g, 1mmol) ที่อุณหภูมิ $0-5^\circ\text{C}$ ระหว่างหยดจะเกิดควันสีน้ำตาลของแก๊ส NO_2 หลังจากนั้น ตั้งทิ้งไว้แล้วปล่อยให้ปฏิกริยาดำเนินต่อจนถึงอุณหภูมิห้องประมาณ 1 วัน นำสารผสมของปฏิกริยาในชั้น CH_2Cl_2 มาทำให้เป็นกลางด้วย 5% Na_2CO_3 ล้างอีกครั้งด้วยสารละลาย NaCl อิ่มตัว แยกชั้น CH_2Cl_2 แล้วนำเข้าเครื่อง rotary-evaporator จะเหลือสารละลายเหนียวข้น ซึ่งแยกต่อโดยคอลัมน์โครมาโตกราฟี (column chromatography) ด้วยตัวชะ (Ethyl acetate 0-10% : Hexane 100-90%) และตามด้วย preparative thin layer chromatography (developing solvent : Ethyl acetate : Hexane = 1: 9) ได้ (1E,4E)-1,5-bis(2,4,6-trinitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (**1a**) m.p. $126-128^\circ\text{C}$ (27 %) ^1H NMR (CDCl_3) (δ): 7.68 (d, $J=14\text{Hz}$, 2H) ; 7.85 (m, $J=14.2\text{Hz}$, 2H), 8.25(s, 1H), 8.28(s, 1H , 8.31(s, 1H), 8.35(s, 1H) ; FTIR (nujol) (ν) 1348, 1530 , 1694, 740, 708 cm^{-1}

(1E,4E)-1,5-bis(4-nitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (**1b**) m.p. $112-115^\circ\text{C}$ (10 %) ^1H NMR (CDCl_3) (δ): 7.48 (dd) [(d, $J=15.6\text{ Hz}$, 2H); (d, $J=7.6\text{ Hz}$, 2H)]; 7.62 (d, $J=14.8\text{ Hz}$, 2H) 8.13 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 4H); FTIR (nujol) (ν) 1377 , 1582 , 1703 , 805 cm^{-1}

4-nitrobenzaldehyde (**1c**) m.p. $106-108^\circ\text{C}$ (lit. $103-106^\circ\text{C}$) (39.%) ^1H NMR (CDCl_3) (δ): 8.1 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 2H) ; 8.4 (d, $J= 8.6\text{Hz}$, 2H); 10.15 (s, 1H); FTIR (nujol) (ν) 1342, 1537, 1700, 820 cm^{-1}

2-nitrobenzaldehyde (**1d**) m.p. $41-45^\circ\text{C}$ (lit. 43°C) (7.%) ^1H NMR (CDCl_3) (δ): 7.8 (m, 2H) 7.95 (d, $J= 8\text{ Hz}$, 1H) ; 8.1 (d, $J= 8.2\text{Hz}$, 1H) 10.4 (s, 1H) FTIR (nujol) (ν) 1345 , 1541 , 1705 , 835 cm^{-1}

ตอนที่ 2 ไนเตรชันด้วย HNO_3 เข้มข้น กับ AcOH

หยดสารผสมของ HNO_3 เข้มข้น 10 ml กับ AcOH 10 ml ลงในสารละลาย CH_2Cl_2 ที่อุณหภูมิ $0-5^\circ\text{C}$ ซึ่งมี dibenzalacetone (2.34g, 1 mmol) จะเกิดควันสีน้ำตาลซึ่งเป็นแก๊ส NO_2 หลังจากนั้นปล่อยให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไปจนถึงอุณหภูมิห้องประมาณ 1 วัน นำชั้น CH_2Cl_2 มาล้างด้วย Na_2CO_3 5% จนเป็นกลาง ตามด้วยสารละลาย NaCl อิ่มตัว แยกชั้น CH_2Cl_2 แล้วเข้าเครื่อง rotary-evaporator จะเหลือสารละลายเหนียวข้นซึ่งแยกต่อโดยคอลัมน์โครมาโตกราฟีด้วยตัวชะ (Ethyl acetate 0-10% : Hexane 100-90%) ตามด้วย preparative thin layer chromatography (Ethyl acetate : Hexane=1:9) ได้

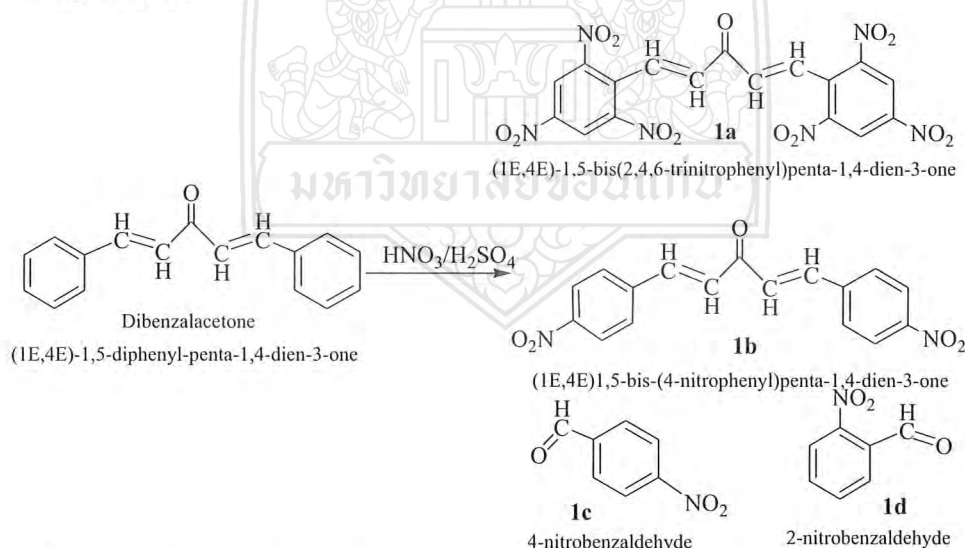
(1E,4E)-1,5-bis(2,4,6-trinitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (**1a**) m.p. $126-128^\circ\text{C}$ (16.%) และ

(1E,4E)-1,5-bis-(4-nitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (**1b**) m.p. $112-115^\circ\text{C}$ (51.%)

ผลการทดลอง และวิจารณ์

ตอนที่ 1 ไนเตรชันของ Dibenzalacetone ด้วย HNO_3 เข้มข้น กับ H_2SO_4 เข้มข้น

สารผสมระหว่าง HNO_3 เข้มข้น กับ H_2SO_4 เข้มข้น จะให้สารมีรณิตร NO_2^+ (nitronium ion) ซึ่งทำหน้าที่เป็นอิเล็กโตรไฟล์ ในการทำไนเตรชันของสาร Dibenzalacetone หลังจากการแยกทางโครมาโตกราฟี ให้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถตรวจสอบทางสเปกโตรสโคปี 4 สาร คือ (1E,4E)-1,5-bis(2,4,6-trinitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (**1a**), (1E,4E)-1,5-bis-(4-nitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (**1b**) กับ 4-nitrobenzaldehyde (**1c**) และ 2-nitrobenzaldehyde (**1d**) เป็นผลิตภัณฑ์ที่มาจากการแตกสลายพันธะคู่ ตามรูปที่ 3



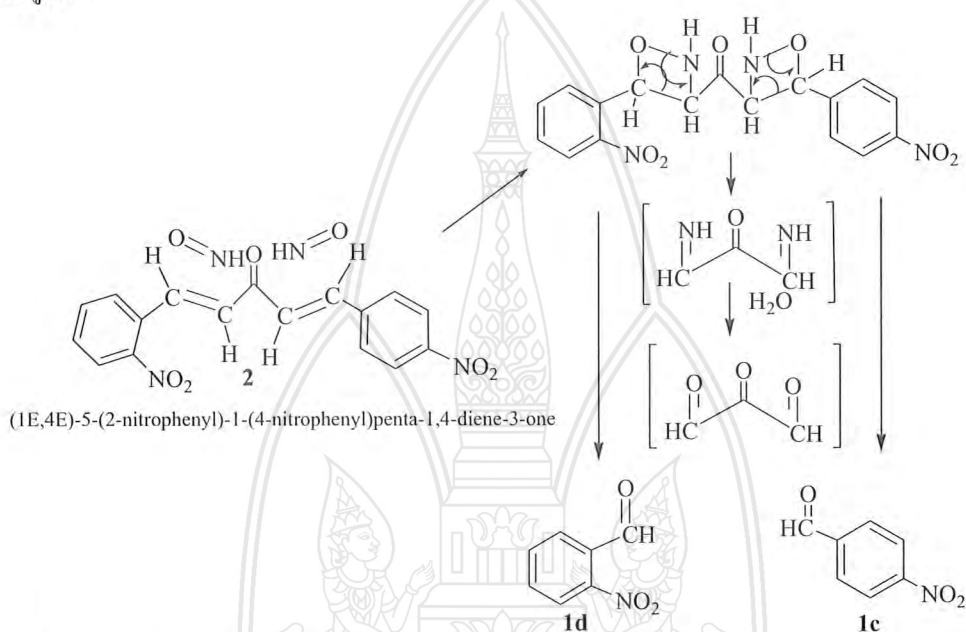
รูปที่ 3 ผลิตภัณฑ์ไนเตรชัน ของ (1E,4E)-1,5-diphenyl-1,4-dien-3-one ด้วย $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$

สารตั้งต้น dibenzalacetone มี chromophore penta-1,4-dienyl-3-one เกาะอยู่บนวงแหวนเบนซีนทั้งสองด้าน มีสมบัติเป็นหมู่แทนที่ที่ให้อิเล็กตรอนกับระบบ เพราะเมื่อทำในตรังชันแล้วให้การเข้าแทนที่ของอิเล็กโตรไฟล์ nitronium ion ที่ตำแหน่ง para ทั้งสองวงแหวนเบนซีน แล้วตามด้วยการแทนที่อิเล็กโตรฟิลิกต่อเนื่องที่ตำแหน่งออร์โทของทั้งสองวงแหวนเบนซีน การตรวจสอบความถูกต้องของโครงสร้างโมเลกุลด้วยเทคนิค ^1H NMR สเปกตรัม ทำให้สามารถระบุโครงสร้างที่แน่ชัดของผลิตภัณฑ์ ดังนี้ โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบ (1a) คือ (1E,4E)-1,5-bis(2,4,6-trinitrophenyl) penta-1,4-dien-3-one ^1H NMR สเปกตรัมมี peak ของโปรตอนที่มี δ 7.68 เป็น doublet ($2\text{H}, J=14\text{Hz}$) เป็น magnetically equivalent C-H โปรตอนที่ดีกับ $>\text{C}=\text{O}$ และ คลัฟฟิงกับ olefinic CH ที่อยู่เคียงข้างกัน ที่ δ 7.85 เป็น doublet ($2\text{H}, J=14.2\text{Hz}$) เป็น C-H ที่ติดกับวงแหวนเบนซีนและ magnetically equivalent ซึ่งคลัฟฟิงกับ CH ที่ติดกับ $>\text{C}=\text{O}$ ส่วน C-H ที่อยู่บนวงแหวนเบนซีนทั้งสองตรงตำแหน่ง meta ทั้ง 4 โปรตอนจะ magnetically non equivalent ปรากฏที่ δ 8.25, 8.28, 8.31 และ 8.35 ตามลำดับ ต่างมีลักษณะเป็น singlet (ในสัดส่วนความสูง 1:2.5:2.5:1) ด้วยวงแหวนเบนซีนทั้งสองเกาะอยู่กับ chromophore penta-1,4-dienyl ตรงตำแหน่ง 1 และ 5 มีได้อยู่ในระนาบเดียวกันและ steric effect ของหมู่ไนโตร สนับสนุนด้วย IR สเปกตรัม (V) แสดงที่ 1325 cm^{-1} symmetric และ 1530 cm^{-1} antisymmetric เป็นของ NO_2 และที่ 1694 cm^{-1} เป็น conjugated $>\text{C}=\text{O}$ และที่ 805 cm^{-1} เป็น isolated H atom ของ 1,2,4,6 tetra-substitution

ส่วนสารประกอบ (1E,4E)-1,5-bis(4-nitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (1b) เกิดจากในตรังชันที่ตำแหน่งพารา (para) ของริงทั้งสอง ^1H NMR สเปกตรัมของโครงสร้างโมเลกุล (1b) มี peak ของโปรตอนที่มี δ 7.48 มีลักษณะเป็น two set of doublets ที่เกือบเหลื่อมซ้อนกัน มี 4 โปรตอนโดยที่ชุดที่หนึ่ง เป็น C-H 2 โปรตอน ($J=15.6\text{ Hz}$) ที่ติดกับ $>\text{C}=\text{O}$ และชุดที่สอง เป็น C-H ($J=7.6\text{ Hz}$) บนวงแหวนเบนซีน 2 โปรตอนตรงตำแหน่ง ortho ของระบบ penta-1,4-dienyl-3-one ที่มีหมู่ NO_2 ตำแหน่ง para และ δ 7.62 ($J=14.8\text{ Hz}$) เป็น doublet มี 2 โปรตอนตรงกับ C-H ของ olefinic proton ที่เกาะกับวงแหวนเบนซีน และ δ 8.13 ($J=7.6\text{ Hz}$) เป็น doublet มี 4 โปรตอนเป็น C-H ที่อยู่บนวงแหวนเบนซีน 2 ตัวที่ตำแหน่ง meta ของวงแหวนเบนซีนทั้งสอง และสอดคล้องกับ IR สเปกตรัม (V) แสดงที่ 1377 cm^{-1} symmetric และ 1582 cm^{-1} antisymmetric เป็นของ NO_2 ที่ 1703 cm^{-1} เป็นของ conjugated $>\text{C}=\text{O}$ และที่ 820 cm^{-1} เป็นของ C-H bending out of plan ของ 1,4 para substitution

สารประกอบ 4-nitrobenzaldehyde (1c) และ 2-nitrobenzaldehyde (1d) ต้องเกิดจากในตรังชันในขั้นตอนแรกตามด้วยการแตกสลายพันธะคู่ในขั้นตอนถัดไปของผลิตภัณฑ์ (1E,4E)-5-(2-nitrophenyl)-1-(4-nitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (2) แต่ผลิตภัณฑ์ (1c) มีเปอร์เซ็นต์มากกว่า (1d) การเกิดในตรังชันที่ตำแหน่ง para นั้นเป็นเรื่องธรรมดา แต่ที่ตำแหน่ง ortho ของอีกวงหนึ่งอาจมีปัญหา

ทาง steric effect ของ chromophore เป็นเหตุให้ได้ผลผลิต (1d) เป็นส่วนน้อย หลังจากนั้นพันธะคู่เกิดออกซิเดทีฟคลีฟเวจภายใต้ปฏิกิริยาที่รุนแรง [HNO_3conc กับ $\text{H}_2\text{SO}_4\text{conc}$] ความเป็นไปได้ในการเกิดสารประกอบ (1c) และ (1d) มาจากปฏิกิริยาการเติมของสารมัธยันต์ [$\text{O}=\text{NH}$] ที่มาจากการโปรโตเนชัน [NO] ซึ่งมาจาก HNO_3 ที่พันธะคู่ทั้งสองด้านของอนุพันธ์ (1E,4E)-5-(2-nitrophenyl)-1-(4-nitrophenyl)penta-1,4-dien-3-one (2) ให้สารมัธยันต์ 1,2-oxazetane ตามด้วยการแตกสลายของพันธะ 1,2-oxazetane ออกได้เป็น 4-nitrobenzaldehyde (1c) และ 2-nitrobenzaldehyde (1d) ตามลำดับ ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 การแตกพันธะคู่ของอนุพันธ์ Nitrodibenzalacetone

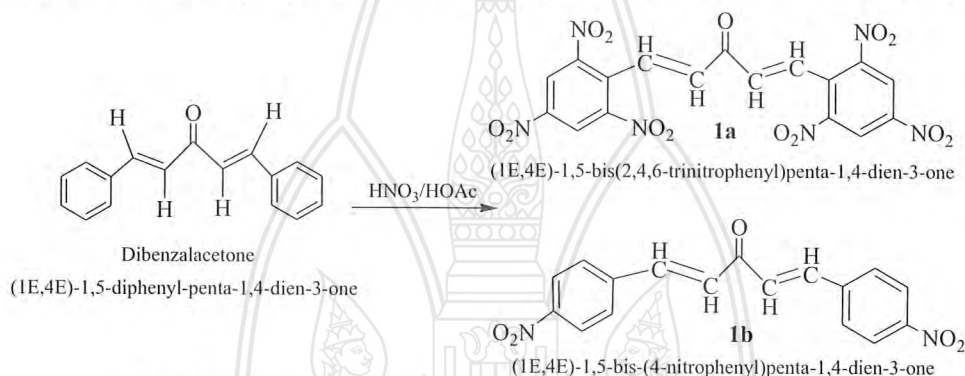
สารประกอบ 4-nitrobenzaldehyde (1c) มี peak ของโปรตอนที่มี δ 8.1 ($d, J=8.5\text{Hz}$) มี 2 โปรตอนเป็น C-H ที่อยู่ตำแหน่ง ortho ด้าน aldehyde และ δ 8.4 ($d, J=8.6\text{Hz}$) 2 โปรตอนเป็น C-H ที่อยู่ตำแหน่ง ortho ด้านหมู่ NO_2 และ δ 10.15 เป็น singlet มี 1 โปรตอนเป็น C-H ของ aldehyde และตรวจสอบด้วย IR สเปกตรัม (V) แสดงที่ 1342 cm^{-1} symmetric และ 1537 cm^{-1} antisymmetric เป็นของ NO_2 ที่ 1700 cm^{-1} เป็นของ $>\text{C}=\text{O}$ ของ aldehyde และที่ 814 cm^{-1} เป็น C-H bending out of plane ของ 1,4 para substitution

สารประกอบ 2-nitrobenzaldehyde (1d) แสดงค่าที่ δ 10.4 เป็น singlet มี 1 โปรตอนเป็น C-H ของ aldehyde δ 8.1 ($d, J=8.2\text{Hz}$) ตรงกับ C-H ของวงเบนซินที่ตำแหน่ง ortho กับหมู่ $-\text{NO}_2$ δ

7.95 มี 1 โปรตอน ($d, J=8\text{Hz}$) เป็น C-H ที่อยู่ตำแหน่ง ortho ด้านหมู่ aldehyde และ peak ที่เหลือคือ δ 7.8 เป็น multiplet มี 2 proton แสดงว่าเป็น C-H ที่อยู่ตำแหน่ง meta ด้าน aldehyde และ ด้านหมู่ NO_2 IR สเปกตรัม(V) แสดงที่ 1345 cm^{-1} symmetric และ 1541 cm^{-1} antisymmetric เป็นของ NO_2 ที่ 1705 cm^{-1} เป็นของ $>\text{C}=\text{O}$ ของ aldehyde และที่ 835 cm^{-1} เป็น C-H bending out of plane ของ 1,2 ortho substitution

ตอนที่ 2 ไนเตรชัน ของ Dibenzalacetone ด้วย HNO_3 เข้มข้น กับ AcOH

ในการทำไนเตรชันของ Dibenzalacetone ด้วย HNO_3 เข้มข้น กับ AcOH ภายหลังปฏิกิริยาการแยกทางโครมาโตกราฟีให้ผลิตภัณฑ์เหมือนเช่นกรณีที่ใช้ HNO_3 เข้มข้น / H_2SO_4 เข้มข้น ออกมา 2 สารซึ่งตรงกับ (1a) คือ (1E,4E)-1,5-bis(2,4,6-trinitrophenyl) penta-1,4-dien-3-one และ (1b) คือ (1E,4E)-5-(2,4,6-trinitrophenyl) - 1 - (4-nitrophenyl) penta - 1,4 - dien - 3 - one ตามลำดับดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 ปฏิกิริยาการเกิด ไนเตรชัน ของ Dibenzalacetone ด้วย HNO_3 เข้มข้น กับ AcOH

NMR spectrum ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ออกมาเหมือนกับ NMR spectrum ของสาร (1a) และ 1b ของผลการทดลองตอนที่ 1 แต่แนวโน้มของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นตอนที่ 1 มีสาร 1a มากกว่า 1b ส่วนผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในตอนที่ 2 นั้นเกิดสาร 1b มากกว่า 1a

สรุปผลการทดลอง

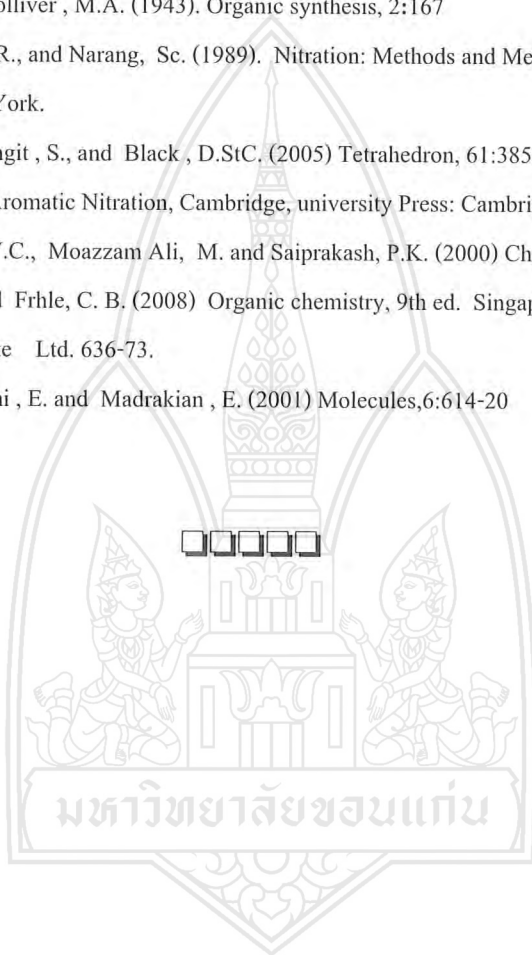
การทำไนเตรชันของ Dibenzalacetone ทั้งกรณี HNO_3 เข้มข้น / H_2SO_4 เข้มข้น หรือ HNO_3 เข้มข้น /AcOH จะให้ผลิตภัณฑ์ (1a) และ (1b) แต่ในปฏิกิริยาที่ใช้ $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ หนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้เกิดจากการแตกพันธะคู่ให้ (1c) และ (1d) ส่วนใน HNO_3 เข้มข้น /AcOH ให้ (1a) เป็น ผลิตภัณฑ์หลัก

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่ให้การสนับสนุนด้านห้องปฏิบัติการและสารเคมีที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Charles , R.C., and Dolliver , M.A. (1943). Organic synthesis, 2:167
- Glah, G.A , Malhotra, R., and Narang, Sc. (1989). Nitration: Methods and Mechanisms”, Wiley-VCH New York.
- Keawin , T., Rajviroongit , S., and Black , D.StC. (2005) Tetrahedron, 61:3853-61.
- Schofield , K.(1980). Aromatic Nitration, Cambridge, university Press: Cambridge,
- Sana, S., Rajanna, K.V.C., Moazzam Ali, M. and Saiprakash, P.K. (2000) Chem.Lett.,29:48
- Solomons, T.W.G., and Frhle, C. B. (2008) Organic chemistry, 9th ed. Singapore : John Wiley & Sons(Asia) Pte Ltd. 636-73.
- Zolfigol, M.A., Ghaemi , E. and Madrakian , E. (2001) Molecules,6:614-20



ขอบเขตล่างและบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชัน การแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธและตัวแปรสุ่มปัวซอง

Lower and Upper Bounds of the Relative Error Between the Negative Binomial and Poisson Cumulative Distribution Functions

กณินทร์ ชีรภาพโอพาร¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ใช้วิธีสไตน์เชนเพื่อหาขอบเขตล่างและบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธและตัวแปรสุ่มปัวซอง โดยที่ค่าเฉลี่ยของตัวแปรสุ่มปัวซอง $\lambda = n(1-p)$ เมื่อ n และ p คือ พารามิเตอร์ของการแจกแจงทวินามนิเสธ ขอบเขตดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธสามารถประมาณด้วยฟังก์ชันการแจกแจงของตัวแปรสุ่มปัวซองได้ดีเมื่อ $q = 1-p$ หรือ λ มีค่าน้อย

Abstract

This paper uses the Stein-Chen method to determine upper and lower bounds on the relative error between the negative binomial and Poisson cumulative distribution functions, where the Poisson mean $\lambda = n(1-p)$ and n and p are parameters of the negative binomial distribution. For these bounds, it is pointed out that the negative binomial cumulative distribution function can be properly approximated by the Poisson cumulative distribution function if $q = 1-p$ or λ is small.

คำสำคัญ : การประมาณปัวซอง, การแจกแจงปัวซอง, การแจกแจงทวินามนิเสธ, ฟังก์ชันการแจกแจงสะสม, วิธีสไตน์เชน

Keywords: Poisson approximation, Poisson distribution, negative binomial distribution, cumulative distribution function, Stein-Chen method.

¹ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 20131

E-mail: kanint@buu.ac.th

1. บทนำ

ให้ X เป็นจำนวนความล้มเหลว (failure) ก่อนความสำเร็จครั้งที่ n ในลำดับของการทดลองย่อยแบร์นูลลี (Bernoulli trials) ที่เป็นอิสระต่อกัน โดยที่ความสำเร็จ (success) และความล้มเหลว (failure) ที่เกิดขึ้นในแต่ละการทดลองย่อยมีความน่าจะเป็นเท่ากับ $p \in (0,1)$ และ $q = 1-p$ ตามลำดับ แล้วการแจกแจงความน่าจะเป็นของ X สามารถเขียนได้เป็น $P(X=k) = \binom{n+k-1}{k} q^k p^n$ เมื่อ $k = 0, 1, \dots$ การแจกแจงนี้เรียกว่า การแจกแจงทวินามนิเสธที่มีพารามิเตอร์ n และ p (negative binomial distribution with parameters n and p) ในกรณีที่ $n = 1$ จะเรียกการแจกแจงของ X ว่า การแจกแจงเรขาคณิตที่มีพารามิเตอร์ p (geometric distribution with parameter p) ซึ่งเป็นการแจกแจงของจำนวนความล้มเหลวก่อนความสำเร็จครั้งแรก (Johnson et al., 2005)

ให้ $Y_1, \dots, Y_n$ เป็น n ตัวแปรสุ่มที่เป็นอิสระต่อกันและแต่ละ Y_i มีการแจกแจงเรขาคณิตแบบเดียวกัน นั่นคือ $P(Y_i = k) = pq^k, k = 0, 1, \dots$ สำหรับทุก $i = 1, 2, \dots, n$ ให้ $X = \sum_{i=1}^n Y_i$ แล้วเราจะได้ว่า X จะมีการแจกแจงทวินามนิเสธที่มีพารามิเตอร์ n และ p เช่นเดียวกับที่ได้กล่าวมาข้างต้น และเป็นที่ทราบกันทั่วไปว่าในกรณีที่ q มีค่าน้อยหรือมีค่าเข้าใกล้ 0 การแจกแจงทวินามนิเสธสามารถประมาณได้ด้วยการแจกแจงปัวซองที่มีค่าเฉลี่ย $\lambda = \frac{nq}{p}$ (ซึ่งมีค่าเท่ากับค่าเฉลี่ยของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธ) ในทำนองเดียวกันฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธแทนด้วย $\mathcal{NB}(k; n, p) = \sum_{j=0}^k \binom{n+j-1}{j} q^j p^n$ สามารถประมาณด้วยฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มปัวซองแทนด้วย $\mathcal{P}(k; \lambda) = \sum_{j=0}^k \frac{e^{-\lambda} \lambda^j}{j!}$ เมื่อ $k = 0, 1, \dots$ และ $\lambda = \frac{nq}{p}$ ได้เช่นเดียวกัน ในกรณีนี้ คลินท์ ธีรภาพโอฬาร และคณะ (2551) ได้ใช้วิธีสไตน์เชน (Stein-Chen method) และฟังก์ชัน w (w-function) สร้างขอบเขตบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของสองตัวแปรสุ่มเพื่อใช้วัดความคลาดเคลื่อนของการประมาณดังนี้

$$\left| 1 - \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{\mathcal{NB}(x_0; n, p)} \right| \leq \frac{1 - e^{-\lambda}}{p^{n + \min\{x_0, \lceil \lambda \rceil + 1\}}} \min \left\{ \frac{(1 - p^n)}{n}, \frac{q}{p(x_0 + 1)} \right\} \quad (1.1)$$

โดยที่ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ และ $\lceil \lambda \rceil$ เป็นจำนวนเต็มที่น้อยที่สุดที่ไม่น้อยกว่า λ

นอกจากการประมาณการแจกแจงทวินามนิเสธด้วยการแจกแจงปัวซองที่มีค่าเฉลี่ย $\lambda = \frac{nq}{p}$ แล้ว ในทางทฤษฎีเรายังทราบว่าถ้า $n \rightarrow \infty$ และ $q \rightarrow 0$ โดยที่ nq เป็นค่าคงตัว แล้วจะได้รับการแจกแจงทวินามนิเสธจะเข้าสู่การแจกแจงปัวซองด้วยค่าเฉลี่ย $\lambda = nq$ (Feller, 1968) ซึ่งแสดงว่าเราสามารถประมาณการแจกแจงทวินามนิเสธด้วยการแจกแจงปัวซองที่มีค่าเฉลี่ย $\lambda = nq$ ได้เช่นเดียวกัน สำหรับงานวิจัยนี้เราต้องการศึกษาการประมาณ

$\mathcal{NB}(k;n,p)$ ด้วย $\mathcal{P}(k;\lambda)$ ที่มีค่าเฉลี่ย $\lambda = nq$ โดยใช้วิธีสไตน์เซน และเกณฑ์ที่ใช้วัดความคลาดเคลื่อนของการประมาณในงานวิจัยนี้ คือ ขอบเขตล่างและบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของสองตัวแปรสุ่มดังกล่าว ซึ่งคล้ายกับในงานวิจัยของ คณินทร์ ชีรภาพโอฬาร และคณะ (2551) โดยที่ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธและตัวแปรสุ่มปัวซองที่ x_0 คือ $1 - \frac{\mathcal{P}(x_0;\lambda)}{\mathcal{NB}(x_0;n,p)}$

2. วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาการประมาณการแจกแจงด้วยการแจกแจงปัวซองในรูปของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์จากงานวิจัยของ Teerapabolarn (2007) และงานวิจัยของ คณินทร์ ชีรภาพโอฬาร และคณะ (2551) ซึ่งจากการศึกษางานวิจัยดังกล่าว เราพบว่าวิธีสไตน์เซนเป็นวิธีที่สามารถหาผลลัพธ์ที่เราต้องการได้ ดังนั้นเราควรเริ่มต้นด้วยการสร้างบทตั้ง (lemma) เพื่อใช้ในการพิสูจน์ทฤษฎีบทหลัก (main theorem) ดังนี้

พิจารณาสมการของสไตน์ (Stein’s equation) (Stein, 1986) สำหรับการแจกแจงปัวซองที่มีพารามิเตอร์ λ ซึ่ง (กำหนดฟังก์ชัน h) นิยามโดย

$$\lambda f'(x+1) - xf(x) = h(x) - \wp_\lambda(h)$$
 (2.1)

โดยที่

$$\wp_\lambda(h) = e^{-\lambda} \sum_{\ell=0}^\infty h(\ell) \frac{\lambda^\ell}{\ell!}$$
 (2.2)

และ f และ h เป็นฟังก์ชันค่าจริงที่มีขอบเขตที่นิยามบนเซต $\mathbb{N} \cup \{0\}$
สำหรับ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ ให้ $h_{x_0} : \mathbb{N} \cup \{0\} \rightarrow \mathbb{R}$ เป็นฟังก์ชันที่กำหนดโดย

$$h_{x_0}(x) = \begin{cases} 1, & x \leq x_0 \\ 0, & x > x_0 \end{cases}$$

โดย Barbour et al. (1992) และสำหรับ $x \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ จะได้ว่าผลเฉลย f เมื่อแทน h ด้วย h_{x_0} ในสมการ (2.1) สามารถเขียนได้เป็น

$$f(x) = \begin{cases} (x-1)! \lambda^{-x} e^\lambda [\wp_\lambda(h_{x_0}) \wp_\lambda(1-h_{x-1})], & x > x_0 \\ (x-1)! \lambda^{-x} e^\lambda [\wp_\lambda(h_{x-1}) \wp_\lambda(1-h_{x_0})], & x \leq x_0 \\ 0, & x = 0 \end{cases}$$
 (2.3)

บทตั้ง 2.1 ให้ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ และ $k \in \mathbb{N} \setminus \{1\}$ แล้วจะได้ว่า

$$0 \leq \sup_{x \geq k} f(x) \leq \lambda^{-1}(e^\lambda - 1)\mathcal{P}(x_0; \lambda) \min \left\{ \frac{1}{k}, \frac{1}{x_0 + 1} \right\} \quad (2.4)$$

พิสูจน์ เราจะเห็นได้ชัดว่า $f(x) \geq 0$ สำหรับทุก $x \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ ดังนั้นเราจะแสดงว่า

$$\sup_{x \geq k} f(x) \leq \lambda^{-1}(e^\lambda - 1)\mathcal{P}(x_0; \lambda) \min \left\{ \frac{1}{k}, \frac{1}{x_0 + 1} \right\}$$

โดยแบ่งการพิสูจน์ออกเป็น 2 กรณี ดังนี้

กรณีที่ 1: $k \leq x \leq x_0$

จากสมการ (2.3) เราจะได้ว่า

$$\begin{aligned} f(x) &= \varphi_\lambda(h_{x-1})(x-1)! \lambda^{-x} e^\lambda \varphi_\lambda(1-h_{x_0}) \\ &\leq \mathcal{P}(x_0; \lambda)(x-1)! \sum_{j=x_0+1}^{\infty} \frac{\lambda^{j-x}}{j!} \quad (\text{จากสมการ (2.2)}) \\ &= \mathcal{P}(x_0; \lambda)(x-1)! \left\{ \frac{\lambda^{(x_0+1)-x}}{(x_0+1)!} + \frac{\lambda^{(x_0+2)-x}}{(x_0+2)!} + \dots \right\} \\ &= \mathcal{P}(x_0; \lambda) \left\{ \frac{(x-1)! \lambda^{(x_0+1)-x}}{(x_0+1)!} + \frac{(x-1)! \lambda^{(x_0+2)-x}}{(x_0+2)!} + \dots \right\} \\ &= \mathcal{P}(x_0; \lambda) \left\{ \frac{\lambda^{(x_0+1)-x}}{(x_0+1) \binom{x_0}{x-1} [(x_0+1)-x]!} + \frac{\lambda^{(x_0+2)-x}}{(x_0+2) \binom{x_0+1}{x-1} [(x_0+2)-x]!} + \dots \right\} \\ &\leq \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{x_0+1} \left\{ \frac{\lambda}{2!} + \frac{\lambda^2}{3!} + \dots \right\} \\ &= \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda) \lambda^{-1}}{x_0+1} \left\{ \frac{\lambda^2}{2!} + \frac{\lambda^3}{3!} + \dots \right\} \\ &\leq \frac{\lambda^{-1}(e^\lambda - 1)\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{x_0+1} \end{aligned}$$

และ
$$f(x) \leq \frac{\lambda^{-1}(e^\lambda - 1)\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{k}$$

กรณีที่ 2: $k \leq x$ และ $x_0 + 1 \leq x$

$$\begin{aligned} f(x) &= \wp_\lambda(h_{x_0})(x-1)! \lambda^{-x} e^\lambda \wp_\lambda(1-h_{x-1}) \\ &= \mathcal{P}(x_0; \lambda)(x-1)! \sum_{j=x}^\infty \frac{\lambda^{j-x}}{j!} \quad (\text{จากสมการ (2.2)}) \\ &= \mathcal{P}(x_0; \lambda)(x-1)! \left\{ \frac{1}{x!} + \frac{\lambda}{(x+1)!} + \dots \right\} \\ &= \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{x} \left\{ 1 + \frac{\lambda}{x+1} + \dots \right\} \\ &\leq \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda) \lambda^{-1}}{x} \left\{ \lambda + \frac{\lambda^2}{2!} + \dots \right\} \\ &= \frac{\lambda^{-1}(e^\lambda - 1) \mathcal{P}(x_0; \lambda)}{x} \end{aligned}$$

ซึ่งทำให้เราได้

$$f(x) \leq \frac{\lambda^{-1}(e^\lambda - 1) \mathcal{P}(x_0; \lambda)}{k} \quad \text{และ} \quad f(x) \leq \frac{\lambda^{-1}(e^\lambda - 1) \mathcal{P}(x_0; \lambda)}{x_0 + 1}$$

ดังนั้นจากทั้ง 2 กรณี เราจะได้สมการ (2.4) $\square$

บทตั้ง 2.2 ให้ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ และ $\lambda = nq$ แล้วสมการต่อไปนี้เป็นจริง

$$\frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{\mathcal{NB}(x_0; n, p)} \leq \frac{e^{-\lambda}}{p^n} \tag{2.5}$$

พิสูจน์ เราเห็นได้ชัดในกรณี $x_0 = 0$ ดังนั้นจะแสดงว่าสมการ (2.5) เป็นจริงในกรณี $x_0 \geq 1$ นั่นคือ

$$\begin{aligned} \sum_{k=0}^{x_0} \binom{n+k-1}{k} q^k &= 1 + \sum_{k=1}^{x_0} \frac{(n+k-1)! q^k}{k!(n-1)!} \\ &= 1 + \sum_{k=1}^{x_0} \frac{(n+k-1) \cdots n q^k}{k!} \\ &= 1 + \sum_{k=1}^{x_0} \frac{(nq)^k}{k!} \left\{ \frac{(n+k-1)}{n} \cdots \frac{n}{n} \right\} \\ &\geq 1 + \sum_{k=1}^{x_0} \frac{\lambda^k}{k!} \\ &= \sum_{k=0}^{x_0} \frac{\lambda^k}{k!} \end{aligned}$$

และเราจะได้

$$\begin{aligned} \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{\mathcal{NB}(x_0; n, p)} &= \frac{e^{-\lambda}}{p^n} \frac{\sum_{k=0}^{x_0} \frac{\lambda^k}{k!}}{\sum_{k=0}^{x_0} \binom{n+k-1}{k} q^k} \\ &\leq \frac{e^{-\lambda}}{p^n} \end{aligned}$$

ซึ่งทำให้สมการ (2.5) เป็นจริง $\square$

3. ผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ผลการวิจัยที่เราต้องการ คือ ขอบเขตล่างและบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธและตัวแปรสุ่มปัวซอง ซึ่งเราสามารถหาได้โดยใช้วิธีสไตน์เซน โดยเริ่มต้นด้วยสมการของสไตน์ (2.1) ทฤษฎีบทต่อไปนี้เป็นผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงที่อยู่ในรูปแบบของขอบเขตล่างและบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของสองตัวแปรสุ่มดังกล่าว

ทฤษฎีบท 3.1 ให้ X เป็นตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธดังที่ได้กล่าวมาแล้ว และ $\lambda = nq$ แล้วจะได้ว่า

$$-\frac{1-e^{-\lambda}}{p^n} \min \left\{ q, \frac{q}{p(x_0+1)} \right\} \leq 1 - \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{\mathcal{NB}(x_0; n, p)} \leq 0 \quad (3.1)$$

โดยที่ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$

พิสูจน์ จากสมการ (2.1) เมื่อกำหนด $h = h_{x_0}$ และเราหาค่าคาดหวังตลอดสมการ (2.1) จะได้ว่า

$$P(X \leq x_0) - \sum_{j=0}^{x_0} \frac{e^{-\lambda} \lambda^j}{j!} = E[\lambda f(X+1) - Xf(X)]$$

หรือ

$$\begin{aligned} \mathcal{NB}(x_0; n, p) - \mathcal{P}(x_0; \lambda) &= E[\lambda f(X+1) - Xf(X)] \\ &= E \left[\sum_{i=1}^n q f(X+1) - \sum_{i=1}^n Y_i f(X) \right] \\ &= \sum_{i=1}^n E[qf(X+1) - Y_i f(X)] \end{aligned} \quad (3.2)$$

โดยที่ f นิยามเช่นเดียวกับสมการ (2.2)

ให้ $X_i = X - Y_i$ ดังนั้นสำหรับแต่ละ i เราจะได้ว่า

$$\begin{aligned}
 E[qf(X+1) - Y_i f(X)] &= E[qf(X_i + Y_i + 1) - Y_i f(X_i + Y_i)] \\
 &= E\{E[qf(X_i + Y_i + 1) - Y_i f(X_i + Y_i) | Y_i]\} \\
 &= E[(qf(X_i + Y_i + 1) - Y_i f(X_i + Y_i)) | Y_i = 0] P(Y_i = 0) \\
 &\quad + E[(qf(X_i + Y_i + 1) - Y_i f(X_i + Y_i)) | Y_i = 1] P(Y_i = 1) \\
 &\quad + \sum_{k \geq 2} E[(qf(X_i + Y_i + 1) - Y_i f(X_i + Y_i)) | Y_i = k] P(Y_i = k) \\
 &= E[(qf(X_i + Y_i + 1) - Y_i f(X_i + Y_i)) | Y_i = 0] p \\
 &\quad + E[(qf(X_i + Y_i + 1) - Y_i f(X_i + Y_i)) | Y_i = 1] pq \\
 &\quad + \sum_{k \geq 2} E[(qf(X_i + Y_i + 1) - Y_i f(X_i + Y_i)) | Y_i = k] pq^k \\
 &= E[pqf(X_i + 1)] + E[pq^2 f(X_i + 2) - pqf(X_i + 1)] \\
 &\quad + \sum_{k \geq 2} E[pq^{k+1} f(X_i + k + 1) - kpq^k f(X_i + k)] \\
 &= \sum_{k \geq 2} E[pq^k f(X_i + k) - kpq^k f(X_i + k)] \\
 &= \sum_{k \geq 2} (1 - k) pq^k E[f(X_i + k)]
 \end{aligned} \tag{3.3}$$

จากสมการ (3.3) เราจะได้

$$E[qf(X+1) - Y_i f(X)] \leq 0 \tag{3.4}$$

และจากสมการ (3.3) และโดยให้บทตั้ง 2.1 เราจะได้

$$\begin{aligned}
 E[qf(X+1) - Y_i f(X)] &= - \sum_{k \geq 2} (k-1) pq^k E[f(X_i + k)] \\
 &\geq - \sum_{k \geq 2} (k-1) pq^k \sup_{x \geq k} f(x) \\
 &\geq -\lambda^{-1} (e^\lambda - 1) \mathcal{P}(x_0; \lambda) \sum_{k \geq 2} (k-1) pq^k \min \left\{ \frac{1}{k}, \frac{1}{x_0 + 1} \right\} \\
 &\geq -\lambda^{-1} (e^\lambda - 1) \mathcal{P}(x_0; \lambda) \min \left\{ q^2, \frac{q^2}{p(x_0 + 1)} \right\}
 \end{aligned} \tag{3.5}$$

โดยสมการ (3.2) และสมการ (3.4) และ (3.5) เราจะได้

$$-(e^\lambda - 1)\mathcal{P}(x_0; \lambda) \min \left\{ q, \frac{q}{p(x_0 + 1)} \right\} \leq \mathcal{NB}(x_0; n, p) - \mathcal{P}(x_0; \lambda) \leq 0 \quad (3.6)$$

หารตลอดสมการ (3.6) ด้วย $\mathcal{NB}(x_0; n, p)$ จะได้

$$-(e^\lambda - 1) \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{\mathcal{NB}(x_0; n, p)} \min \left\{ q, \frac{q}{p(x_0 + 1)} \right\} \leq 1 - \frac{\mathcal{P}(x_0; \lambda)}{\mathcal{NB}(x_0; n, p)} \leq 0$$

ดังนั้นโดยบทตั้ง 2.2 เราจึงได้อสมการ (3.1) ตามที่ต้องการ $\square$

บทแทรก (corollary) ต่อไปนี้เป็นผลลัพธ์ที่ได้จากการหารอสมการ (3.6) (ของการพิสูจน์ทฤษฎีบท 3.1) ด้วย $\mathcal{P}(x_0; \lambda)$

บทแทรก 3.1 สำหรับ $x_0 \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ และ $\lambda = nq$ แล้วจะได้ว่า

$$-(e^\lambda - 1) \min \left\{ q, \frac{q}{p(x_0 + 1)} \right\} \leq \frac{\mathcal{NB}(x_0; n, p)}{\mathcal{P}(x_0; \lambda)} - 1 \leq 0 \quad (3.7)$$

ข้อสังเกต

1. เราสังเกตได้ว่าขอบเขตล่างและบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชัน $\mathcal{NB}(x_0; n, p)$ และ $\mathcal{P}(x_0; \lambda)$ คือ $-\frac{1-e^{-\lambda}}{p^n} \min \left\{ q, \frac{q}{p(x_0 + 1)} \right\}$ และ 0 ตามลำดับ
2. ถ้า q มีค่าเข้าใกล้ 0 (หรือ p มีค่าเข้าใกล้ 1) หรือ λ มีค่าน้อย แล้วขอบเขตล่างของอสมการ (3.1) และ (3.4) จะมีค่าเข้าใกล้ 0 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลลัพธ์ของการประมาณฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธด้วยฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มปัวซองจะมีความคลาดเคลื่อนน้อยลง หรือมีความถูกต้องมากขึ้น เมื่อ q มีค่าเข้าใกล้ 0 หรือ λ มีค่าน้อย
3. เมื่อเปรียบเทียบผลลัพธ์ในอสมการ (3.1) และผลลัพธ์ของ คณินทร์ ชีรภาพโอพาร และคณะ (2551) ในอสมการ (1.1) เราจะเห็นว่าขอบเขตบนของอสมการ (3.1) ดีกว่าอสมการ (1.1) นอกจากนี้ขอบเขตในอสมการ (3.1) จะดีกว่าขอบเขตในอสมการ (1.1) ในทุกกรณีเมื่อ

$$\frac{q(1-e^{-nq})}{p^n} \leq \frac{1-e^{-nq/p}}{p^{n+\min\{x_0, \lceil \lambda \rceil + 1\}}} \frac{1-p^n}{n}$$

4. ตัวอย่างเชิงตัวเลข

สำหรับหัวข้อนี้เราได้แสดงผลลัพธ์เชิงตัวเลขบางส่วนของ การประมาณฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของ ตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธด้วยฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มปัวซองในทฤษฎีบท 3.1 ดังตัวอย่างต่อไปนี้

4.1. $n = 100$ และ $p = 0.999$ ดังนั้น $\lambda = 0.1$ และผลลัพธ์เชิงตัวเลขที่ได้ คือ

$$0 \geq 1 - \frac{P(x_0; \lambda)}{NB(x_0; n, p)} \geq \begin{cases} -0.00010518, & x_0 = 0 \\ -\frac{0.00010528}{x_0 + 1}, & x_0 \geq 1 \end{cases}$$

4.2. $n = 500$ และ $p = 0.999$ ดังนั้น $\lambda = 0.5$ และผลลัพธ์เชิงตัวเลขที่ได้ คือ

$$0 \geq 1 - \frac{P(x_0; \lambda)}{NB(x_0; n, p)} \geq \begin{cases} -0.00064888, & x_0 = 0 \\ -\frac{0.00064953}{x_0 + 1}, & x_0 \geq 1 \end{cases}$$

4.3. $n = 100$ และ $p = 0.99$ ดังนั้น $\lambda = 1.0$ และผลลัพธ์เชิงตัวเลขที่ได้ คือ

$$0 \geq 1 - \frac{P(x_0; \lambda)}{NB(x_0; n, p)} \geq \begin{cases} -0.01726953, & x_0 = 0 \\ -\frac{0.01744397}{x_0 + 1}, & x_0 \geq 1 \end{cases}$$

4.4. $n = 250$ และ $p = 0.99$ ดังนั้น $\lambda = 2.5$ และผลลัพธ์เชิงตัวเลขที่ได้ คือ

$$0 \geq 1 - \frac{P(x_0; \lambda)}{NB(x_0; n, p)} \geq \begin{cases} -0.11324103, & x_0 = 0 \\ -\frac{0.11438488}{x_0 + 1}, & x_0 \geq 1 \end{cases}$$

ตัวอย่าง 4.1 และ 4.2 เราได้กำหนดค่าพารามิเตอร์ n และ p เช่นเดียวกับตัวอย่างของ คณินทร์ ชีรภาพ โอฬาร และคณะ (2551) และเมื่อเปรียบเทียบผลลัพธ์เชิงตัวเลขของทั้งสองตัวอย่างนี้และผลลัพธ์ของ คณินทร์ ชีรภาพโอฬาร และคณะ (2551) (เปรียบเทียบเฉพาะขอบเขตล่าง) เราพบว่าขอบเขตล่างที่ได้จากทั้งสองตัวอย่างนี้จะดีกว่าขอบเขตล่างของ คณินทร์ ชีรภาพโอฬาร และคณะ (2551) สำหรับทุก $x_0 \geq 1$ และในกรณีที่ p เป็นค่า คงตัว (พิจารณาจากตัวอย่างทั้งหมด) เราจะเห็นว่าขอบเขตของความคลาดเคลื่อนของการประมาณจะกว้างขึ้น ตามค่า n หรือ λ ที่เพิ่มขึ้น แสดงว่า λ ที่มีค่าน้อยจะให้ผลของการประมาณดีกว่า λ ที่มีค่ามาก

5. สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการประมาณฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทวินามนิเสธที่มีพารามิเตอร์ n และ p ด้วยฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มปัวซองที่มีค่าเฉลี่ย λ (ที่สอดคล้องกับ n และ p) ในรูปแบบขอบเขตล่างและบนของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ระหว่างฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของตัวแปรสุ่มทั้งสองและในการศึกษาการประมาณดังกล่าวเรากำหนดให้ค่าเฉลี่ย $\lambda = nq$ ซึ่งแตกต่างจากค่าเฉลี่ย λ ในงานวิจัยของ คณินทร์ ชีรภาพโอฬาร และคณะ (2551) จากผลการวิจัยเราพบว่าผลลัพธ์ของการประมาณปัวซองนี้จะมี ความถูกต้องและสามารถยอมรับได้ ถ้าขอบเขตล่างของความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์มีค่าเข้าใกล้ 0 หรืออาจกล่าวได้ว่า ผลลัพธ์ของการประมาณปัวซองที่มีค่าเฉลี่ย $\lambda = nq$ จะให้ผลการประมาณที่ดีและมีความถูกต้องเมื่อ q หรือ λ มีค่าน้อย ซึ่งสอดคล้องกับกฎของเลขจำนวนน้อย (the law of small number) และเมื่อเปรียบเทียบกับผลลัพธ์ของงานวิจัยนี้และผลลัพธ์ของ คณินทร์ ชีรภาพโอฬาร และคณะ (2551) เราพบว่าขอบเขตของความคลาดเคลื่อนของการประมาณในงานวิจัยนี้จะดีกว่าในทุกกรณีเมื่อ

$$\frac{q(1-e^{-nq})}{p^n} \leq \frac{1-e^{-nq/p}}{p^{n+\min\{x_0, \lceil \lambda \rceil +1\}}} \frac{1-p^n}{n}$$

เอกสารอ้างอิง

- คณินทร์ ชีรภาพโอฬาร, พัทรี วงษ์เกษม และเสาวรส ศรีสุข. (2551). ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของการประมาณการแจกแจงทวินามนิเสธด้วยการแจกแจงปัวซอง. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 13 : 26-32.
- Barbour, A.D., Holst, L., and Janson, S. (1992). Poisson approximation. Oxford Studies in probability 2. Oxford : Clarendon Press.
- Feller, W. (1968). An Introduction to Probability Theory and Its Applications. (vol. 1). New York : Wiley.
- Johnson, N.L., Kotz, S., and Kemp, A.W. (2005). Univariate Discrete Distributions. (3rd ed.). New York : Wiley.
- Stein, C.M. (1986). Approximate Computation of Expectations. Hayward California : IMS.
- Teerapabolarn, K. (2007). A bound on the Poisson-binomial relative error. Statistical Methodology. 4 : 407-415.



ประสิทธิภาพของสถิติทดสอบสำหรับแผน แบบแฟคทอเรียล กรณีที่มีตัวแปรร่วม Efficiency of Statistical Tests for Factorial Designs with Covariate

ชวณี สุภีรัตน์^{1*} และ บุญอ้อม โจมที¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสถิติทดสอบอิทธิพลร่วมในการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมของแผนแบบแฟคทอเรียล 2 วิธีคือ สถิติ F และ MP เมื่อความคลาดเคลื่อนมีการแจกแจงแบบปกติและไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ โดยพิจารณาจากความสามารถในการควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ I (Type I Error) และค่าอำนาจการทดสอบ (Power of the Test) ผลการวิจัยพบว่า เมื่อกลุ่มตัวอย่างมีขนาดเล็ก สถิติ MP สามารถควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ I ได้ดีกว่าสถิติ F แต่เมื่อขนาดตัวอย่างเพิ่มขึ้นสถิติ F มีแนวโน้มที่จะสามารถควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ I ได้ และสถิติ F ให้ค่าอำนาจการทดสอบสูงกว่าสถิติ MP ในทุกสถานการณ์ที่ศึกษา และจะมีค่าสูงขึ้นเมื่อขนาดตัวอย่างเพิ่มขึ้น

Abstract

The purpose of this research is to study the efficiency of the two statistical tests for treatment effects in analysis of covariance of factorial designs when the distributions of error are normal and nonnormal distributions by considering the probability of type I error and power of test. The results of the study can be concluded as follows : MP-test had better control type I error than F-test when sample size ($N = abn$) is small whereas F-test controls it well when N is large. However, F-test has more power of the test than MP-test in every situations and the values of power increase when N increases.

คำสำคัญ : การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม , สถิติทดสอบ MP , ความคลาดเคลื่อนประเภทที่ I , อำนาจการทดสอบ

Keywords : Analysis of Covariance , MP-Test , Type I Error , Power of the test

¹ ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900

* Corresponding author, E-mail : kwang_sc@hotmail.com

1. บทนำ

การวางแผนการทดลอง (Experimental Design) เป็นกระบวนการที่ผู้ทดลองศึกษาเกี่ยวกับปัจจัย (Factor) ที่มีผลหรืออิทธิพลต่อตัวแปรผลตอบ (Response Variable : y) โดยที่ปัจจัยนั้นอาจมีหลายระดับ (Levels) ในการวางแผนเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ต้องการและเหมาะสมสามารถนำมาวิเคราะห์โดยวิธีการทางสถิติ จะทำให้ได้ข้อสรุปที่ตรงตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ ควรมีการเลือกแผนการทดลองและวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลที่เหมาะสมซึ่งขั้นตอนเหล่านี้มักจะมีการกำหนดข้อสมมติเบื้องต้นเกี่ยวกับข้อมูล เช่น ข้อมูลที่ได้เป็นตัวอย่างสุ่มจากกลุ่มประชากรที่มีการแจกแจงแบบปกติ และความคลาดเคลื่อนของข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ ซึ่งปัญหาที่พบคือข้อมูลมีคุณสมบัติไม่ตรงตามข้อสมมติเบื้องต้นที่กำหนด ทำให้วิธีการทางสถิติพารามตริกอาจมีผลกระทบต่อระดับนัยสำคัญหรือความน่าจะเป็นของการเกิดความคลาดเคลื่อน ประเภทที่ 1 และอำนาจการทดสอบ ดังนั้นอาจปรับเปลี่ยนวิธีในการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิตินอนพารามตริก ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่คำนึงถึงการแจกแจงของข้อมูลเพียงแต่ข้อมูลต้องมีการแจกแจงแบบต่อเนื่อง (Continuous Distribution) และมีการให้ค่าอันดับของข้อมูลก่อนนำมาทดสอบ อนันต์ชัย (2549) กล่าวว่า การวางแผนการทดลองนั้นควรคำนึงถึงการควบคุมความแปรปรวนในการทดลองให้มีค่าน้อยที่สุด ซึ่งมีหลายวิธี วิธีหนึ่งคือ การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (Analysis of Covariance) เป็นวิธีการที่เหมาะสมกับข้อมูลที่มีสาเหตุของความผันแปรเป็นลักษณะเชิงปริมาณ เช่น ความดันโลหิตของผู้ป่วยก่อนให้ยา ความหนาของเหล็กก่อนเคลือบด้วยสังกะสี เป็นต้น

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยสนใจศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสถิติทดสอบ F ซึ่งเป็นสถิติพารามตริกและสถิติทดสอบ MP ซึ่งเป็นสถิตินอนพารามตริก ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมสำหรับแผนแบบแฟคทอเรียล โดยพิจารณาจากความสามารถในการควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 และค่าอำนาจการทดสอบ เมื่อความคลาดเคลื่อนมีการแจกแจงแบบปกติและแบบอื่น ๆ เพื่อให้ทราบถึงสถิติทดสอบที่ถูกต้องเหมาะสมในการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีลักษณะแตกต่างกัน ทั้งในด้านขนาดตัวอย่าง หรือจำนวนซ้ำ ซึ่งข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้จากการจำลองข้อมูลโดยใช้เทคนิคมอนติคาร์โล

2. วิธีการทางสถิติ

2.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมเมื่อใช้การทดลองแบบแฟคทอเรียล

แผนแบบแฟคทอเรียลที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นแผนแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัยที่มีการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Two –Factor Factorial in a Completely Randomized Design) ซึ่งอิทธิพลของปัจจัยทั้ง 2 ปัจจัยเป็นแบบคงที่ (Fixed Effect) ซึ่งมีตัวแบบเชิงเส้นดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \tau_j + (\alpha\tau)_{ij} + \beta_{Y.X}(X_{ijk} - \bar{X}_{...}) + \varepsilon_{ijk}$$

เมื่อ $i = 1, 2, \dots, a$; $j = 1, 2, \dots, b$; $k = 1, 2, \dots, n$

โดยที่ Y_{ijk} = ค่าสังเกตของตัวแปรผลตอบ (Y) ที่ได้รับปัจจัย A ระดับที่ i ปัจจัย B ระดับที่ j และการทำซ้ำที่ k

μ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด

α_i = อิทธิพลของปัจจัย A ระดับที่ i โดยที่ $\sum_{i=1}^a \alpha_i = 0$

τ_j = อิทธิพลของปัจจัย B ระดับที่ j โดยที่ $\sum_{j=1}^b \tau_j = 0$

$(\alpha\tau)_{ij}$

=

อิทธิพลร่วมของปัจจัย A ระดับที่ i และปัจจัย B ระดับที่ j โดยที่

$$\sum_{i=1}^a (\alpha\tau)_{ij} = \sum_{j=1}^b (\alpha\tau)_{ij} = 0$$

$\beta_{Y.X}$

=

สัมประสิทธิ์การถดถอยของ Y เมื่อกำหนดตัวแปรร่วม X

X_{ijk}

=

ค่าสังเกตของตัวแปรร่วม (X) ที่ได้รับปัจจัย A ระดับที่ i ปัจจัย B ระดับที่ j และการทำซ้ำที่ k

$\bar{X}...$

=

ค่าเฉลี่ยรวมของข้อมูล X_{ijk} ขนาด N ($N = abn$)

ε_{ijk}

=

ความคลาดเคลื่อนสุ่มของการทดลอง เมื่อ $\varepsilon_{ijk} \sim NID(0, \sigma^2)$

และกำหนดตัวแปร X และ Y มีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงที่มีค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยเดียวกันคือ β , สมมติฐานในการทดสอบ

1. ทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย AB ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าผลตอบ Y

$H_0 : (\alpha\tau)_{11} = (\alpha\tau)_{12} = \dots = (\alpha\tau)_{ab} = 0$

$H_1 : (\alpha\tau)_{ij} \neq 0 \qquad ; \exists i, j; i = 1, 2, \dots, a \ ; j = 1, 2, \dots, b$

2. ทดสอบอิทธิพลหลักของปัจจัย A ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าผลตอบ Y

$H_0 : \alpha_1 = \alpha_2 = \dots = \alpha_a = 0$

$H_1 : \alpha_i \neq 0 \qquad ; \exists i; i = 1, 2, \dots, a$

3. ทดสอบอิทธิพลหลักของปัจจัย B ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าผลตอบ Y

$H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_b = 0$

$H_1 : \tau_j \neq 0 \qquad ; \exists j; j = 1, 2, \dots, b$

2.2 สถิติทดสอบที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้คือ สถิติทดสอบ F และสถิติทดสอบ MP ซึ่งคำนวณ ดังนี้

สถิติทดสอบ F มีขั้นตอนการคำนวณค่า SS (Sum of Square) และ SCP (Sum of Cross Products) ของอิทธิพลต่าง ๆ อ้างอิงใน Lewis-Beck (1993) จะได้ค่าต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 1 เพื่อนำไปคำนวณสถิติทดสอบ F

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมของสถิติทดสอบ F

Source	df	SS and SCP			Adjusted		
		YY	XY	XX	df	SS	MS
Treatment	ab - 1	Trt _{YY}	Trt _{XY}	Trt _{XX}			
A	a - 1	A _{YY}	A _{XY}	A _{XX}			
B	b - 1	B _{YY}	B _{XY}	B _{XX}			
AB	(a-1) (b-1)	AB _{YY}	AB _{XY}	AB _{XX}			
Error (E)	ab (n-1)	E _{YY}	E _{XY}	E _{XX}	ab (n-1) -1	E _{YY(adj)}	MSE _(adj)
Total (T)	abn - 1	T _{YY}	T _{XY}	T _{XX}	abn - 2		
A+Error	(a-1) + ab (n-1)	(A + E) _{YY}	(A + E) _{XY}	(A + E) _{XX}	(a-1)+ ab (n-1) -1	(A + E) _{YY(adj)}	
				A	a - 1	A _{YY(adj)}	MS(A) _(adj)

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมของสถิติทดสอบ F (ต่อ)

B+Error	(b-1) + ab (n-1)	(B + E) _{YY}	(B + E) _{XY}	(B + E) _{XX}	(b-1) + ab (n-1) - 1	(B + E) _{YY(adj)}	
				B	b - 1	B _{YY(adj)}	MS(B) _(adj)
AB+Error	(a-1)(b-1) +ab(n-1)	(AB + E) _{YY}	(AB + E) _{XY}	(AB + E) _{XX}	(a-1) (b-1) + ab (n-1) - 1	(AB + E) _{YY(adj)}	
				AB	(a-1)(b-1)	AB _{YY(adj)}	MS(AB) _(adj)

คำนวณค่าทดสอบ F เพื่อใช้ทดสอบอิทธิพลที่ปรับแล้วของ A , B และ AB ตามลำดับดังนี้

(1) สถิติทดสอบ $F_A = \frac{A_{YY(adj)} / (a-1)}{E_{YY(adj)} / [ab(n-1)-1]} = \frac{MS(A)_{(adj)}}{MSE_{(adj)}}$, df = a - 1 , ab(n-1) - 1

โดยที่ F_A คือ ค่าสถิติทดสอบ F เพื่อใช้ทดสอบอิทธิพลหลักของปัจจัย A

ในการทดสอบสมมติฐาน จะปฏิเสธ H_0 ถ้า $F_A > F_{\alpha, [(a-1), ab(n-1)-1]}$

(2) สถิติทดสอบ $F_B = \frac{B_{YY(adj)} / (b-1)}{E_{YY(adj)} / [ab(n-1)-1]} = \frac{MS(B)_{(adj)}}{MSE_{(adj)}}$, df = b - 1 , ab(n-1) - 1

โดยที่ F_B คือ ค่าสถิติทดสอบ F เพื่อใช้ทดสอบอิทธิพลหลักของปัจจัย B

ในการทดสอบสมมติฐาน จะปฏิเสธ H_0 ถ้า $F_B > F_{\alpha, [(b-1), ab(n-1)-1]}$

(3) สถิติทดสอบ $F_{AB} = \frac{AB_{YY(adj)} / (a-1)(b-1)}{E_{YY(adj)} / [ab(n-1)-1]} = \frac{MS(AB)_{(adj)}}{MSE_{(adj)}}$, df = (a-1)(b-1) , ab(n-1) - 1

โดยที่ F_{AB} คือ ค่าสถิติทดสอบ F เพื่อใช้ทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย A และ B

ในการทดสอบสมมติฐาน จะปฏิเสธ H_0 ถ้า $F_{AB} > F_{\alpha, [(a-1)(b-1), ab(n-1)-1]}$

สถิติทดสอบ MP (McSweeney และ Porter) (Conover and Iman, 1982) มีขั้นตอนการคำนวณ ดังนี้

วิธีทดสอบของ McSweeney และ Porter หรือวิธีทดสอบแบบแรงค์ทรานส์ฟอร์เมชัน (A Rank Transformation Test) สร้างตัวทดสอบสถิติสำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมจากแผนการทดลองแฟคทอเรียล 2 ปัจจัยที่มีการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ เพื่อทดสอบอิทธิพลหลักของปัจจัย A , B และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย A และ B ว่ามีผลต่อตัวแปรผลตอบหรือไม่ และใช้ X เป็นตัวแปรร่วม ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 จัดตารางแผนการทดลองแฟคทอเรียล 2 ปัจจัยที่มีการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยพิจารณาแต่ละระดับของทั้ง 2 ปัจจัย จากนั้นให้ค่าอันดับแก่ข้อมูลทั้งหมด โดยแบ่งเป็นข้อมูลของตัวแปรผลตอบ และข้อมูลของตัวแปรร่วม แทนค่าอันดับของข้อมูลจากตัวแปรทั้งสองด้วย R_{ijk} และ C_{ijk} ตามลำดับ ถ้าข้อมูลมีค่าเท่ากันใช้ค่าอันดับเฉลี่ย (Average Rank)

ขั้นตอนที่ 2 คำนวณสถิติทดสอบ MP จากตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมเช่นเดียวกับวิธีทดสอบแบบพารามตริก แต่ข้อมูลจะเป็นค่าอันดับของข้อมูล R_{ijk} และ C_{ijk} แทน จากนั้นนำไปทดสอบอิทธิพลของทรีทเมนต์ ดังนี้

(1) สถิติทดสอบ $MP_{AB} = \frac{MS(AB)_{(adj)}}{MSE_{(adj)}}$

โดยที่ MP_{AB} คือ ค่าสถิติทดสอบ MP เพื่อใช้ทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย A และ B ซึ่งมีการแจกแจงแบบเอฟที่มีจำนวนองศาอิสระเท่ากับ $(a-1)(b-1)$ และ $ab(n-1)-1$

ในการทดสอบสมมติฐาน จะปฏิเสธ H_0 ถ้า $MP_{AB} > F_{\alpha, [(a-1)(b-1), ab(n-1)-1]}$

(2) สถิติทดสอบ $MP_A = \frac{MS(A)_{(adj)}}{MSE_{(adj)}}$

โดยที่ MP_A คือ ค่าสถิติทดสอบ MP เพื่อใช้ทดสอบอิทธิพลหลักของปัจจัย A ซึ่งมีการแจกแจงแบบเอฟที่มีจำนวนองศาอิสระเท่ากับ $(a-1)$ และ $ab(n-1)-1$

ในการทดสอบสมมติฐาน จะปฏิเสธ H_0 ถ้า $MP_A > F_{\alpha, [(a-1), ab(n-1)-1]}$

(3) สถิติทดสอบ $MP_B = \frac{MS(B)_{(adj)}}{MSE_{(adj)}}$

โดยที่ MP_B คือ ค่าสถิติทดสอบ MP เพื่อใช้ทดสอบอิทธิพลหลักของปัจจัย B ซึ่งมีการแจกแจงแบบเอฟที่มีจำนวนองศาอิสระเท่ากับ $(b-1)$ และ $ab(n-1)-1$

ในการทดสอบสมมติฐาน จะปฏิเสธ H_0 ถ้า $MP_B > F_{\alpha, [(b-1), ab(n-1)-1]}$

2.3 ในการศึกษาี้ มีการกำหนดการแจกแจงของความคลาดเคลื่อน ดังนี้

2.3.1 การแจกแจงแบบปกติ (Normal Distribution) ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 100 ความแปรปรวนเท่ากับ 100 ลักษณะการแจกแจงที่มีความเบ้เท่ากับ 0 และความโด่งเท่ากับ 3.0

2.3.2 การแจกแจงแบบไม่ปกติ จะกำหนดความไม่เป็นปกติตามหลักเกณฑ์ของ Shapiro และคณะ ซึ่งแบ่งตามลักษณะความเบ้และความโด่งแบ่งเป็น 5 กรณี (Shapiro et al., 1968) ดังนี้

ตารางที่ 2 ลักษณะการแจกแจงแบบไม่ปกติที่ศึกษาในงานวิจัย

ลักษณะการแจกแจง	ความเบ้	ความโด่ง	จำนวนลักษณะ
ใกล้เคียงการแจกแจงแบบปกติ	0.0	2.8(0.8) 4.4	3
สมมาตรและหางยาว	0.0	5.2 (0.8) 6.0	2
สมมาตรและหางสั้น	0.0	2.0	1
ไม่สมมาตรและหางยาว	0.5	3.6 (0.8) 6.0	4
	0.75	3.6 (0.8) 6.0	4
	1.0	3.6 (0.8) 6.0	4
ไม่สมมาตรและหางสั้น	0.5	2.8	1
	0.75	2.8	1

หมายเหตุ การกำหนดค่าความโด่งในรูปทั่วไปคือ $x(y)z = x, (x + y), (x + 2y), \dots, z$

สำหรับแต่ละลักษณะการแจกแจง กำหนดให้ค่าพารามิเตอร์ ซึ่งได้แก่ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 100 และความแปรปรวนเท่ากับ 100

2.4 การพิจารณาความสามารถในการควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 โดยพิจารณาจากค่าประมาณความน่าจะเป็นของความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ต้องอยู่ในช่วง $[0.036, 0.064]$ สำหรับกรณีทดสอบสมมติฐานที่มีระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05

2.5 เปรียบเทียบอำนาจการทดสอบของสถิติทดสอบ และสรุปผลการศึกษา

3. วิธีการดำเนินงานวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ ข้อมูลที่นำมาใช้เป็นข้อมูลที่จำลองขึ้นตามลักษณะการแจกแจงของความคลาดเคลื่อนให้เป็นไปตามที่กำหนดด้วยเทคนิคมอนติคาร์โลบนเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์โดยโปรแกรม SAS เวอร์ชัน 9.1 ในการแจกแจงแต่ละลักษณะ และแต่ละขนาดกลุ่มตัวอย่าง เมื่อกำหนดค่าคงที่ในตัวแบบมีค่าเฉลี่ย (μ) เท่ากับ 50 และค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย ($\beta_{y,x}$) เท่ากับ 1 สำหรับอิทธิพลของทรีทเมนต์นั้นเป็นแบบคงที่ โดยที่ $\sum_{i=1}^a \alpha_i = 0$, $\sum_{j=1}^b \tau_j = 0$ และ $\sum_{i=1}^a (\alpha\tau)_{ij} = \sum_{j=1}^b (\alpha\tau)_{ij} = 0$ ซึ่งแบ่งเป็น 2 กรณี ดังนี้

- 1) กรณีสมมติฐานหลักเป็นจริง กำหนดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังนี้
 อิทธิพลของทรีทเมนต์ A : $\alpha_1 = \alpha_2 = 0$
 อิทธิพลของทรีทเมนต์ B : $\tau_1 = \tau_2 = 0$
- 2) กรณีสมมติฐานหลักไม่เป็นจริง กำหนดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังนี้
 อิทธิพลของทรีทเมนต์ A : $\alpha_1 = -2$, $\alpha_2 = 2$
 อิทธิพลของทรีทเมนต์ B : $\tau_1 = 5$, $\tau_2 = -5$

จากนั้นสร้างค่าคงที่ของตัวแปรร่วม X_{ijk} ซึ่งสร้างจากการแจกแจงแบบปกติโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 100 และความแปรปรวนเท่ากับ 100 และสร้างตัวแปรตาม Y_{ijk} โดยใช้ตัวแปรร่วม อิทธิพลของทรีทเมนต์และค่าความคลาดเคลื่อนตามที่กำหนด และให้ตัวแปรตามมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับตัวแปรร่วมตามตัวแบบของแผนแบบแฟกทอเรียล กำหนดปัจจัย A และ B มี 2 ระดับ สำหรับขนาดตัวอย่าง (N) ที่ทำการศึกษากำหนดจากจำนวนครั้งของการทำซ้ำ (n) ในแต่ละทรีทเมนต์คอมบิเนชัน ซึ่งในที่นี้จะศึกษากรณีที่แต่ละทรีทเมนต์คอมบิเนชันมีจำนวนครั้งของการทำซ้ำเท่ากัน กล่าวคือแผนแบบแฟกทอเรียล 2 ปัจจัยที่แต่ละปัจจัยมี 2 ระดับมีจำนวนการทำซ้ำเป็น 3, 4, ..., 8 ครั้ง จะเขียนแทนด้วยแผนแบบ 223, 224, 225, 226, 227 และ 228 โดยมีขนาดตัวอย่างเท่ากับ 12, 16, 20, 24, 28 และ 32 ตามลำดับ ส่วนระดับนัยสำคัญของการทดสอบ (α) เท่ากับ 0.05 จากนั้นนำข้อมูลที่สร้างไปวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมโดยใช้สถิติทดสอบ F และสถิติทดสอบ MP จำนวนค่าของสถิติทดสอบแต่ละวิธี เปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าวิกฤตในตารางการแจกแจงที่สอดคล้องกับระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยจะปฏิเสธสมมติฐานหลัก เมื่อค่าที่คำนวณได้มากกว่าวิกฤตในตาราง ทำเช่นนี้จนครบจำนวน 1,000 ครั้งในแต่ละสถานการณ์ และนับจำนวนครั้งของการปฏิเสธสมมติฐานหลัก จำนวนค่าประมาณความน่าจะเป็นของความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 และค่าร้อยละของอำนาจการทดสอบ ได้ดังนี้

$$\text{ค่าประมาณความน่าจะเป็นของความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1} = \frac{\text{จำนวนครั้งที่ปฏิเสธ } H_0 \text{ เมื่อ } H_0 \text{ เป็นจริง}}{1,000}$$

และ

$$\text{ค่าร้อยละของอำนาจการทดสอบ} = \frac{\text{จำนวนครั้งที่ปฏิเสธ } H_0 \text{ เมื่อ } H_1 \text{ เป็นจริง}}{1,000} \times 100$$

โดย ถ้าค่าประมาณความน่าจะเป็นของความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 จากผลการจำลองสถานการณ์ต่าง ๆ อยู่ในช่วง [0.036, 0.064] จะสรุปได้ว่า สถิติทดสอบนั้นสามารถควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ และถ้าค่าร้อยละของอำนาจการทดสอบสถิติตัวใดสูงกว่า แสดงว่า สถิติทดสอบตัวนั้นให้ค่าอำนาจการทดสอบดีกว่า

4. ผลการวิจัย

4.1 ค่าประมาณความน่าจะเป็นของความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ผลการวิจัยดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของค่าประมาณความน่าจะเป็นของความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ของสถิติทดสอบ F และ MP

ลักษณะการแจกแจง	N	อิทธิพลของปัจจัย					
		A		B		AB	
		F	MP	F	MP	F	MP
1) โกลัศวิงแบบปกติ	12	0.102	0.088	0.072	0.063	0.070	0.064
	16	0.085	0.075	0.063	0.062	0.060	0.061
	20	0.092	0.083	0.064	0.060	0.078	0.076
	24	0.095	0.089	0.072	0.063	0.066	0.060
	28	0.080	0.082	0.059	0.062	0.061	0.063
	32	0.087	0.083	0.063	0.073	0.064	0.061
2) สมมาตรและหางยาว	12	0.081	0.089	0.052	0.051	0.044	0.050
	16	0.078	0.089	0.061	0.063	0.055	0.059
	20	0.080	0.096	0.063	0.061	0.065	0.068
	24	0.080	0.084	0.061	0.065	0.052	0.061
	28	0.082	0.095	0.053	0.056	0.064	0.065
	32	0.090	0.095	0.055	0.062	0.061	0.065
3) สมมาตรและหางสั้น	12	0.092	0.079	0.082	0.071	0.085	0.061
	16	0.089	0.077	0.065	0.061	0.060	0.050
	20	0.076	0.071	0.083	0.061	0.058	0.069
	24	0.090	0.089	0.070	0.065	0.075	0.077
	28	0.093	0.080	0.063	0.051	0.072	0.068
	32	0.098	0.098	0.059	0.052	0.059	0.061
4) ไม่สมมาตรและหางยาว	12	0.086	0.082	0.061	0.062	0.060	0.064
	16	0.086	0.086	0.059	0.064	0.059	0.061
	20	0.088	0.089	0.062	0.061	0.063	0.059
	24	0.092	0.093	0.065	0.064	0.062	0.062
	28	0.086	0.087	0.064	0.060	0.064	0.067
	32	0.090	0.090	0.063	0.067	0.062	0.064
5) ไม่สมมาตรและหางสั้น	12	0.117	0.087	0.081	0.058	0.075	0.057
	16	0.086	0.078	0.073	0.061	0.070	0.064
	20	0.089	0.078	0.072	0.059	0.064	0.060
	24	0.098	0.090	0.074	0.069	0.061	0.062
	28	0.090	0.084	0.052	0.058	0.052	0.063
	32	0.084	0.080	0.063	0.062	0.060	0.068
6) แบบปกติ	12	0.110	0.087	0.076	0.063	0.079	0.097
	16	0.095	0.077	0.069	0.064	0.063	0.070
	20	0.084	0.088	0.064	0.067	0.061	0.055
	24	0.096	0.092	0.062	0.059	0.057	0.057
	28	0.094	0.073	0.059	0.057	0.064	0.060
	32	0.081	0.081	0.062	0.069	0.062	0.055

จากตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาสถิติทดสอบทั้ง 2 วิธีที่ใช้ทดสอบอิทธิพลของปัจจัยหลักของปัจจัย A พบว่าไม่มีสถิติทดสอบใดที่สามารถควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ตามเกณฑ์ที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้คือ อยู่ในช่วง $[0.036, 0.064]$ ซึ่งค่าที่ได้จากการศึกษาจะตกอยู่นอกช่วงที่กำหนด คือมากกว่า 0.064 โดยเฉลี่ยประมาณ 0.02 - 0.03

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบความสามารถในการควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ของสถิติทดสอบ F และ MP สำหรับใช้ทดสอบอิทธิพลหลักของปัจจัย B และอิทธิพลร่วมของ AB

ลักษณะการแจกแจง	การเปรียบเทียบอิทธิพลของปัจจัย	
	B	AB
1) โกล้เลี้ยงแบบปกติ	สถิติทดสอบ F ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ เมื่อขนาดตัวอย่างโกล้เลี้ยง 30 ส่วนสถิติทดสอบ MP ควบคุมได้แม้ว่าตัวอย่างมีขนาดเล็ก ($N = 12, 16$ และ 20)	สถิติทดสอบ F ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ เมื่อขนาดตัวอย่างโกล้เลี้ยง 30 ส่วนสถิติทดสอบ MP ควบคุมได้ ยกเว้นที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 20
2) สมมาตรและหางยาว	สถิติทดสอบ F และ MP ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ยกเว้นที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 24 สถิติทดสอบ MP ควบคุมไม่ได้	สถิติทดสอบ F และ MP ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ยกเว้นที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 20 และ 32
3) สมมาตรและหางสั้น	สถิติทดสอบ F ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 28 และ 32 สถิติทดสอบ MP ควบคุมได้ ยกเว้นที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 12 และ 24	สถิติทดสอบ F ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ที่ขนาดตัวอย่าง 16, 20 และ 32 ส่วนสถิติทดสอบ MP ควบคุมได้แม้ว่าตัวอย่างมีขนาดเล็ก
4) ไม่สมมาตรและหางยาว	สถิติทดสอบ MP ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ยกเว้นที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 32 ในขณะที่สถิติทดสอบ F ควบคุมได้ ที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 28 และ 32	สถิติทดสอบ F และ MP ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ทุกขนาดของกลุ่มตัวอย่าง
5) ไม่สมมาตรและหางสั้น	สถิติทดสอบ F ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 28 และ 32 ส่วนสถิติทดสอบ MP ควบคุมได้แม้ว่าตัวอย่างมีขนาดเล็ก	สถิติทดสอบ F ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ยกเว้นที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 12 และ 16 ส่วนสถิติทดสอบ MP ควบคุมได้ ที่ทุกขนาดของกลุ่มตัวอย่าง
6) แบบปกติ	สถิติทดสอบ F ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ เมื่อกลุ่มของขนาดตัวอย่างเท่ากับ 20 ขึ้นไป ส่วนสถิติทดสอบ MP ควบคุมได้ บางกลุ่มของขนาดตัวอย่าง	สถิติทดสอบ F และ MP ควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ ยกเว้นที่ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 12

4.2 ค่าอำนาจการทดสอบ ได้ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบช่วงของค่าร้อยละของค่าประมาณอำนาจการทดสอบของสถิติทดสอบ F และ MP

ลักษณะการแจกแจง	อิทธิพลของปัจจัย					
	A		B		AB	
	F	MP	F	MP	F	MP
1) โกล้เคียงแบบปกติ	13.2 - 22.7	9.2 - 18.6	32.3 - 73.7	25.2 - 65.6	80.7 - 99.9	74.5 - 99.7
2) สมมาตรและหางยาว	12.2 - 20.9	10.6 - 17.5	29.9 - 68.5	26.5 - 65.2	65.6 - 99.4	69.2 - 99.7
3) สมมาตรและหางสั้น	12.3 - 22.1	9.2 - 16.9	35.5 - 74.4	25.4 - 64.5	81.6 - 100.0	69.9 - 99.9
4) ไม่สมมาตรและหางยาว	11.2 - 26.0	9.4 - 20.0	28.8 - 75.8	24.4 - 67.4	65.3 - 99.9	65.2 - 99.9
5) ไม่สมมาตรและหางสั้น	13.8 - 28.7	8.9 - 17.5	37.6 - 75.7	26.5 - 66.2	82.9 - 100.0	74.4 - 99.9
6) แบบปกติ	15.2 - 22.9	9.8 - 19.0	36.1 - 73.4	24.6 - 63.1	83.3 - 100.0	74.8 - 99.8

จากตารางที่ 5 แสดงค่าแบบช่วงของร้อยละค่าประมาณอำนาจการทดสอบของสถิติทดสอบ F และ MP ในลักษณะการแจกแจงทั้ง 6 กลุ่มที่ทำการศึกษา ซึ่งในแต่ละกลุ่มมีขนาดตัวอย่างเท่ากับ 12 , 16 , 20 , 24 , 28 และ 32 พบว่าการเปรียบเทียบอิทธิพลหลักของปัจจัย A , B และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย A และ B สถิติทดสอบ F ให้ค่าช่วงของร้อยละของค่าประมาณอำนาจการทดสอบสูงกว่าสถิติทดสอบ MP ในทุกลักษณะการแจกแจงของความคลาดเคลื่อน แสดงว่าสถิติทดสอบ F ให้ค่าอำนาจการทดสอบที่สูงกว่าสถิติทดสอบ MP และจากผลการศึกษา เมื่อขนาดตัวอย่างเพิ่มขึ้น สถิติทดสอบทั้ง 2 วิธีมีแนวโน้มในการให้ค่าอำนาจการทดสอบที่สูงขึ้น และใกล้เคียงกัน

5. สรุปผลการวิจัย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสถิติทดสอบ F และ MP ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมของแผนแบบแฟคทอเรียล ซึ่งแบ่งการศึกษออกเป็น 2 ส่วนคือความสามารถในการควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 และอำนาจการทดสอบ สรุปผลได้ดังนี้

1. ผลการศึกษาความสามารถในการควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ของสถิติทดสอบ F และ MP เมื่อข้อมูล
- ที่ทำการศึกษามีการแจกแจงของความคลาดเคลื่อนเป็นแบบปกติและไม่ปกติ รวม 6 ลักษณะ กรณีศึกษา 2 ปัจจัย
- เมื่อแต่ละปัจจัยมี 2 ระดับ จำนวนการทำการซ้ำเท่ากับ 3, 4, ... , 8 ครั้ง สรุปผลดังนี้
- สถิติทดสอบ F สามารถควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้ดีสำหรับข้อมูลที่มีขนาดตัวอย่างใกล้เคียง 30
- และการแจกแจงของความคลาดเคลื่อนใกล้เคียงแบบปกติ แต่เมื่อขนาดตัวอย่างมากขึ้น ลักษณะการแจกแจงของความคลาด
- เคลื่อนก็จะไม่มีผลต่อความสามารถในการควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1
- สถิติทดสอบ MP สามารถควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้สำหรับข้อมูลเกือบทุกขนาดตัวอย่างโดย
- เฉพาะข้อมูลที่มีตัวอย่างขนาดเล็กซึ่งมีจำนวนการทำการซ้ำเท่ากับ 2 และ 3 ครั้ง แม้ว่าลักษณะการแจกแจงของความคลาดเคลื่อน
- เป็นแบบปกติ หรือไม่ปกติ สถิติทดสอบ MP ยังคงสามารถควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ 1 ได้

2. ค่าอำนาจการทดสอบ เปรียบเทียบระหว่างสถิติทดสอบ F และ MP สรุปผล ดังนี้

สถิติทดสอบ F เป็นสถิติทดสอบที่ให้ค่าอำนาจการทดสอบสูงกว่าสถิติทดสอบ MP ในทุกลักษณะการแจกแจงของความคลาดเคลื่อน และทุกกลุ่มของขนาดตัวอย่าง และเมื่อขนาดตัวอย่างเพิ่มขึ้นสถิติทดสอบแต่ละวิธีจะให้ค่าอำนาจการทดสอบที่สูงขึ้น และมีค่าใกล้เคียงกัน

ดังนั้นจากการศึกษานี้แม้ว่าลักษณะของข้อมูลจะไม่ใช่ไปตามข้อสมมติเบื้องต้นของวิธีการทางสถิติพารามตริก แต่เมื่อพิจารณาจากความสามารถควบคุมความคลาดเคลื่อนประเภทที่ I ควบคู่กับค่าอำนาจการทดสอบ สรุปได้ว่า สถิติทดสอบ F ยังคงให้ประสิทธิภาพสูงในการวิเคราะห์ข้อมูล ส่วนสถิติทดสอบ MP เป็นวิธีการทางสถิตินอนพารามตริกที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้เช่นกัน แต่อาจมีความซับซ้อนในการคำนวณ

6. ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาประสิทธิภาพของสถิติทดสอบอธิพิลทรีทเมนต์ ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมของแผนแบบแฟกทอเรียล ควรศึกษาสถิติทดสอบวิธีอื่น ๆ เพื่อหาสถิติทดสอบที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีลักษณะแตกต่างกัน
2. กำหนดให้ลักษณะการแจกแจงของความคลาดเคลื่อนเป็นแบบอื่น ๆ เช่น การแจกแจงแบบโคสเคอร์ว์ เป็นต้น
3. ในการศึกษาครั้งนี้กำหนดให้ขนาดตัวอย่างในแต่ละทรีทเมนต์คอมบินชันมีจำนวนเท่ากัน ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปอาจกำหนดให้ขนาดตัวอย่างในแต่ละทรีทเมนต์คอมบินชันมีจำนวนไม่เท่ากัน

7. เอกสารอ้างอิง

อนันต์ชัย เขื่อนธรรม. (2549). วิธีการทางสถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 424-442.

Conover, W.J. and Iman, R.L. (1982). Analysis of Covariance using the rank transformation. *Biometric*. 38 : 715-745.

Lewis - Beck, M.S. (1993). *Experimental Design and Methods*. London : sage. 313-322.

Shapiro, S.S. , Wilk, M.B. and Chen, H.J. (1968). A comparative study of various tests for normality. Journal of the American Statistics Association. 63 : 1343-1372.

ความหลากหลายของพืชสกุลไทร (*Ficus* L.) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

วัฒนา ตันมิ่ง¹ และ ประนอม จันทรโทยชัย¹

บทคัดย่อ

ศึกษาความหลากหลายชนิดของพืชสกุลไทร ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบพืช 47 ชนิด ซึ่งเป็นพืชที่นำเข้ามาปลูก 6 ชนิด สร้างรูปวิธานระบุชนิด โดยอาศัยลักษณะวิสัย ใบ และช่อดอก พร้อมข้อมูลการกระจายพันธุ์ ลักษณะถิ่นอาศัย และชื่อพื้นเมือง

Abstract

Species diversity of the genus *Ficus* in the northeast of Thailand was studied. Forty-seven species were enumerated, including six introduced species. A key to species, based on habit, leaf and syconium characteristics is constructed. Geographical distribution, habitats and vernacular names are provided.

คำสำคัญ : พืชสกุลไทร ความหลากหลายชนิด

Keywords : *Ficus*, Species diversity, Northeast of Thailand

บทนำ

พืชสกุลไทร (*Ficus* L.) อยู่ในวงศ์ Moraceae แพร่กระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางทั้งในเขตร้อนและกึ่งร้อน มีศูนย์กลางอยู่ที่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แถบประเทศมาเลเซีย ทั่วโลกมีประมาณ 750 ชนิด (Weiblen, 2000) เขตพรรณพฤกษชาติส่วนใหญ่ในภูมิภาคในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีการศึกษาพรรณพฤกษชาติ และได้รายงานความหลากหลายของพืชสกุลไทรแล้ว ได้แก่ พม่า 55 ชนิด (Kurz, 1877) คาบสมุทรมลายู 101 ชนิด (Ridley, 1924 และ Kochummen, 1978) ภูมิภาคอินโดจีน 92 ชนิด (Gagnepain, 1928-1929) เกาะชาว

71 ชนิด (Backer & Bakhuizen van den Brink, 1965) รัฐซาบะห์และซาราวัก ของประเทศมาเลเซีย 70 ชนิด (Kochummen, 2000) และภูมิภาคมาเลเซีย (Malesian region) 367 ชนิด (Berg & Corner, 2005) ในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาทบทวนพืชสกุลนี้ แต่มีการรวบรวมรายชื่อไว้ในหนังสือชื่อ พรรณไม้แห่งประเทศไทย (ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้, สำนักวิชาการป่าไม้, กรมป่าไม้, 2544) มีพืชในสกุลไทร 70 ชนิด ซึ่งนับว่ามีความหลากหลายมาก แต่ปัจจุบันยังไม่มีรูปวิธานสำหรับระบุชนิดพืชสกุลไทรในประเทศไทย ซึ่งการระบุชนิดต้องใช้เอกสารอ้างอิงการศึกษา

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

พรรณไม้ของต่างประเทศ จึงควรที่จะมีการศึกษา ทบสวนพืชสกุลนี้ และสร้างรูปวิธานระบุชื่อวิทยาศาสตร์ เพื่อเป็นประโยชน์ในการศึกษาพืชสกุลไทร ในด้านอื่นๆ ต่อไป

พืชสกุลไทรหลายชนิด ใช้ประโยชน์เป็นยา สมุนไพร เช่น นิโครธ (*F. benghalensis*) ไทรย้อย ใบแหลม (*F. benjamina*) มะเดื่อหอม (*F. hirta*) มะเดื่ออุทุมพร (*F. racemosa*) โพขันทก (*F. rumphii*) เป็นต้น (กองกานดา ชยามฤต และ ดินา ผู้พัฒนาพงศ์, 2545) ผลสุกของมะเดื่อฝรั่ง (*F. carica*) นิยมนำมา รับประทาน ซ่อดอกอ่อนและยอดอ่อนของชิงช้า (*F. fistulosa*) มะเดื่ออุทุมพร และมะเดื่อผา (*F. squamosa*) นำมารับประทานเป็นผักสด จิมน้ำพริก ไทร หลายชนิดนิยมนำปลูกเป็นไม้ประดับให้ร่มเงาตามสวนสาธารณะ (สุนน มาสุธน, 2522)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ประมาณหนึ่งในสามของพื้นที่ประเทศไทย โดยพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบสูง มีภูเขาล้อมรอบเป็นแอ่งคล้ายกระทะ มีป่าไม้ธรรมชาติที่หลากหลาย โดยพื้นที่ป่าร้อยละ 80 เป็นป่าเต็งรัง (ธวัชชัย สันติสุข, 2550) นอกจากนั้นยังมี ป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง ป่าดิบเขา และป่าสนเขา กระจายอยู่ตามบริเวณที่เป็นภูเขา ซึ่งครอบคลุมเขต พรรณพฤษชาติของประเทศไทยสองเขต คือ เขต ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NE) และเขตภาคตะวันออก (E) แต่พบว่า มีการศึกษา และเก็บตัวอย่างพืชสกุลไทร ในภูมิภาคนี้้น้อย มีจำนวน 20 ชนิด (สุนน มาสุธน, 2522; นรเศรษฐ์ มุลาดี และ วิศัย พรหมเทพ, 2542; วัฒนา ดันมิ่ง, 2548) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจ ความหลากหลายของพืชสกุลไทร ศึกษาฐานวิธาน และสร้างรูปวิธานระบุชนิดของพืชสกุลไทรในภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ พร้อมทั้งบันทึกข้อมูลการกระจาย พันธุ์ และถิ่นอาศัย เพื่อเป็นพื้นฐานของการศึกษาพืช สกุลไทรในประเทศไทยต่อไป

วิธีดำเนินงานวิจัย

ศึกษาข้อมูลของพืชสกุลไทร จากเอกสาร ที่เกี่ยวข้อง และตัวอย่างพรรณไม้แห้ง จากพิพิธภัณฑ์ พืชในประเทศ ได้แก่ พิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรม วิชาการเกษตร (BK) หอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช (BKF) พิพิธภัณฑ์พืช มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ (CMU) พิพิธภัณฑ์พืช มหาวิทยาลัยขอนแก่น (KKU) และพิพิธภัณฑ์พืช สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ (QBG) ออกสำรวจและเก็บตัวอย่าง ภาคนามในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และบันทึก ลักษณะต่างๆ ของพืช และจัดทำเป็นตัวอย่างพันธุ์ ไม้แห้ง ระบุชื่อวิทยาศาสตร์โดยใช้เอกสารพรรณ- พฤษชาติในภูมิภาคใกล้เคียง (Kurz, 1877; Ridley, 1924; Gagnepain, 1928-1929; Backer and Bakhuizen van den Brink, 1965; Kochummen, 1978; Kochummen, 2000 และ Berg and Corner, 2005) ศึกษาฐานวิธานและสร้างรูปวิธานระบุชนิด ข้อมูล ถิ่นอาศัย และการกระจายพันธุ์ ชื่อพื้นเมือง (ตารางที่ 1) บันทึกจากภาคสนาม จากตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืช และอ้างอิงจากเอกสาร (ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้, สำนักวิชาการป่าไม้, กรมป่าไม้, 2544) ตัวอย่าง พันธุ์ไม้ต้องเก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืชมหาวิทยาลัย ขอนแก่น

ผลการวิจัย

จากการศึกษา พบพืชสกุลไทร 47 ชนิด เป็น พืชท้องถิ่นที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 41 ชนิด และเป็นพืชปลูกที่นำเข้าจากท้องถิ่นอื่น 6 ชนิด

พืชสกุลไทรมีลักษณะวิสัยเป็นไม้ต้น ไม้พุ่ม ไม้เลื้อย พืชอิงอาศัย หรือไทรพัน เปลือกลำต้นเรียบ เกลี้ยง ทุกส่วนของพืชมียางขาว ใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงแบบเวียนหรือสลับ บางชนิดเรียงแบบตรงข้าม ส่วนใหญ่ใบหนาคล้ายหนังเป็นมัน มักมีเส้นแขนงใบ ที่ฐาน ใบปรากฏชัดเจน 1 คู่ ใบส่วนใหญ่เป็นรูปกลม หุ้มยอด ร่วงง่ายและทิ้งรอยแผลไว้เป็นวงรอบกิ่ง ช่อดอก มีฐานรองช่อดอกเจริญห่อหุ้มดอกขนาดเล็กไว้

มองดูภายนอกคล้ายกับผล (รูปที่ 1) ช่อดอกมีช่องเปิด ด้านบนซึ่งมีใบประดับเรียงซ้อนกัน ช่อดอกแยกเพศ แยกต้น หรือสมบูรณ์เพศ ออกเป็นคู่ที่ช่อใบ เป็น กลุ่ม ตามลำต้นหรือกิ่งขนาดใหญ่ ออกเป็นไหลทอดไปตามพื้น หรือออกเป็นกลุ่มบนคุ่มสั้นขนาดเล็กที่ช่อใบ หรือกิ่งขนาดเล็ก ส่วนใหญ่มีใบประดับที่ฐานช่อดอก 3 ใบ บางชนิดมีใบประดับที่ด้านข้างช่อดอก ผนังด้านในของฐานรองช่อดอก (รูปที่ 2) ส่วนใหญ่มีใบประดับ ระหว่างดอก บางชนิดมีขน บางชนิดมีใบประดับดอก แยกเพศ มีกลีบรวม 3-6 กลีบ เชื่อมหรือแยกกัน หรือไม่มีกลีบ ดอกเพศผู้ มีเกสรเพศผู้ 1-2 อัน อับเรณู 2 พู แตกตามยาว ส่วนใหญ่ก้านเกสรสั้น อวบน้ำ

บางชนิดอาจพบเกสรเพศเมียที่เป็นหมัน ดอกกอด มีรังไข่ไปง่ ก้านเกสรสั้น ติดด้านข้างก่อนไปทาง ด้านบน และยอดเกสรบานคล้ายปากแตร หรือทรง กระบอก ดอกเพศเมีย มีรังไข่ตั้งตรงหรือเบี้ยว มี 1 ช่อง มี 1 ออวูล ก้านเกสรเรียวยาว ติดด้านข้างหรือที่ยอด ของรังไข่ ยอดเกสรเรียวยาว หรือแยกเป็น 2 แฉก แหลม หรือรูปทรงกระบอก ผลแห้งเมล็ดล่อน หรือผลเมล็ด ติดแข็ง เมล็ดคล้ายรูปไต หรือรี ก่อนข้างแบน

จากการศึกษาพื้นฐานวิธานเปรียบเทียบระหว่างพืชสกุลไทรแต่ละชนิด สามารถสร้างรูปวิธานระบุชนิด โดยอาศัยลักษณะวิสัย ใบ และช่อดอกได้ ดังนี้

รูปวิธานระบุชนิด

1. ช่อดอกออกตามลำต้นหรือกิ่งขนาดใหญ่ หรือเป็นไหลทอดไปตามพื้นดิน	2
1. ช่อดอกออกที่ช่อใบ หรือกิ่งใต้บริเวณที่มีใบ	8
2. ไม้พุ่ม	38. <i>F. squamosa</i>
2. ไม้ต้น	3
3. ช่อดอกสมบูรณ์เพศ	33. <i>F. racemosa</i>
3. ช่อดอกแยกเพศ แยกต้น	4
4. ใบเรียงแบบตรงข้าม	21. <i>F. hispida</i>
4. ใบเรียงแบบเวียน หรือเกือบตรงข้าม	5
5. แผ่นใบไม่สมมาตร	37. <i>F. semicordata</i>
5. แผ่นใบสมมาตร	6
6. ขอบใบจักซี่ฟัน	4. <i>F. auriculata</i>
6. ขอบใบเรียบ	7
7. ใบรูปหัวใจ รูปใบหอก รูปไข่ หรือรูปขอบขนาน	45. <i>F. variegata</i>
7. ใบรูปไข่กลับ	15. <i>F. fistulosa</i>
8. ช่อดอกแยกเพศ แยกต้น	9
8. ช่อดอกสมบูรณ์เพศ	22
9. ใบเรียงแบบเวียน	10
9. ใบเรียงแบบสลับ	13
10. ขอบใบหยักฟันเลื่อย หรือเว้าเป็นพู	20. <i>F. hirta</i>
10. ขอบใบเรียบ	11
11. ก้านช่อดอกยาวน้อยกว่า 5 มิลลิเมตร เส้นแขนงใบย่อยแบบจั้นบันได	9. <i>F. chartacea</i>
11. ก้านช่อดอกยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร เส้นแขนงใบย่อยแบบร่างแห	12

12. ปลายใบกลม ใบรูปไข่กลับ หรือคล้ายสามเหลี่ยมกลับ	12. <i>F. deltoidea</i>
12. ปลายใบเรียวแหลม ใบรูปหอกกลับ	22. <i>F. ischnopoda</i>
13. ไม่มีเลื้อยมีรากยึดเกาะบนก้อนหินหรือต้นไม้ใหญ่	14
13. มีพุ่ม หรือไม่มีเลื้อยทอดนอน	16
14. เส้นผ่านศูนย์กลางช่อดอก ยาวไม่เกิน 2 เซนติเมตร	36. <i>F. sagittata</i>
14. เส้นผ่านศูนย์กลางช่อดอก ยาวมากกว่า 2 เซนติเมตร	15
15. ฐานใบมน ถึงรูปรี ช่อดอกกลม	32. <i>F. punctata</i>
15. ฐานใบรูปหัวใจ ช่อดอกรูปรางคล้ายผลชมพู	31. <i>F. pumila</i>
16. มีก้านช่อดอก	17
16. ไม่มีก้านช่อดอก คอช่อดอกยาวคล้ายก้าน	21
17. มีใบประดับที่ก้านช่อดอก	41. <i>F. subulata</i>
17. ไม่มีใบประดับที่ก้านช่อดอก	18
18. ไม่มีเลื้อยทอดนอน	3. <i>F. assamica</i>
18. มีพุ่มตั้งตรง หรือมีกิ่งไถ่พื้นทอดเป็นไหล	19
19. ใบยาวมากกว่า 15 เซนติเมตร	27. <i>F. parietalis</i>
19. ใบยาวไม่เกิน 15 เซนติเมตร	20
20. ขอบใบเรียบ	40. <i>F. subinsisa</i>
20. ขอบใบหยักซี่ฟัน หรือเว้าเป็นพู	18. <i>F. heterophylla</i>
21. ปลายใบมีติ่งยาวคล้ายหาง	19. <i>F. heteropleura</i>
21. ปลายใบแหลม หรือเรียวแหลม	44. <i>F. tinctoria</i> ssp. <i>gibbosa</i>
22. ไม่มีต้นไม่มีรากอากาศ	23
22. มีทรพน์ หรือมีต้นมีรากอากาศ	24
23. ผิวใบด้านล่างสาก ใบยาวมากกว่า 18 เซนติเมตร	8. <i>F. callosa</i>
23. ผิวใบด้านล่างเกลี้ยง ใบยาวน้อยกว่า 18 เซนติเมตร	46. <i>F. vasculosa</i>
24. ช่อดอกออกเป็นกลุ่ม บนตุ่มสั้น	25
24. ช่อดอกออกเดี่ยวหรือเป็นคู่	26
25. มีก้านช่อดอก โคนก้านใบมีขนนุ่มสีน้ำตาล	42. <i>F. subpisocarpa</i> ssp. <i>pubipoda</i>
25. ไม่มีก้านช่อดอก โคนก้านใบเกลี้ยงหรือหลุดลอกเป็นสะเก็ด	16. <i>F. geniculata</i>
26. มีก้านช่อดอก	27
26. ไม่มีก้านช่อดอก	31
27. เส้นผ่านศูนย์กลางช่อดอกมากกว่า 1.5 เซนติเมตร	2. <i>F. annulata</i>
27. เส้นผ่านศูนย์กลางช่อดอกไม่เกิน 1.5 เซนติเมตร	28
28. ใบรูปสามเหลี่ยมกลับ	26. <i>F. natalensis</i> ssp. <i>leprieurii</i>
28. ใบรูปรี รูปไข่ถึงรูปขอบขนาน	29
29. ก้านช่อดอกยาวมากกว่า 8 มิลลิเมตร	
29. ก้านช่อดอกยาวน้อยกว่า 8 มิลลิเมตร	30

30. ใบประดับที่ฐานติดทน
30. ใบประดับที่ฐานร่วงง่าย
31. หูใบยาวมากกว่า 6 เซนติเมตร
31. หูใบยาวไม่เกิน 6 เซนติเมตร
32. ผิวใบมีขน
32. ผิวใบเกลี้ยง
33. ขนที่ผิวใบร่วงง่าย
33. ขนที่ผิวใบติดทน
34. ใบประดับที่ฐานช่อดอก ยาวไม่เกิน 5 มิลลิเมตร
34. ใบประดับที่ฐานช่อดอก ยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร
35. ช่อดอกเปิดด้านนอก ใบประดับปิดไม่สนิท มีลักษณะเป็นรู
35. ช่อดอกเปิดด้านนอก มีใบประดับปิดสนิท
36. ช่อดอกรูปรี หรือรูปขอบขนาน
36. ช่อดอกรูปกลมแป้น
37. หูใบมีขน อย่างน้อยที่โคนหูใบ
37. หูใบเกลี้ยง
38. ปลายใบเป็นติ่งยาวคล้ายหาง
38. ปลายใบกลม มน แหลม หรือเรียวแหลม
39. ปลายใบเรียวแหลม
39. ปลายใบกลม มน หรือแหลม
40. แผ่นใบรูปหัวใจ รูปคล้ายสามเหลี่ยม หรือรูปไข่กว้าง
40. แผ่นใบรูปไข่แคบ รูปรี หรือรูปขอบขนาน
41. เส้นแขนงใบย่อย แบบร่างแห
41. เส้นแขนงใบย่อย ขนานกับเส้นแขนงใบ
42. กอช่อดอกเรียวคล้ายก้าน ยาว 2-5 มิลลิเมตร
42. ไม่มีกอช่อดอก
43. ใบประดับที่ฐานช่อดอกยาว 3-5 มิลลิเมตร
43. ใบประดับที่ฐานช่อดอกยาวน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร
44. ก้านใบยาวมากกว่า 3 เซนติเมตร
44. ก้านใบยาวไม่เกิน 3 เซนติเมตร
45. ใบประดับที่ฐานช่อดอกยาวไม่เกิน 2 มิลลิเมตร
45. ใบประดับที่ฐานช่อดอกยาวมากกว่า 2 มิลลิเมตร
46. เส้นกลางใบเว้าลง เส้นแขนงใบที่ฐานชัดเจน
46. เส้นกลางใบนูนขึ้น เส้นแขนงใบที่ฐานไม่ชัดเจน
43. *F. talbotii*
10. *F. concinna*
14. *F. elastica*
32
33
35
13. *F. drupacea*
34
30. *F. pubilimba*
5. *F. benghalensis*
36
37
28. *F. pellucidopunctata*
29. *F. pisocarpa*
24. *F. maclellandii*
38
34. *F. religiosa*
39
40
44
35. *F. rumphii*
41
47. *F. virens*
42
23. *F. kurzii*
43
39. *F. stricta*
6. *F. benjamina*
1. *F. altissima*
45
25. *F. microcarpa*
46
7. *F. callophylla*
11. *F. curtipes*

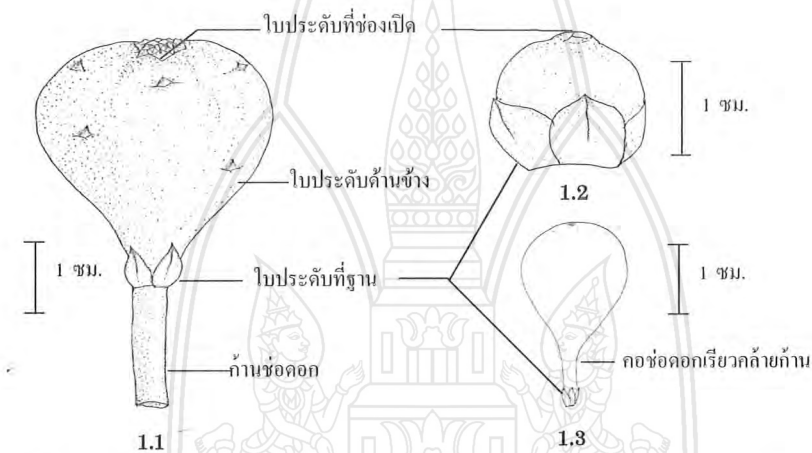
ตารางที่ 1 การกระจายพันธุ์ ถิ่นอาศัย และชื่อพื้นเมืองของพืชสกุลไทรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ชื่อวิทยาศาสตร์	การกระจายพันธุ์	ถิ่นอาศัย	ชื่อพื้นเมือง
1. <i>F. altissima</i>	1, 2, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 19, 20	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	กร่าง ไทร
2. <i>F. annulata</i>	1, 2, 4, 6, 11, 12, 13	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	ไทร
3. <i>F. assamica</i>	2, 5, 7, 8, 18, 20	ริมดิ่งแม่น้ำโขง	สลอดน้ำ
4. <i>F. auriculata</i>	2, 13	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	มะเดื่อหัว้า
5. <i>F. benghalensis</i>	11	พืชปลูก	นิโครธ
6. <i>F. benjamina</i>	ทุกจังหวัด	ป่าดิบแล้ง พืชปลูก	ไทรย้อยใบแหลม
7. <i>F. callophylla</i>	2, 5, 6, 7, 12, 13, 14, 20	ป่าดิบแล้ง	ไทร
8. <i>F. callosa</i>	1, 2, 7, 12, 13, 20	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	มะเดื่อควาง
9. <i>F. chartacea</i>	5, 7	ริมลำธาร ป่าดิบแล้ง	มะเดื่อขี้นก เค็ดดิน
10. <i>F. concinna</i>	1, 12	ป่าเบญจพรรณ ดิบแล้ง	ไทร
11. <i>F. curtipes</i>	ทุกจังหวัด	ป่าเต็งรัง เบญจพรรณ	ไทรหิน ไซคาน
12. <i>F. deltoidea</i>	ทุกจังหวัด	พืชปลูก	สาธิกาลิ้นทอง
13. <i>F. drupacea</i>	1, 2, 5, 13	เบญจพรรณ ดิบแล้ง	ลูงชน
14. <i>F. elastica</i>	ทุกจังหวัด	พืชปลูก	ยางอินเดีย
15. <i>F. fistulosa</i>	1, 2, 4, 5, 6, 7, 12, 13, 20	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	ชิงขาว
16. <i>F. geniculata</i>	1, 5, 11	ป่าเบญจพรรณ ดิบแล้ง	ไธ
17. <i>F. glaberrima</i>	1, 2	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	เดื่อไทร
18. <i>F. heterophylla</i>	ทุกจังหวัด	ริมน้ำ ป่าดิบแล้ง	สลอดน้ำ
19. <i>F. heteropleura</i>	4, 5, 6, 7, 20	ป่าดิบแล้ง	ไทร สลอดหิน
20. <i>F. hirta</i>	1, 2, 5, 6, 7, 12, 13, 19, 20	ป่าเบญจพรรณ ดิบแล้ง	มะเดื่อหอม
21. <i>F. hispida</i>	ทุกจังหวัด	ป่าเต็งรัง เบญจพรรณ	มะเดื่อปล้อง
22. <i>F. ischnopoda</i>	1, 2, 5, 6, 7, 9, 12, 13	ในลำธาร ป่าดิบแล้ง	ลูกกล้าย
23. <i>F. kurzii</i>	13	ป่าดิบแล้ง	ไทรยอดข้อย ไทรผู้ดี
24. <i>F. maclellandii</i>	ทุกจังหวัด	ป่าดิบแล้ง พืชปลูก	ไทรย้อย ไทรใบยาว
25. <i>F. microcarpa</i>	ทุกจังหวัด	ป่าดิบแล้ง พืชปลูก	ไทรย้อยใบหูก
26. <i>F. natalensis</i> ssp. <i>leprieurii</i>	11	พืชปลูก	ไทรใบสามเหลี่ยม
27. <i>F. parietalis</i>	2	ป่าดิบแล้ง	มะเดื่อชน
28. <i>F. pelucidopunctata</i>	2	ป่าเต็งรังผสมสน	ไทรตอก
29. <i>F. pisocarpa</i>	11	พืชปลูก	ไทรเมล็ดดำ
30. <i>F. pubilimba</i>	ทุกจังหวัด	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	ไทร
31. <i>F. pumila</i>	ทุกจังหวัด	พืชปลูก	มะเดื่อเถา ดินดึกแก
32. <i>F. punctata</i>	1, 2, 4, 7, 12, 13, 20	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	มะเดื่อเถาใบใหญ่
33. <i>F. racemosa</i>	ทุกจังหวัด	ป่าเต็งรัง เบญจพรรณ	มะเดื่ออุทุมพร
34. <i>F. religiosa</i>	ทุกจังหวัด	พืชปลูก	โพศรีมหาโพธิ์
35. <i>F. rumphii</i>	ทุกจังหวัด	ป่าเต็งรัง เบญจพรรณ	โพขี้นก โพป่า
36. <i>F. sagittata</i>	1, 2, 4, 6, 7, 12, 13, 20	ป่าดิบเขา	มะเดื่อเถาใบหอก
37. <i>F. semicordata</i>	2, 4	ป่าดิบแล้ง	มะเดื่อปล้องหิน
38. <i>F. squamosa</i>	1	ในลำธาร ป่าดิบแล้ง	มะเดื่อผา มะเดื่อน้ำ
39. <i>F. stricta</i>	2, 13	ดิบแล้ง	ไทร
40. <i>F. subincisa</i>	1, 2	ป่าดิบเขา	เดื่อน้อย

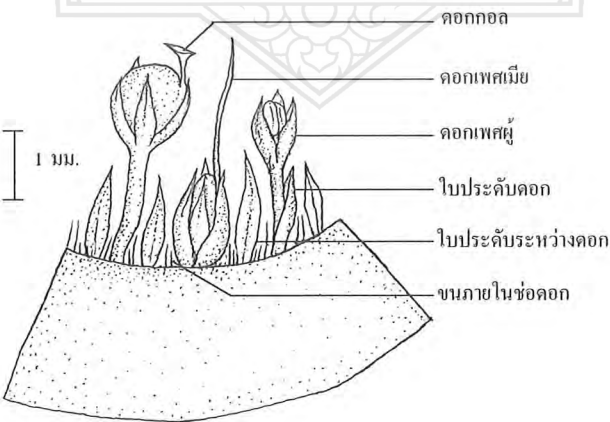
ตารางที่ 1 การกระจายพันธุ์ ถิ่นอาศัย และชื่อพื้นเมืองของพืชสกุลไทรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	การกระจายพันธุ์	ถิ่นอาศัย	ชื่อพื้นเมือง
41. <i>F. subulata</i>	1, 2	ป่าดิบเขา	มะเคื่อ
42. <i>F. subpisocarpa</i> ssp. <i>pupipoda</i>	ทุกจังหวัด	ป่าเต็งรัง เบญจพรรณ	ไกร 'โฮ
43. <i>F. talbotii</i>	2, 12	ป่าเบญจพรรณ ดิบแล้ง	กันเหลน 'โฮ
44. <i>F. tinctoria</i> ssp. <i>gibbosa</i>	ทุกจังหวัด	ป่าเต็งรัง เบญจพรรณ	กร่าง 'โฮ
45. <i>F. variegata</i>	1, 2, 6	ป่าดิบแล้ง ดิบเขา	ฝูก
46. <i>F. vasculosa</i>	20	ป่าดิบชื้น ดิบแล้ง	มะเคื่อทอง
47. <i>F. virens</i>	1, 2, 5, 6, 7, 8, 12, 13, 19, 20	ป่าดิบแล้ง เบญจพรรณ	ฝักเลือด เลียบ 'โฮ

หมายเลขจังหวัด : 1. เพชรบูรณ์, 2. เลย, 3. หนองบัวลำภู, 4. อุตรดิตถ์, 5. หนองคาย, 6. สกลนคร, 7. นครพนม, 8. มุกดาหาร, 9. กาฬสินธุ์, 10. มหาสารคาม, 11. ขอนแก่น, 12. ชัยภูมิ, 13. นครราชสีมา, 14. บุรีรัมย์, 15. สุรินทร์, 16. ร้อยเอ็ด, 17. ยโสธร, 18. อำนาจเจริญ, 19. ศรีสะเกษ, 20. อุบลราชธานี



รูปที่ 1 รูปแบบและลักษณะภายนอกของช่อดอก: 1.1 มีเก้านช่อดอก (*F. hispida*); 1.2 ไม่มีเก้านช่อดอก (*F. callophylla*); 1.3 ไม่มีเก้านช่อดอก แต่มีกอช่อดอกเรียกว่าคล้ายเก้าน (*F. heteropleura*)



รูปที่ 2 แผนภาพแสดงส่วนประกอบภายในของช่อดอก

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

พบพืชสกุลไทรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 47 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบจากรายงานการศึกษาที่ผ่านมา (สุมน มาสุรน, 2522; นเรศร์ มุลาดี และ วิชัย พรหมเทพ, 2542 และ วัฒนา ตันมิ่ง, 2548) เป็นรายงานพืชสกุลไทรเพิ่มเติม 27 ชนิด เนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาเป็นการศึกษาเฉพาะพื้นที่ มีขนาดพื้นที่ และความหลากหลายของสภาพป่าน้อยกว่า จึงพบพืชสกุลไทรน้อยกว่า

จากการศึกษาฐานฐานวิทยาพบว่าลักษณะวิสัยใบ และลักษณะภายนอกของช่อดอก สามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดพืชสกุลไทรได้ แต่ลักษณะของใบมีความแปรผัน โดยเฉพาะชนิดที่ใกล้เคียงกัน มีลักษณะใบก้ำกึ่งกัน ในการระบุชนิดจำเป็นต้องอาศัยลักษณะของช่อดอกซึ่งมีลักษณะเฉพาะตัว และมีความแปรผันน้อย พืชในหมู่ (section) *Urostigma* บางชนิด มีลักษณะของใบและช่อดอกคล้ายคลึงกัน ทำให้มีความสับสนในการระบุชนิด จึงควรมีการศึกษาในรายละเอียดเพิ่มเติม โดยศึกษาข้อมูลอื่นๆ มาประกอบ เช่น การกระจายพันธุ์ ลักษณะกายวิภาคศาสตร์ ลักษณะทางชีววิทยาโมเลกุล เพื่อใช้ในการพิจารณากำหนดขอบเขตของพืชแต่ละชนิดให้มีความชัดเจนถูกต้องยิ่งขึ้น

จากการศึกษาเอกสาร พบว่า พืชสกุลไทรที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนใหญ่มีการกระจายพันธุ์กว้าง ตั้งแต่ ศรีลังกา อินเดีย บังกลาเทศ พม่า จีนตอนใต้ ภูมิภาคอินโดจีน ไทย และภูมิภาคมาเลเซีย ซึ่งบางชนิดอาจกระจายพันธุ์ไปถึงเนปาล ปากีสถาน ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย หรือหมู่เกาะแปซิฟิก (Kurz, 1877; Gagnepain, 1928-1929 และ Berg and Corner, 2005) โดยอาศัยสัตว์เป็นพาหะในการกระจายเมล็ด โดยเฉพาะนกซึ่งช่วยพามเมล็ดกระจายพันธุ์ไปได้ไกล จากการศึกษามูลดินอาศัย พบว่า พืชสกุลไทรกระจายพันธุ์ได้ในป่าหลายประเภท โดยพืชส่วนใหญ่พบในป่าดิบแล้ง และป่าเบญจพรรณ ซึ่งอยู่ตามแนวเทือกเขาที่ล้อมรอบพื้นที่ราบของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในจังหวัดที่เป็นที่ตั้งของแนวเทือกเขา เช่น ชัยภูมิ นครราชสีมา

เพชรบูรณ์ เลย สกลนคร และอุบลราชธานี เป็นต้น ส่วนพืชที่พบในป่าเต็งรัง เช่น *F. hispida*, *F. rumphii* และ *F. subpisocarpa* ssp. *pubipoda* มีการกระจายพันธุ์ทุกจังหวัด เนื่องจากป่าเต็งรังเป็นป่าที่มีอยู่ทั่วไปในพื้นที่ราบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และมีพืชที่พบตามริมน้ำ 4 ชนิด ได้แก่ *F. assamica* ซึ่งพบเฉพาะริมแม่น้ำโขง *F. heterophylla* พบตามริมน้ำทั่วไป ส่วน *F. ischnopoda* และ *F. squamosa* พบตามลำธารในป่าดิบแล้ง พืชที่น้ำเข้ามาปลูกส่วนใหญ่ เป็นไม้ประดับบางชนิดปลูกในวัดเป็นที่สักการบูชา เช่น *F. religiosa* พืชท้องถิ่น 3 ชนิด ได้แก่ *F. benjamina*, *F. maclellandii* และ *F. microcarpa* ถูกนำมาปลูกเป็นไม้ประดับ พบได้ทั่วไป พืชบางชนิดพบเฉพาะบางจังหวัด ได้แก่ *F. kurzii*, *F. parietalis*, *F. pellucidopunctata*, *F. squamosa* และ *F. vasculosa* อาจเนื่องมาจากการสำรวจยังไม่ทั่วถึง จึงควรมีการสำรวจเพิ่มเติมเพื่อให้ข้อมูลการกระจายพันธุ์มีความสมบูรณ์มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ ได้รับเงินอุดหนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และศูนย์พันธุ์-วิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ รหัสโครงการ BRT T_149001

เอกสารอ้างอิง

- ก่องกานดา ชยามฤต และ ลีนา ผู้พัฒนพงศ์. (2545). สมุนไพรไทย (ตอนที่ 7). ส่วนพฤกษศาสตร์ ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ หอพรรณไม้ กรมป่าไม้. หน้า 212-247.
- ธวัชชัย สันติสุข. (2550). ป่าของประเทศไทย. สำนักงานหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: อรุณการพิมพ์. หน้า 91-98.

- นเรศร์ มูลาลี และ วิศัย พรหมเทพ. (2542). การศึกษาความหลากหลายของพืชสกุลไทรบนทิวเขาภูพาน. รายงานการวิจัย ทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป ประจำปี 2541 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 38 หน้า
- วัฒนา ดันมิ่ง. (2548). พืชสกุลไทร (*Ficus* L.) ในเขตอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว. โครงการงานวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 43 หน้า
- ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้, สำนักวิชาการป่าไม้, กรมป่าไม้. (2544). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ประชาชนจำกัด. หน้า 235-240.
- สุนน มาสุรน. (2522). การศึกษาอนุกรมวิธานของพืชสกุลไทรในสะแกราช. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 74 หน้า
- Backer, C.A. and Bakhuizen van den Brink, R.C. (1965). Flora of Java. (Vol. 2). Groningen: N.V.P. Noorhoof. pp. 20-35.
- Berg, C.C. and Corner, E.J.H. (2005). Moraceae-*Ficus*. In: Flora Malesiana. H.P. Nooteboom (ed.). (Ser. 1, Vol. 17, Part 2). Leiden: National Herbarium of the Netherlands. 730 pp.
- Gagnapain, F. (1928-1929). Moracées. In: Flore Générale de l' Indo-Chine. J. Lecomte (Ed). (Vol 8). Paris: Maisson et Cie. pp.740-828.
- Kochummen, K.M. (1978). Moraceae. In : Tree Flora of Malaya. F.S.P. Ng (Ed.). (Vol. 3). Kuala Lumpur: Longman Malaysia. pp. 135-162.
- _____. (2000). *Ficus*. In: Tree Flora of Sabah and Sarawak. E. Soepadmo and L.G. Saw (Eds.). (Vol. 3). Kuala Lumpur: Ampang Press. pp. 181-334.
- Kurz, S. (1877). Flora of British Burma. (Vol. 2). Singh: Bishen Singh Mahendra Pal. pp. 435-461.
- Ridley, H.N. (1924). Flora of the Malay Peninsular. (Vol. 3). London: L. Reeve. pp. 325-350.
- Weiblen, G.D. (2000). Phylogenetic Relationships of Functionally Dioecious *Ficus* (Moraceae) Based on Ribosomal DNA Sequences and Morphology. American Journal of Botany 87: 1342-1357.



ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน
2. บทความปริทัศน์ ได้แก่ งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ
3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ต้องเป็นตัวพิมพ์ Angsana New
 - 1.1 ชื่อเรื่อง ขนาดตัวอักษร 20 ตัวเต็ม ตำแหน่งตรงกลาง มีทั้งชื่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
 - 1.2 ชื่อผู้เขียน ขนาดตัวอักษร 16 เอน ตำแหน่งขวาสุด และใส่หมายเลขไว้ท้ายนามสกุล เพื่อการระบุที่อยู่ด้านล่าง
 - 1.3 หัวข้อใหญ่ในแต่ละส่วน ขนาดตัวอักษร 16 ตัวเต็ม ตำแหน่งซ้ายสุด ยกเว้น บทคัดย่อ และ Abstract อยู่ตรงกลาง หัวข้อย่อยตามความเหมาะสม
 - 1.4 เนื้อความ ขนาดตัวอักษร 14
 - 1.5 คำว่า รูปที่ x และตารางที่ x ขนาดตัวอักษร 14 ตัวเต็ม ส่วนข้อความบรรยายต่อท้ายตัวปกติ
 - 1.6 ที่อยู่ ขนาดอักษร 12
 - 1.7 ช่องว่างระหว่างบรรทัดตามมาตรฐาน
 - 1.8 พิมพ์ลงในกระดาษขาว A4 (โรเนียวสัน) โดยใช้กระดาษหน้าเดียว ความยาวไม่เกิน 10 หน้า ส่งต้นฉบับ 2 ชุด (ไม่ต้องส่งแผ่นดิสก์ หรือแผ่นซีดีในขั้นตอนนี้ เมื่อได้รับแจ้งว่าได้ลงพิมพ์แล้ว ผู้เขียนส่งฉบับแก้ไข 1 ชุด พร้อมแผ่นดิสก์ หรือแผ่นซีดี)
2. ต้นฉบับ จะถูกพิจารณาโดยกองบรรณาธิการ และจะตอบรับการได้รับบทความโดยไม่ส่งต้นฉบับคืน ผู้เขียนควรจะอัดสำเนาเก็บไว้เป็นหลักฐานของตัวเอง 1 ฉบับ
3. ต้นฉบับ จะต้องมีความถูกต้องทั้งในด้านเนื้อหา และการใช้ภาษา รวมทั้งมีความสมบูรณ์ในรูปแบบพร้อมที่จะนำลงตีพิมพ์ได้
 4. ชื่อเรื่อง ให้ใช้ภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ไม่ยาวเกินไป และหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อโดยไม่จำเป็น
 5. ชื่อผู้เขียน เขียนชื่อภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษพร้อมทั้งบอกสถานที่ทำงานให้ชัดเจน
 6. เนื้อเรื่อง ใช้ได้ทั้งภาษาไทยล้วนและภาษาอังกฤษล้วน ถ้าใช้ภาษาไทย ภาษาอังกฤษที่ใช้ปนกับภาษาไทยนั้นให้พยายามแปลเป็นไทยเท่าที่จะทำได้ และให้เขียนคำเดิมกำกับในวงเล็บ การทับศัพท์ภาษาอังกฤษตลอดทั้งการเขียนตัวสะกด การันต์ ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

7. ในกรณีของบทความวิจัย ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์

8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็นเพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความเฉพาะตอนในบทความ

9. ตารางและภาพประกอบ คำบรรยายประกอบตารางหรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าเป็นภาพถ่ายให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสเตอร์ ภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจน และมีขนาดที่เหมาะสม

10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม แนะนำให้เขียนตามแบบที่ทางวารสารกำหนด

11. หากไม่ปฏิบัติตามข้อแนะนำในการเขียนบทความ บทความของท่านอาจไม่ได้รับการตีพิมพ์ หรือตีพิมพ์ล่าช้า

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

อนินันท์นาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 1 เล่ม

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของจิ้งหรีดทองลาย (*Gryllus* sp.)
ที่เลี้ยงเพื่อการค้า

บรรจง เชื้อเมืองพาน¹ วิรัช ว่องพัฒนากุล² และ ปวีณา พงษ์คนตรี^{1*}

บทคัดย่อ

XX
XX

บทนำ

[illegible]

วิธีการ

XX
XX
XX



รูปที่ 1 xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

ตารางที่ 1 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

¹ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

² ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

* correspondening author, E-mail

การเขียนเอกสารอ้างอิงในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เอกสารอ้างอิง (Reference) หมายถึง เอกสารหรือส่วนหนึ่งของเอกสารที่อ้างอิงถึงหรือแปลมาโดยตรง การเขียนเอกสารอ้างอิงในเนื้อหา นั้น ให้ใช้ระบบชื่อและปี เช่น Williams (2001) รายงานว่า... หรือ... (Williams, 2001) การเขียนเอกสารอ้างอิงในตอนท้ายบทความนั้น ให้ใส่เฉพาะเล่มที่มีการอ้างอิงไว้แล้ว ในเนื้อหาเท่านั้น หากอ้างอิงจากเล่มภาษาไทย ต้องเขียนทั้งชื่อและนามสกุล

บรรณานุกรม (Bibliography) หมายถึง เอกสารที่ใช้อ้างอิงในลักษณะที่สรุปเป็นหลักการหรือทฤษฎีโดยมิได้อ้างอิงหรือแปลมาโดยตรง

การเขียนเอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม มีแนวทางการเขียนดังนี้

1. หนังสือ

ก. ภาษาไทย

ชื่อตัว นามสกุลของผู้แต่ง. (เลขปี พ.ศ.) ชื่อหนังสือ. (เล่มที่). (พิมพ์ครั้งที่). เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์. เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง.

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น. อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อหนังสือ. (เล่มที่). (พิมพ์ครั้งที่). เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์หรือสำนักพิมพ์. เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง.

2. เอกสารราชการ

ชื่อหน่วยราชการ. (เลขปี พ.ศ. หรือ ค.ศ.). ชื่อเรื่อง. ชื่อหนังสือ. เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์.

3. วารสาร

ก. ภาษาไทย

ชื่อตัว นามสกุลของผู้แต่ง. (เลขปี พ.ศ.). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. เล่มที่ (ฉบับที่): เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้าย.

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น. อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. เล่มที่ (ฉบับที่): เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้าย.

หมายเหตุ

- กรณีที่เป็นเอกสารอ้างอิงจากแหล่งอื่น ๆ นอกเหนือจากที่กำหนดข้างต้น เช่น จุลสาร หนังสือพิมพ์ ฯลฯ ให้ยึดหลักการเขียนตามแบบข้างต้นโดยอนุโลม
- กรณีที่มีผู้เขียน 2 คน ให้เขียนตามแบบของผู้เขียนคนแรก แต่ให้เติมคำว่า “และ” หรือ “and” หน้าชื่อสุดท้ายในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ
- กรณีที่มีผู้เขียนมากกว่า 2 คนขึ้นไป ให้ใส่เฉพาะผู้แต่งชื่อแรกและใส่คำว่า “และคณะ” หรือ “et al.” ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ (เฉพาะในเนื้อหาเท่านั้น)
- ถ้าเอกสารที่ถูกอ้างอิงอยู่ในระหว่างตีพิมพ์ ให้บอกรายละเอียดมากที่สุดและใช้คำว่า “ระหว่างตีพิมพ์” หรือ “in press” ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ โดยวงเล็บต่อท้ายเอกสารอ้างอิงนั้น

