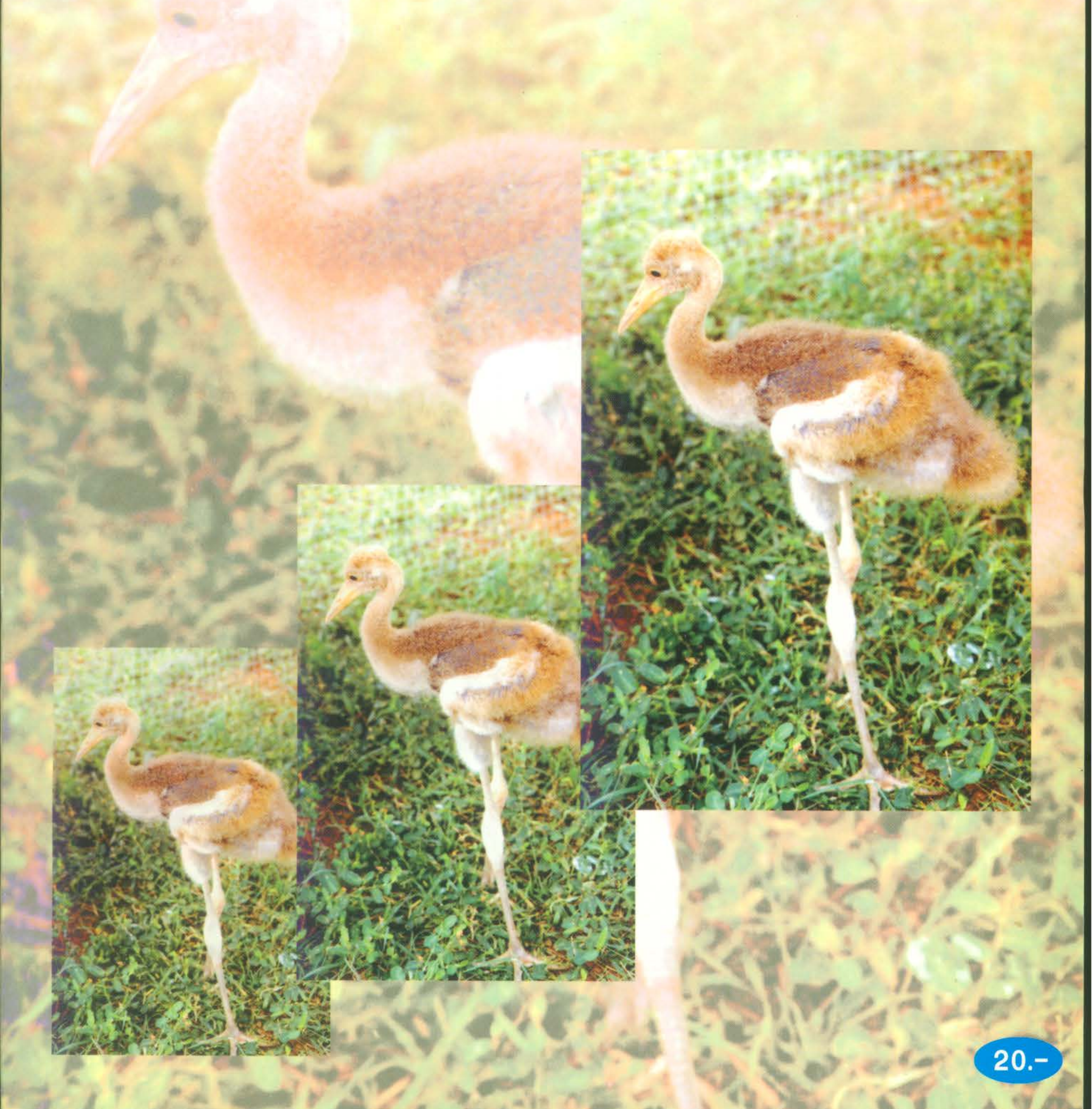
วารสาร

วิทยาศาสตร์มข.

KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 32 ฉบับที่ 1 (ม.ค. - มี.ค. 47) Vol. 32 No. 1 (Jan. - Mar. '04)



20.-

วารสาร
วิทยาศาสตร์ มข.
KKU SCIENCE JOURNAL
ISSN 0125 - 2364

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์ ตึก 6
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

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

ค่าบำรุง ปีละ 75 บาท ขายปลีกเล่มละ 20 บาท

การบอกรับเป็นสมาชิก

แจ้งความจำนงเป็นจดหมาย หรือกรอกใบสมัครเป็นสมาชิก พร้อมค่าบำรุงเป็นธนาณัติ หรือเช็คไปรษณีย์ในนามของนางบุญคุ้ม เหลือล้น ฝ่ายจัดการ สั่งจ่าย ป.ท.มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

ที่ปรึกษา คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
รองคณบดีฝ่ายวิชาการ

บรรณาธิการ มานิตย์ โฆษิตตระกูล

กองบรรณาธิการ
เฉลิม เรืองวิริยะชัย
สมเดช กนกเมธากุล
ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย
บำรุง สมสวัสดิ์
วิทยา อมรกิจบำรุง
ประนอม จันทรโณทัย
นฤมล แสงประดับ
เสาวนิต ทองพิมพ์
พิสิฏฐ์ เจริญสุดใจ
เที่ยง ภูมิสะอาด
อำนวย มณีศรีวงศ์กูล
บุญทรัพย์ ไวคำ

ฝ่ายศิลป์และภาพ กิเลน ติณนรเศรษฐ์
บุญส่ง กองสุข

ฝ่ายเหรัญญิก บุญคุ้ม เหลือล้น

ฝ่ายจัดการและเลขานุการ
ทัศนีย์ จิตตะกวี
สมศักดิ์ อุ่นจันที
สุคนธ์ กลิ่นผกา

บทความและงานวิจัย ได้รับการกลั่นกรอง จากผู้ทรงคุณวุฒิ

บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ

สารบัญ Table of Contents

ISSN 0125 - 2364

วารสาร
วิทยาศาสตร์ มข.
KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 32 ฉบับที่ 1 Volume 32 Number 1

บรรณาธิการแถลง

บทความ

❐ **Hydrogen Bonding in Biological Structure: I. Introduction to Hydrogen Bonds**
Unchulee Suksangpanya..... 1

❐ **ความผิดปกติของลูกสัตว์ที่เกิดจากการโคลนนิ่ง**
ชูชาติ กมลเลิศ..... 6

❐ **การพัฒนาระบบสารสนเทศให้ประสบความสำเร็จ**
วิชุดา ไชยศิวามงคล..... 13

❐ **โรงงานชีวภาพสำหรับผลิตกรดไขมันเพื่ออุตสาหกรรม**
ปวีณา พงษ์คนตรี..... 23

สารบัญ (ต่อ) Table of Contents (cont.)

ISSN 0125 - 2364

วารสาร
วิทยาศาสตร์ มข.
KKU SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 32 ฉบับที่ 1 Volume 32 Number 1

งานวิจัย

❐ **การวิเคราะห์เปลาโนทอลในสารสกัดจากแคลลัสเปล้าน้อย**
สมเกียรติ ระวังแก้ว และสุพร นุชดำรงค์..... 35

❐ **การจัดการเพาะเลี้ยงนกกระเรียนไทยในสภาพกรงเลี้ยง**
อลงกลด แทนออมทอง, เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์, รัฐพันธ์ พัฒนรังสรรค์, กฤษณ์ ปิ่นทอง, และกฤษฎา บูรณารมย์..... 46

❐ **ความหลากหลายของโปรโตซัวในแม่น้ำพอง จังหวัดขอนแก่น**
พินิจ หวังสมนึก, ภูวฎณ กรพันธ์ และสมพงษ์ ดุลย์จินดาชบาพร..... 53

ISSN 0125 - 2364

วารสาร
วิทยาศาสตร์ มข.
KKU SCIENCE JOURNAL

Publisher

Faculty of Science, Khon Kaen University, Thailand.

Office

Faculty of Science, Building 6, Khon Kaen University.

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

Subscription rate

75 baht per annum. Single issue price 20 baht.

Membership

Membership request can be made by letter or by completing the membership form, with the fee paid in the form of a postal order or postal cheque sent to Mrs. Boonkoom Lualon, Managing Staff, Khon Kaen University Post Office, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002.

Advisory Committee Dean, Faculty of Science
Associate Dean for Academic Affairs

Editor Manit Kosittrakun

Editorial Board
Chalerm Ruangviriyachai
Somdej Kanokmedhakul
Saksit Chanthai
Bamrung Somsawasdi
Vittaya Amornkitbamrung
Pranom Chantaranothai
Narumon Sangpradub
Soawanit Tongpim
Pisit Chareonsudjai
Tiang Poomsa-ard
Amnuay Maneesriwongkul
Boonsup Waikham

Artists
Kilen Tinnoraset
Boonsong Koungsook

Treasurer
Boonkoom Lualon

Managing Staff and Secretary
Tassanee Jittakhawee
Somsak Unjantee
Sukhon Klinpaka

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.

บรรณาธิการแถลง

เรียน ท่านสมาชิกวารสารฯ และท่านผู้อ่านที่รัก

กองบรรณาธิการฯ ทราบดีว่าสัดส่วนของบทความปริทัศน์และบทความวิจัยในวารสารฯ แต่ละฉบับควรเป็นเท่าใด นอกจากนี้ยังตระหนักดีว่าบทความวิทยาศาสตร์กายภาพและบทความวิทยาศาสตร์ชีวภาพควรมีจำนวนที่ใกล้เคียงกัน แต่บ่อยครั้งที่กองบรรณาธิการฯ ไม่สามารถทำให้สัดส่วนของบทความในรูปแบบต่าง ๆ ลงตัวได้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของบทความที่ผู้เขียนส่งมาตีพิมพ์ในวารสารฯ ในแต่ละช่วงเวลา และยังขึ้นอยู่กับผลการพิจารณาบทความของผู้ทรงคุณวุฒิด้วย

วารสารฯ ฉบับนี้ประกอบด้วยบทความปริทัศน์ 4 เรื่อง และบทความวิจัย 3 เรื่อง เรื่องแรกกล่าวถึงพันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างทางชีวภาพ เรื่องที่ 2 เป็นการรวบรวมความผิดปกติที่พบในลูกสัตว์ซึ่งเกิดจากการโคลนนิ่ง เรื่องที่ 3 ให้แนวทางการพัฒนาระบบสารสนเทศ เรื่องที่ 4 เป็นการเสนอแนวคิดสำหรับโรงงานชีวภาพ เรื่องที่ 5 รายงานผลการตรวจสอบวิเคราะห์สารเปลาโนทอล เรื่องที่ 6 เป็นการรวบรวมข้อมูลพื้นฐานสำหรับการเพาะเลี้ยงนกกระเรียนไทย และเรื่องสุดท้ายเป็นผลการสำรวจโปรโตซัวในแม่น้ำพอง

บรรณาธิการ

ว. วิทย. มข. 32(1) : 1-5 (2547) KKU Sci. J. 32(1) : 1-5 (2004)

Hydrogen Bonding in Biological Structure: I. Introduction to Hydrogen Bonds

Unchulee Suksangpanya[1]

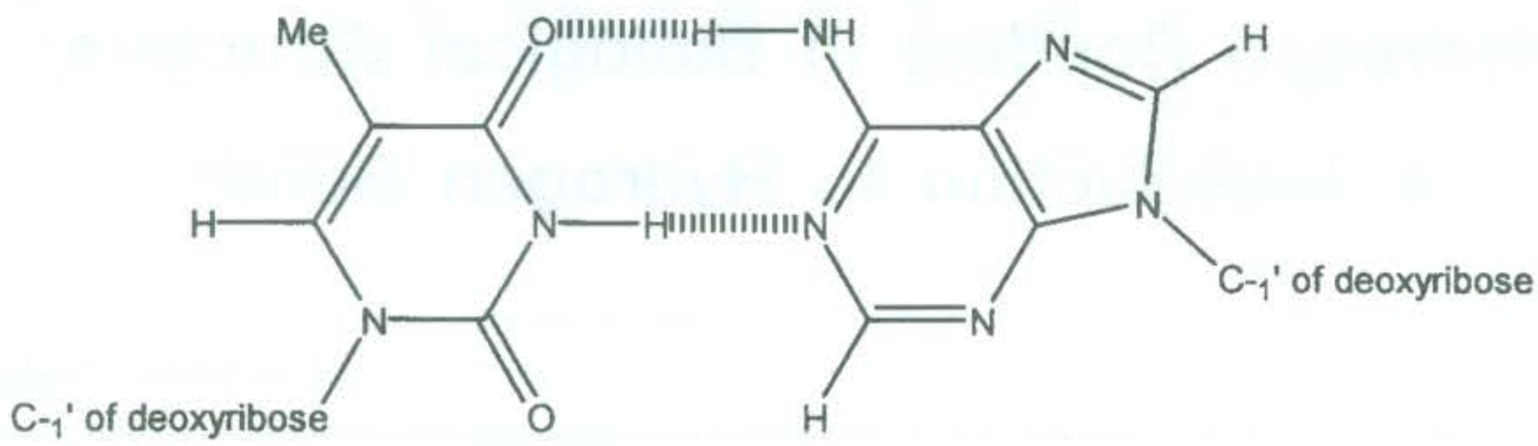
Why is the hydrogen bond so important in biological structures?

Hydrogen bonds are essential for life processes owing to their functional properties. They are weak interactions relative to covalent or ionic bonds. Therefore, they can be switched on or off with energies that are within the range of thermal fluctuations at life temperatures. This means that processes, which require fast intermolecular recognition and reaction, can easily occur. Stronger interactions, with bonding energies well in excess of those attained by hydrogen bonding, would seriously impede the flow of biological information and events.

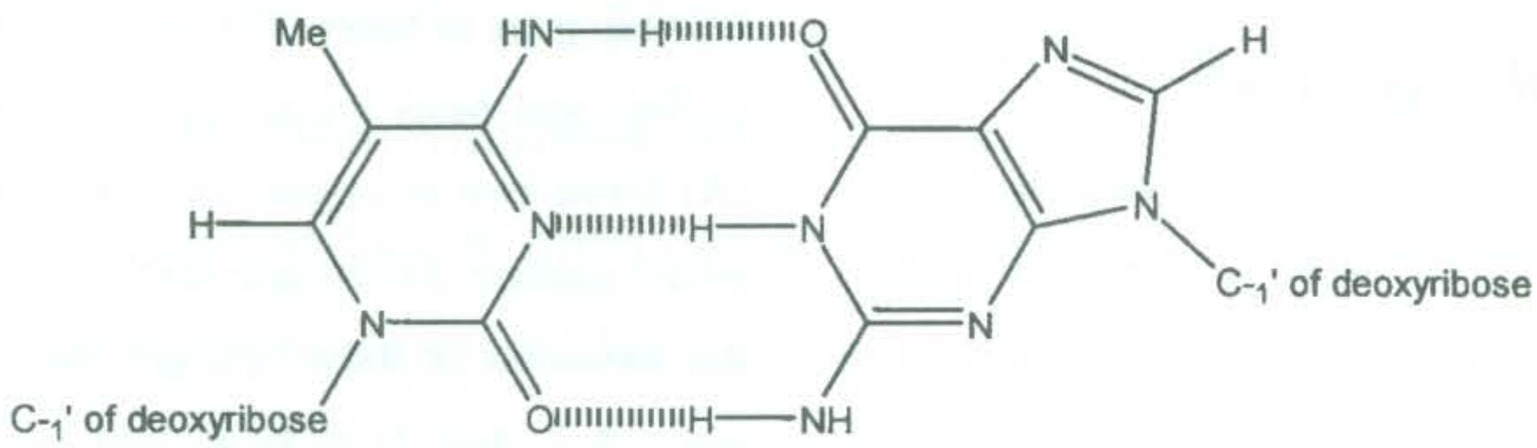
Perhaps the most important example of the hydrogen bond in biological system is base pairing in the *DNA double helix.* A single DNA strand is composed of purine (adenine and guanine) and pyrimidine (thymine and cytosine) bases linked to a backbone of phosphorylated sugars. The DNA double helix combines two antiparallel strands which are held together by complementary hydrogen bonds between pairs of bases. The hydrogen bonds on the nucleic acid bases are arranged such that adenine (A) forms two hydrogen bonds with thymine (T), whilst guanine (G) complements cytosine (C) with the formation of three hydrogen bonds. Therefore only A-T and G-T base pairs usually form (Figure 1).

The specificity which is so typical for biological processes is not achieved by a very specific, single interaction. In contrast, the unspecific hydrogen bond is employed and specificity is due to the simultaneous formation of several hydrogen bonds between sterically complementary organized donors and acceptors to form a pattern as in Fischer's old concept, a key fits into a lock. Hence, the relative unspecificity and the weakness of the hydrogen bond of only ~3 kcal/mol are of prime importance for life, so much that life without hydrogen bonds is impossible.

[1] *Department of Chemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002*



Thymine *Adenine*



Cytosine *Guanine*

Figure 1 Hydrogen bonds between pairs of bases in the DNA double helix

Definition of hydrogen bond

A hydrogen bond is the attractive force that arises between the donor covalent pair D-H in which a hydrogen atom H is bound to a more electronegative atom D, and other noncovalently bound nearest neighbor electronegative acceptor atoms A (D-H...A). The electron formally associated with the hydrogen atom is involved in the covalent D-H bond. Its center of mass is displaced relative to the hydrogen atom position in the direction of the center of the bond and the hydrogen atom becomes descreened. This gives rise to a dipole with positive charge at the hydrogen end of the D-H bond, irrespective of whether D carries a net charge. It is the Coulombic interaction of the dipole with the excess electron density at the acceptor atoms that forms the hydrogen bond interaction: strong and weak hydrogen bonds have very different properties, as shown in Table 1.

Strong hydrogen bonds are quantitatively different in most of their properties from molecule or weak bonds (Emsley, 1980). When D is an exceedingly electronegative atom and A has an exceptionally large excess of electron charge, strong hydrogen bonds are formed. With very strong hydrogen bonds, such as F-H...F^- (Buzzeo et al., 2003), the structural distinction between the covalent F-H bond and the H...F hydrogen bond disappears, since the hydrogen atom lies at or close to the mid-point of the F...F line of centres. F...H...F Strong, almost symmetrical, hydrogen bonds are also observed when the donor group is a cation or the acceptor group is an anion, as in O^+-H...O or O-H...O^-, respectively (Table 1). The range of bond lengths observed in crystal structures for a particular type of strong hydrogen bonds is very narrowly defined and characteristic for that type, since crystal field forces are relatively weak and of almost no influence.

Table 1 Properties of very strong, moderate and weak hydrogen bonds

Properties	**Very strong bonds**	**Moderate and weak bonds**
Types of bonds	$F–H\cdots F^-$ $O–H\cdots O^-$ $O^+–H\cdots O$ Only two-center bonds	D–H…A (A is an electronegative atom) Two-, three- and four-center bonds
Bond lengths	Narrow range H…A 1.2 to 1.5 Å H…A ≈ D–H	Broad range H…A 1.5 to 3.0 Å H…A > D–H
Bond angles	Strongly directional D–H…A ≈ 180°	Weakly directional D–H…A ≈ 160±20°

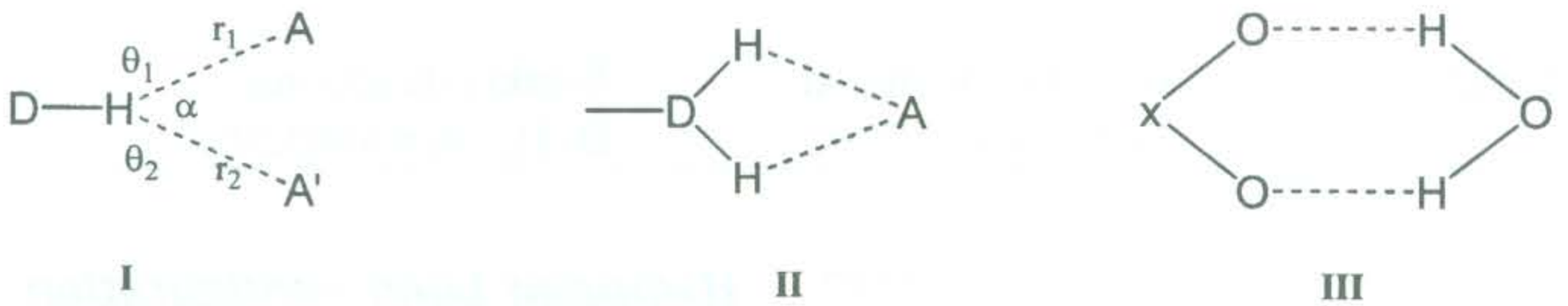
The weaker hydrogen bond has a longer H...A interaction with the range of 1.5-3.0 Å; more restrictively, 1.5-2.2 Å for *moderate* hydrogen bonds and 2.2-3.0 Å for *weak* hydrogen bonds. Moderate and weak hydrogen bonds are not linear, with the D-H...A angle of 160±20°. The hydrogen atom is always unsymmetrically located so that one bond can be clearly associated with the covalent bond, while the other interactions can be identified as the hydrogen bond. The interaction is primarily electrostatic in nature. Moderate hydrogen bonds, such as O-H...O=C, N-H...O=C and O-H...O-H, are able to control crystal and supramolecular structure effectively. Whilst, the influence of weak hydrogen bonds, such as C-H...O and O-H...π, on crystal structure and packing is variable. For the hydrogen bonds commonly observed in biological structures, the hydrogen atom is always unsymmetrically located so that one bond can be clearly associated with the covalent bond. The distinction between strong and moderate hydrogen bonds is blurred. To assign a hydrogen bond in the borderline regions, chemical considerations are more advisable than numerical criteria and cut-off definitions.

Hydrogen bond configuration

The hydrogen bonds observed in crystal structure are rarely linear. Owing to the "softness" of the hydrogen-bond bending force constants, there is a balance between the equilibrium 180° and the greater probability of bonds making a smaller angle. The most probable value of angles observed for various samples of hydrogen bonds is around 165°, a value that is consistent with theoretical calculations of O-H...O bonds using ab-initio quantum mechanics on model systems (Newton et al., 1979). Nevertheless, this does not imply that linearity is not the most stable configuration for a hydrogen bond between isolated donor and acceptor molecules or between hydrogen-bonded dimers in the gas phase.

However, there is another reason why a hydrogen bond may not be linear. This is due to an attractive force to a second acceptor, as in the configuration I (Figure 2). This configuration I was first proposed by Albrecht and Corey, who applied the descriptor bifurcated bond in 1939 to account

for the non-hydrogen bond geometry of the N^{+}-H and C^{-}=O groups in the crystal structure of α-glycine (Albrecht and Corey, 1939). As neutron diffraction and more accurate X-ray crystal structure analyses have become available, it is clear that this configuration **I** is quite common in the crystal structures of many biological small molecules. Surveys of the peptide NH...O=C hydrogen bond (Taylor et al., 1984) and hydrogen bonds in carbohydrates (Jeffrey and Takagi, 1978; Ceccarelli et al., 1981; Jeffrey and Mitra, 1983), amino acids (Jeffrey and Maluszynska, 1982) purines and pyrimidines (Jeffrey and Maluszynska, 1986) and nucleosides and nucleotides (Jeffrey et al., 1985) indicate that between 25% and 40% of the bonds in a sample of structures may be of this type.



I **II** **III**

Figure 2 Configurations I, II and III

Unfortunately the descriptor "bifurcated hydrogen bond" was also used for the quite different configuration **II** (Figure 2) in the very influential 1960 edition of *The Hydrogen Bond* (Pimentel and McClellan, 1960). Later on, the term "bifurcated" has also been applied to the configuration **III** (Figure 2) proposed for interactions between water and dimethyl phosphate or formate ions (Alagona et al., 1983). To avoid confusion, the term *three-centered* has been applied to the configuration where the hydrogen atom is located between three electronegative atoms, being covalently bound to one and hydrogen bonded to the other two. The configuration **I** is defined geometrically by the condition that the hydrogen atom lies in or close to the plane of the three-bonded atoms, as required by an attractive force to the two acceptors.

Four-center hydrogen bond configurations, as in **IV** (Figure 3), are also observed, but much less frequently. In the four-center hydrogen bonds, the proton makes three first neighbor contacts to potential hydrogen-bond acceptor atoms in the forward direction with respect to the donor D-H bond. The geometrical definition is less rigorous than that for three-center bonds, since it requires only that the D-H...A, A', A" angles are greater than 90°. The configuration **V** (Figure 3) has also been considered, mainly in connection with water structure, and the descriptor *tandem hydrogen bonds* applied. This configuration **V** has been postulated to occur in a few crystal structures, including that of α-cyclodextrin 7.57 H_2O (Chacko and Saenger, 1981).

Figure 3 Configurations IV and V

References

Alagona, G., Ghio, C. and Kollman, P.A. (1983). Bifurcated vs linear hydrogen bonds: dimethyl phosphate and formate anion interactions with water. J. Am. Chem. Soc. 105:5226-5230.

Albrecht, G. and Corey, R.B. (1939). The crystal structure of glycine. J. Am. Chem. Soc. 61:1087-1103.

Buzzeo, M.C., Zakharov, L.N., Rheingold, A.L. and Doerrer, L.H. (2003). Short, strong hydrogen bond between an aryloxide and phenol in aprotic media. J. Molec. Struct. 657:19-24.

Ceccarelli, C., Jeffrey, G.A. and Taylor, R. (1981). A survey of O-H...O hydrogen bond geometries determined by neutron diffraction. J. Molec. Struct. 70:255-271.

Chacko, K.K. and Saenger, W. (1981). Topography of cyclodextrin inclusion complexes. 15. Crystal and molecular structure of the cyclohexaamylose 7.57 water complex. Form III. Four and six-membered circular hydrogen bonds. J. Am. Chem. Soc. 103:1708-1715.

Emsley, J. (1980). Very strong hydrogen bonding. Chem. Soc. Rev. 9:91-124.

Jeffrey, G.A. and Maluszynska, H. (1982). A survey of hydrogen-bond geometries in the crystal structures of amino acids. Int. J. Biol. Macromol. 4:173-185.

Jeffrey, G.A. and Maluszynska, H. (1986). A survey of geometry of hydrogen bonding in barbiturates, purines and pyrimidines. J. Molec. Struct. 147:127-142.

Jeffrey, G.A. and Mitra, J. (1983). The hydrogen bonding patterns in pyranose and pyranoside crystal structures. Acta Cryst. B. 39:469-480.

Jeffrey, G.A. and Takagi, S. (1978). Hydrogen-bond structure in carbohydrate crystals. Accts. Chem. Res. 11:264-270.

Jeffrey, G.A., Maluszynska, H. and Mitra, J. (1985). Hydrogen bonding in nucleosides and nucleotides. Int. J. Biol. Macromol. 7:336-348.

Newton, M.D., Jeffrey, G.A. and Takagi, S. (1979). Application of ab-initio molecular orbital calculations to the structural moieties of carbohydrates. 5. The geometry of the hydrogen bonds. J. Am. Chem. Soc. 101:1997-2002.

Pimentel, G.C. and McClellan, A.L. (1960). The Hydrogen Bond. Freeman: San Francisco.

Taylor, R., Kennard, O. and Versichel, W. (1984). Geometry of the NH...O=C hydrogen bond. 2. Three-center (bifurcated) and four-center (trifurcated) bonds. J. Am. Chem. Soc. 106:244-248.

ว. วิทย. มข. 32(1) : 6-12 (2547) KKU Sci. J. 32(1) : 6-12 (2004)

ความผิดปกติของลูกสัตว์ที่เกิดจากการโคลนนิ่ง

ชูชาติ กมลเลิศ[1]

บทนำ

เมื่อวันที่ 15 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546 นักวิทยาศาสตร์จากสถาบันรอสริน เมืองเอดินเบอร์ก ประเทศสก็อตแลนด์ ได้ประกาศให้ประชาชนทั่วไปได้ทราบถึงการเสียชีวิตลงก่อนวัยอันสมควรของแกะดอลลี่ (Dolly) ซึ่งเป็นสัตว์ตัวแรกของโลกที่เกิดจากเทคนิคการโคลนนิ่งโดยวิธีการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียสที่ใช้เซลล์จากร่างกายของสัตว์ที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว (somatic หรือ differentiated cells) เป็นเซลล์ตัวให้นิวเคลียส (donor nuclear cells) ซึ่งนับเป็นช่วงระยะเวลาเพียง 6 ปี หลังจากที่นักวิทยาศาสตร์ทีมเดียวกันนี้ได้ประกาศถึงความสำเร็จในการโคลนนิ่งแกะดอลลี่ให้ประชาชนทั้งโลกได้ทราบไปเมื่อวันที่ 23 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2540 การเสียชีวิตลงของดอลลี่ เมื่อมีอายุเพียง 6 ปีกว่านั้นทำให้เกิดข้อสงสัยตามมาว่าการเสียชีวิตในครั้งนี้เป็นความผิดปกติที่เกิดจากเทคนิคการทำโคลนนิ่งหรือไม่ เพราะปกติแล้วแกะโดยทั่วไปจะมีอายุได้ประมาณ 10-12 ปี และเนื่องจากเซลล์ตัวให้นิวเคลียสที่นักวิทยาศาสตร์นำมาใช้ในการโคลนนิ่งแกะดอลลี่นั้นได้นำมาจากแม่แกะชื่อ ฟินน์ ดอร์เซ็ท ที่มีอายุ ประมาณ 6 ปี ซึ่งหากนับอายุรวมกันระหว่างดอลลี่กับอายุของ ฟินน์ ดอร์เซ็ท ในขณะที่นำมาเป็นสัตว์ต้นแบบนั้นจะประมาณ 12 ปีพอดี และก่อนหน้าที่จะเสียชีวิตไม่กี่ปีก็ได้มีรายงานถึงความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับแกะดอลลี่ประการหนึ่งนั่นก็คือ การแสดงอาการของโรคไขข้ออักเสบ (arthritis) ในขณะที่มีอายุได้ไม่มากนัก ซึ่งปกติแล้วโรคไขข้ออักเสบนี้มักเกิดขึ้นกับสัตว์หรือคนที่อยู่ในวัยชราเป็นส่วนมาก นอกจากนั้นยังมีรายงานวิจัยในสัตว์โคลนชนิดอื่นๆ ที่ได้แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติที่เกิดกับลูกสัตว์ที่เกิดจากการโคลนนิ่ง จากเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นกับแกะดอลลี่และรายงานถึงความผิดปกติที่เกิดขึ้นเหล่านั้นทำให้แนวความคิดที่จะนำเอาการโคลนนิ่งมาใช้ในการทำโคลนนิ่งมนุษย์ถูกต่อต้านมากขึ้น แม้จะมีหลายรายงานวิจัยที่ได้ยืนยันและแสดงให้เห็นว่าลูกสัตว์ที่เกิดจากการโคลนนิ่งโดยวิธีการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียส โดยใช้เซลล์ตัวให้นิวเคลียสจากร่างกายสัตว์ที่เจริญเต็มที่แล้วซึ่งคล้ายกับวิธีการในการโคลนแกะดอลลี่ก็มีสุขภาพที่ดีไม่แตกต่างจากลูกสัตว์ที่ได้จากการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติแต่อย่างใด

โคลนนิ่ง : การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (asexual reproduction) ถือว่าเป็นเรื่องปกติสำหรับการขยายพันธุ์พืช หรือสัตว์ชั้นต่ำ เช่น พาลานาเลีย ไฮดรา ดอกไม้ทะเล หรือไส้เดือนดิน แต่สำหรับในสัตว์ที่มีพัฒนาการสูงอย่างสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแล้วถือว่าเป็นเรื่องที่คนทั่วไปยากที่จะเชื่อว่าสามารถเกิดขึ้นได้ ยกเว้นแต่นักวิทยาศาสตร์หรือนักวิจัยที่สนใจและได้ทำวิจัยเรื่องนี้แต่ถือว่ายังอยู่ในวงที่จำกัดมาก ประวัติการทำโคลนนิ่งในสัตว์เริ่มเมื่อประมาณห้าสิบกว่าปีที่ผ่านมา โดย Briggs and King (1952) จากสถาบันวิจัยมะเร็งในฟิลาเดลเฟีย ประเทศสหรัฐอเมริกาได้ประสบความสำเร็จในการทดลองเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียสในเซลล์ตัวอ่อนของกบ หลังจาก

[1] *ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002*

นั้นได้มีนักวิทยาศาสตร์อีกจำนวนมากที่ได้นำเอาเทคนิคดังกล่าวไปทดลองทำการโคลนนิ่งในสัตว์ชนิดต่างๆ จนประสบความสำเร็จในการทดลองโคลนนิ่งสัตว์หลายชนิด เช่น วัว และ หมู (Prather et al., 1987) หนูถีบจักร (McGrath and Solter, 1993) และ แกะ (Campbell et al., 1996) แต่อย่างไรก็ตามการโคลนนิ่งสัตว์เหล่านั้นล้วนแล้วแต่ใช้เซลล์จากตัวอ่อน (embryonic cells) เป็นเซลล์ตัวให้นิวเคลียส ผลของการทำโคลนนิ่งในช่วงแรกจึงไม่ได้สร้างความน่าสนใจให้กับวงการวิทยาศาสตร์เหมือนเช่นที่เกิดขึ้นกับแกะดอลลี่ซึ่งเป็นสัตว์โคลนตัวแรกที่เกิดจากเซลล์ตัวให้นิวเคลียสที่เป็นเซลล์ที่เจริญเต็มที่ (Wilmut et al., 1997) ซึ่งเป็นการลบล้างความเชื่อเดิมที่ว่าเซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้วจะไม่สามารถปรับเปลี่ยนให้ย้อนกลับไปสู่จุดเริ่มต้นใหม่(reprogramming) เพื่อให้มีลักษณะคล้ายกับเซลล์ไซโกต (zygotic cells) ที่ได้ภายหลังการปฏิสนธิ อีกครั้งเพื่อที่จะเจริญและเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์และเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ ของร่างกายได้อีก และผลจากความสำเร็จในการโคลนนิ่งแกะดอลลี่ในครั้งนั้นทำให้ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์สามารถทำโคลนนิ่งสัตว์อื่นๆตามมาโดยใช้วิธีการเดียวกัน เช่น หนูถีบจักร (Wakayama et al., 1998) วัว (Kato et al., 1998) แพะ(Baquisi et al., 1999) หมู (Polejaeva et al., 2000) กระต่าย (Dynnys et al., 2001) แมว (Shin et al., 2002) ล่อ (Woods et al., 2003) และสัตว์ชนิดล่าสุดที่มีรายงานถึงความสำเร็จในการโคลนนิ่งก็คือ ม้า (Galli et al., 2003) และคาดว่าในอนาคตจะมีสัตว์อีกหลายชนิดที่จะถูกโคลนนิ่งตามมา

สำหรับขั้นตอนและวิธีการในการทำโคลนนิ่งโดยการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียส เริ่มต้นจากการเลือกชนิดสัตว์ที่จะทำการโคลนนิ่งโดยเลือกสัตว์ตัวที่จะเป็นเจ้าของเซลล์ตัวให้ซึ่งเป็นสัตว์ต้นแบบที่ต้องการและเตรียมไข่จากสัตว์เพศเมียไว้เป็นเซลล์ตัวรับ (recipient หรือ enucleated oocytes) และเตรียมแม่ที่จะทำหน้าที่อุ้มท้องหรือแม่ฝาก (surrogate mother) โดยที่สัตว์เจ้าของเซลล์ตัวให้นิวเคลียส สัตว์เจ้าของเซลล์ไข่ตัวรับ และแม่อุ้มท้องหรือแม่ฝากจะต้องเป็นสัตว์ชนิดเดียวกัน อย่างไรก็ตามสัตว์เจ้าของเซลล์ตัวให้นิวเคลียสกับแม่อุ้มท้องอาจเป็นสัตว์ตัวเดียวกันได้ อย่างกรณีของม้า Prometea ที่เกิดจากเซลล์ร่างกายของแม่ตัวอุ้มท้องนั่นเอง (Galli et al., 2003) ขั้นตอนต่อไปเป็นการย้ายเอานิวเคลียสอันเดิมของเซลล์ไข่ออกไปโดยอาจใช้เข็มขนาดเล็กมาก ประมาณ 1 ใน 10 ของขนาดเส้นผมดูดนิวเคลียสจากเซลล์ไข่ทิ้งไปเพื่อที่จะนำเอานิวเคลียสจากเซลล์ตัวให้นิวเคลียสที่เตรียมไว้ใส่เข้าไปแทน โดยวิธีการที่ใส่นิวเคลียสอันใหม่เข้าไปแทนนิวเคลียสอันเดิมนั้นอาจใช้วิธีการใช้เข็มขนาดเล็กดังที่กล่าวมาแล้วเป็นเครื่องมือที่ช่วยใส่นิวเคลียสเข้าไป (Wakayama et al., 1998) หรือใช้วิธีการรวมเซลล์ไข่ตัวรับกับนิวเคลียสที่จะใส่เข้าไปโดยการกระตุ้นด้วยไฟฟ้าส่งผลให้นิวเคลียสกับไข่มีการเชื่อมรวมกันได้เองในที่สุด (Wilmut et al., 1997) จากนั้นนำเซลล์ไข่ที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียส (reconstructed oocytes) ไปกระตุ้นด้วยไฟฟ้าอ่อน ๆ ให้เกิดการแบ่งตัวจนได้จำนวนเซลล์ที่พอเหมาะ แล้วนำตัวอ่อนไปฝากยังมดลูกของแม่อุ้มท้องที่เตรียมไว้ ถ้าการทำโคลนนิ่งประสบความสำเร็จเมื่อครบกำหนดของการตั้งท้องลูกสัตว์ที่เกิดจากการโคลนนิ่งจะคลอดออกมาโดยมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกับสัตว์ต้นแบบทุกประการแม้ว่าลักษณะภายนอก (phenotype) อาจจะแตกต่างกัน อย่างกรณีของแมว CC ที่พบว่าลักษณะสีขนต่างไปจากแมว Rainbow ซึ่งเป็นสัตว์ต้นแบบที่เป็นแหล่งของเซลล์ตัวให้นิวเคลียส (Shin et al., 2002)

การโคลนนิ่งประสบผลสำเร็จในอัตราที่ต่ำมาก

อุปสรรคที่สำคัญประการหนึ่งของการทำโคลนนิ่งในปัจจุบันก็คือ การมีอัตราของความสำเร็จที่ต่ำมาก โดยในการวัดถึงความสำเร็จอาจใช้เกณฑ์ที่แตกต่างกันไปในนักวิทยาศาสตร์แต่ละกลุ่ม โดยบางกลุ่มวัดจากความสำเร็จที่เซลล์ไข่ที่ได้รับการ

เปลี่ยนถ่ายนิวเคลียสมีการเจริญแบ่งตัวไปจนถึงตัวอ่อนระยะมอรูลา หรือระยะบลาสโตซีสต์เป็นความสำเร็จ ในขณะที่หลายๆกลุ่มวัดอัตราความสำเร็จจากการที่ตัวอ่อนมีการเจริญไปจนสามารถคลอดและมีชีวิตอยู่ได้ ซึ่งการประเมินแบบแรกจะให้ตัวเลขของความสำเร็จออกมาสูงกว่าในกลุ่มหลัง อย่างไรก็ตาม Yanagimachi (2002) เสนอว่า หากมีการคำนึงถึงจำนวนของไข่ที่สูญเสียไปในระหว่างถูกนำมาใช้ในการเตรียมเพื่อใช้รองรับนิวเคลียสจากเซลล์ใหม่ด้วยก็จะยิ่งทำให้อัตราความสำร็จของการโคลนนิ่งต่ำลงมากกว่าที่มีการรายงานในปัจจุบัน

จากรายงานถึงความสำเร็จในการโคลนนิ่งสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น แกะดอลลี่ หากวัดความสำเร็จจากจำนวนเซลล์ไข่ที่นำมาเตรียมเป็นเซลล์ไข่ที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียส จะเห็นว่ามีอัตราความสำเร็จที่ต่ำมากโดยในการทดลองครั้งนั้นต้องใช้เซลล์ไข่จำนวนถึง 277 เซลล์ มาทำการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียสจึงสำเร็จออกมาเป็นดอลลี่เพียงตัวเดียว นั่นคือมีอัตราส่วนของความสำเร็จเพียง ประมาณ 0.4 % เท่านั้น (Wilmut et al., 1997) และในลักษณะที่คล้ายคลึงกันความสำเร็จในการโคลนนิ่งหมูได้เป็นครั้งแรกโดย Polejaeva et al. (2000) ก็ต้องใช้ เซลล์ไข่ที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียส จำนวน 2,468 เซลล์ ได้หมูจำนวน 31 ตัว คิดเป็นเพียง 1.3 % เท่านั้น และในการโคลนนิ่งแมวชื่อ CC ทีมผู้วิจัยก็ต้องใช้ เซลล์ไข่ที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียสถึง 188 เซลล์ คิดเป็น 0.5 % หรือในกรณีของความสำเร็จในการทำโคลนนิ่งม้าที่ชื่อ Prometea ก็ต้องใช้ เซลล์ไข่ที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียสถึง 941 เซลล์ นั่นคือมีอัตราความสำเร็จเพียง 0.1% เท่านั้น จากที่ผ่านมามีเพียงการทำโคลนนิ่งในวัวพันธุ์พื้นเมืองของญี่ปุ่น ที่เรียกว่า Japanese black cattle โดย Kato et al. (1998) ที่มีรายงานถึงความสำเร็จที่สูงกว่างานวิจัยชิ้นอื่นๆโดยมีการใช้เซลล์ไข่ที่ได้รับการเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียสจำนวน 141 เซลล์ และแม้จะมีลูกวัวคลอดออกมาถึง 10 ตัว โดยคิดเป็น 5.6% แต่ก็ยังถือว่ามีอัตราความสำเร็จที่ต่ำอยู่นั่นเอง จากเปอร์เซ็นต์ที่แสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการทำโคลนนิ่งสัตว์จากเซลล์ของร่างกายที่เจริญแล้วตั้งแต่ครั้งแรกที่ทำโคลนนิ่งดอลลี่สำเร็จไปเมื่อประมาณ 7 ปีที่ผ่านมาจนมาถึงการรายงานผลล่าสุดของความสำเร็จในการโคลนนิ่งม้า Prometea จะพบว่ายังอยู่ในอัตราที่ต่ำอยู่มาก ซึ่งการสูญเสียที่เกิดขึ้นส่วนมากเป็นเพราะมีอัตราการตายในท้องแม่ฝาก และอัตราการตายแรกคลอดที่สูงมากนั่นเอง

รายงานความผิดปกติของลูกสัตว์ที่เกิดจากการโคลนนิ่ง

ความผิดปกติต่างๆ ที่พบในแกะดอลลี่ ได้แก่ การแสดงอาการของโรคไขข้ออักเสบ (William et al., 2000) และการเสียชีวิตขณะที่อายุได้เพียง 6 ปีกว่า ซึ่งจากการผ่าซากพบมีเนื้องอกชนิดอดีโนมาโตซีสของปอด (lung adenomatosis) และยังมีรายงายวิจัยอีกมากที่แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติของลูกสัตว์ที่เกิดจากการโคลนนิ่ง โดย Ogonuki et al. (2002) ได้ศึกษาและรายงานถึงความผิดปกติของลูกหนูถีบจักรจำนวน 12 ตัวที่เกิดจากการโคลนนิ่ง และทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แม้ว่าน้ำหนักของหนูเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแล้วไม่มีความแตกต่างกัน แต่จากการตรวจค่าทางชีวเคมีของเลือดเพื่อเปรียบเทียบระดับของสารเคมีต่างๆ ในร่างกายทั้งหมดจำนวน 16 ชนิด พบว่า ลูกหนูถีบจักรที่ได้จากการโคลนนิ่งมีค่า เอนไซม์แลคเตต ดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase, LDH) และระดับสารแอมโมเนีย (NH_3) สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน หลังจากนั้นหนูโคลนเริ่มเสียชีวิตตั้งแต่วันที่ 311 หลังการคลอด และหนูทั้งหมดจำนวน 10 ตัวเสียชีวิตภายใน 800 วันภายหลังการคลอด ในขณะที่ในช่วงเวลาดังกล่าวนี้มีหนูจากกลุ่มควบคุมเพียงตัวเดียวเท่านั้นที่เสียชีวิต ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของการมีชีวิตรอดของหนูทั้งสองกลุ่มอย่างชัดเจน นอกจากนั้นนักวิจัยทีมนี้ยังได้ทำการผ่าซากเพื่อตรวจดูอวัยวะภายในต่างๆ ของลูกหนูโคลนจำนวน 6 ตัว และพบความผิดปกติต่างๆ ได้แก่ การแสดงอาการปอดบวมอย่างรุนแรง

การมีจุดเนื้อตายที่ตับเป็นจำนวนมาก นอกจากนั้นลูกหนูโคลนบางตัวยังพบว่าเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวและมะเร็งปอดด้วย และจากการที่มีระดับเอนไซม์แลคเตต ดีไฮโดรจีเนส และแอมโมเนียที่สูงก็แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติในการทำงานของตับ และเมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของหนูโคลนก็พบว่าการสร้างแอนติบอดีและปฏิกิริยาฟาโกไซโตซีส (phagocytic activity) ของเม็ดเลือดขาวต่ำกว่าของกลุ่มควบคุมซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานวิจัยที่พบในวัวและแพะที่เกิดจากการโคลนนิ่ง (Renard et al., 1999) และจากการที่การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่ำนี้เชื่อว่าอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อและแสดงอาการปอดบวมตามมา นอกจากนั้นยังพบถึงความผิดปกติอื่นๆของหนูโคลน โดย Tamashiro et al. (2002) ได้รายงานถึงผลการทดลองในหนูถีบจักรที่พบว่าระดับฮอร์โมนอินซูลินที่ต่ำกว่าปกติ การมีระดับของไขมันที่สูง และน้ำหนักเฉลี่ยที่มากกว่าหนูกลุ่มควบคุมถึง 72 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หนูพวกนี้แสดงอาการภาวะอ้วน (obesity) ออกมาซึ่งสอดคล้องกับอีกหลายงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นการเกิดภาวะอ้วนในลูกหนูโคลน (Perry and Wakayama, 2002; Inoue et al., 2002) ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้คล้ายกับภาวะการเจริญเติบโตเกิน (large offspring syndrome) ที่พบในวัวและแกะ (Young et al., 1998; Lazzari et al., 2002) และนอกจากนั้น Humpherys et al. (2002) ก็ได้รายงานผลการวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติในยีนของลูกหนูที่เกิดจากการโคลนนิ่งด้วย

ในลักษณะที่คล้ายคลึงกันได้มีรายงานถึงความผิดปกติของสัตว์ชนิดอื่นๆที่เกิดจากการโคลนนิ่งโดย Hill et al. (1999) ได้แสดงผลการวิจัยที่ชี้ให้เห็นถึงผลของการผ่าซากของลูกวัวที่เกิดจากการโคลนนิ่งภายหลังจากที่ตายภายหลังคลอดว่ามีสาเหตุมาจากความผิดปกติของระบบหัวใจและปอด (cardiopulmonary abnormality) ไม่ว่าจะเป็นกรณีของการเกิดการขยายใหญ่ของกล้ามเนื้อหัวใจ (dilated cardiomyopathy) การเกิดภาวะสารลดแรงตึงผิวในปอดบกพร่อง (pulmonary surfectant deficiency) และภาวะความดันในปอดสูง (pulmonary hypertension) เป็นต้น นอกจากนั้นยังมีรายงานของการเกิดภาวะกะเทย (phrematinsm) ขึ้นในลูกวัวแฝดที่เกิดจากการโคลนนิ่ง (Hwang et al., 2001) อย่างไรก็ตามแม้จะมีหลายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติของลูกสัตว์โคลนแต่ Lanza et al. (2001) ได้รายงานผลการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าลูกวัวที่ได้จากการโคลนนิ่งมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากลูกวัวที่เกิดจากการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติแต่อย่างใด

สาเหตุของความผิดปกติของลูกสัตว์โคลนนิ่ง

สำหรับสาเหตุของความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับลูกสัตว์โคลนนั้นยังไม่สามารถชี้ชัดได้ว่ามีสาเหตุมาจากปัจจัยตัวใด แต่ก็คาดว่าน่าจะประกอบด้วยปัจจัยหลายประการ โดยองค์ประกอบอย่างหนึ่งที่นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความผิดปกติตามมาได้แก่กระบวนการที่เกิดขึ้นในขั้นตอนของการเตรียมเซลล์ตัวให้นิวเคลียสซึ่งต้องทำการอดอาหาร (serum starvation) ในระหว่างที่มีการเพาะเลี้ยงในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อบังคับให้เซลล์อยู่ในระยะ G0 เนื่องจากเชื่อว่าเซลล์ในระยะนี้มีความเหมาะสมมากที่สุดในการทำหน้าที่เป็นเซลล์เซลล์ตัวให้นิวเคลียส (Wilmut et al., 1997) การกระทำดังกล่าวอาจทำให้เกิดความผิดปกติของนิวเคลียสตามมาได้ (Peura, 2001) และในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พิสูจน์แล้วว่าเซลล์ตัวให้นิวเคลียส ไม่จำเป็นต้องอยู่ในระยะพักหรือ ระยะ G0 แต่อย่างใด (Cibelli et al., 1998) นอกจากนั้นอีกขั้นตอนหนึ่งที่คาดว่าอาจเป็นสาเหตุสำคัญก็คือการเกิดความผิดพลาดในการปรับเปลี่ยนเพื่อย้อนกลับไปให้มีคุณสมบัติคล้ายกับเซลล์ของไซโกตของนิวเคลียสอันใหม่ที่ถูกใส่เข้าไปในไซโทพลาซึมของไอโอไซต์ตัวรับโดยเฉพาะในขั้นตอนของการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (DNA replication) โดยอาจเป็นผลมาจากความผิดพลาดในกระบวนการเมทิล

เลชัน (methylation) ในระหว่างกระบวนการของการจำลองดีเอ็นเอก็อาจเป็นไปได้ (Bourc'his et al., 2001; Dean et al., 2001; Kang et al., 2001; Ohgane et al., 2001; Xue et al., 2002)

สรุป

การประสบความสำเร็จที่ต่ำมากของการทำโคลนนิ่ง เริ่มตั้งแต่ความล้มเหลวในการฝังตัวในมดลูกของแม่ฝากซึ่งทำให้เกิดการแท้งในระยะต่างๆ ของการอุ้มท้องตามมา เปอร์เซ็นต์การตายหลังคลอดที่สูงมาก ตลอดจนความผิดปกติต่างๆที่เกิดขึ้นกับลูกสัตว์ที่เกิดจากการโคลนนิ่งไม่ว่าจะเป็นกรณีของแกะดอลลี่ที่แสดงอาการข้ออักเสบและเสียชีวิตไปก่อนวัยอันสมควรซึ่งจากผลการผ่าซากพบว่ามีมะเร็งของปอด การพบลักษณะที่ผิดปกติต่างๆ มากมายในหนูโคลนที่เสียชีวิตลงซึ่งแสดงให้เห็นถึงความผิดปกติของตับ ไต ระบบหัวใจและปอด หรือการเกิดภาวะอ้วนของหนูที่คล้ายคลึงกับการเกิดภาวะเจริญเติบโตเกินวัย (large offspring syndrome) ในวัวและแกะ การเกิดภาวะกะเทย (phrematinism) ที่พบในลูกวัว ทำให้นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าการทำโคลนนิ่งในปัจจุบันยังไม่ใช่เทคนิคการสืบพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพแต่อย่างใด ดังนั้นการที่นักวิทยาศาสตร์บางคนได้ออกมาประกาศที่จะทำการโคลนนิ่งในมนุษย์จึงเป็นสิ่งที่สมควรถูกต่อต้านอย่างหนักจากทุกๆ ฝ่ายในสังคมด้วยเหตุผลทางด้านจริยธรรมเป็นหลัก การที่จะนำเอาชีวิตของมนุษย์ที่จะเกิดใหม่ให้เสี่ยงกับภาวะที่ไม่แน่นอนเป็นสิ่งที่ควรหลีกเลี่ยงและต้องห้ามเป็นอย่างยิ่ง และในขณะเดียวกันควรมีการพัฒนาทั้งด้านเทคนิควิธีการเพื่อที่จะทำให้การโคลนนิ่งในสัตว์ประสบผลสำเร็จมากขึ้น ตลอดจนศึกษาถึงความผิดปกติต่างๆ ที่เกิดขึ้นว่ามีสาเหตุมาจากปัจจัยใด อันจะนำไปสู่การป้องกันและแก้ไขในที่สุด และเพื่อที่จะทำให้เป้าหมายในการทำโคลนนิ่งในสัตว์ไม่ว่าจะเป็นการผลิตสัตว์คุณภาพดีให้เพียงพอกับการบริโภคของพลเมืองโลก หรือแม้แต่การผลิตสัตว์ที่ภายในร่างกายมีตัวยาหรือสารเคมีที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพคน (Schneike et al., 1997) ที่จะนำไปใช้ในการรักษาโรคบางชนิดที่เรียกว่า การโคลนนิ่งเพื่อการรักษา (therapeutic cloning) เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

Baquisi, A., Behboodi, E., Melican, D.T., Pollock, J. S., Destrempes, M.M., Cammuso, C., Williams, J.L., Nims, S.D., Porter, C.A., Midura, P., Palacios, M.J., Ayres, S.L., Denniston, R.S., Hayes, M.L., Ziomek, C.A., Meade, H.M., Godke, R.A., Gavin, W.G., Overstrom, E.W. and Echelard, Y. (1999). Production of goat by somatic cell nuclear transfer. Nature Biotechnology. 17:456-461.

Bourc'his, D., Le Bourhis, D., Patin, D., Nireleau, A., Comissoli, P., Renard, J. and Viegas-Peguignot, E. (2001). Delayed and incomplete reprogramming of chromosomal methylation patterns in bovine cloned embryos. Current Biololy. 11:1542-1546.

Briggs, R. and King, T.J. (1952). Transplantation of living nuclei from blastula cell into enucleated frogs' eggs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 38:455-463.

Campbell, K.H.S., McWhir, J., Ritchie, W.A. and Wilmut, I. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature. 380:64-66.

Cibelli, J.B., Stice, S.L., Golueke, P.J., Kane, J.J, Jerry, J., Blackwell, F., Ponce de Leon, A. and Robl, J.M. (1998). Clone transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblast. Science. 280:1256-1258.

Dean, W., Santus, F., Stojkovic, M., Zakhartchenko, V., Walter, J., Wolf, E. and Reik, W. (2001). Conservation of methylation reprogramming in mammalian development: aberrant reprogramming in Cloned embryos. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 98:13734-13738.

Dynnys, A., Dai, Y., Barber, M., Lui, L., Xu, J., Zhou, P. and Yang, X. (2001). Development of cloned embryos from adult rabbit fibroblasts : effect of activation treatment and donor cell preparation. Biology Reproduction. 64:257-263.

Galli, C., Lagutina, I., Crotti, G., Colleoni, S., Turini, P., Ponderato, N., Duchi, R. and Lazzari, G. (2003). A cloned horse born to its dam twin. Nature. 424:635.

Hill, J.R., Roussel, A.J., Cibelli, G.B., Edwards, J.F., Hooper, N.L., Miller, M.W., Thompson, J.A., Looney, C.R., Westhusin, M.E., Robl, J.M. and Stice, S.L. (1999). Clinical and pathologic features of cloned transgenic calves and fetuses (13 cases studies). Theriogenology. 51(8):1451-1465.

Humpherys, D., Eggan, K., Akutsu, H., Friedman, A., Hochedlinger, K., Yanagimachi, R., Lander, E.S., Golub, T.R. and Jaenisch, R. (2002). Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cells and cumulus cell nuclei. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 99(20):12889-12894.

Hwang, W.S., Cho, J.K., Kim, K.Y, Shin, S.J., Kim, S.K., Park, J.L., Kim, D.Y., Lee, J.K., Lim, J.M. and Lee, B.C. (2001). Births of freemartins derived from embryos reconstructed with ear fibroblasts. The Journal Veterinary Medical Science. 63(5):577-578.

Inoue, K., Kohda, T., Lee, N., Ogonuki, N., Mochida, K., Noguchi, Y., Tanemura, K., Kaneko-Ishino, T., Ishino, F. and Ogura, A. (2002). Faithful expression of imprinted genes in cloned mice. Science. 295:297.

Kang, Y.K., Hoo, D.B., Park, J.S., Choi, Y.K., Chung, A.S., Lee, K.H. and Han, Y.M. (2001). Aberrant methylation of donor genome in cloned bovine embryos. Nature Genetics. 28:173-177.

Kato, Y., Tani, T., Sotomaru,Y., Kurokawa, K., Kato, J., Doguchi, H., Yasue, H. and Tsunoda, Y. (1998). Eight calves cloned form somatic cells of a single adutlt. Science. 282:2095-2098.

Lanza, R.P., Cibelli, J.B., Faber, D., Sweeney, R.W., Henderson, B., Nevala, W., West, M.D. and Wettstein, P.J. (2001). Cloned cattle can be healthy and normal. Science. 294:1893-1894.

Lazzari, G., Wrenzycki, C., Herrmann, D., Duchi, R., Kruip, T., Niemann, H. and Galli, C. (2002). Cellular and molecular deviations in bovine *in vitro*-produced embryos are related to the large offspring syndrome. Biology of Reproduction. 67(3):767-775.

McGrath, J. and Solter, D. (1993). Nuclear transplantation in the mouse embryo by microsurgery and cell fusion. Science. 220:1300-1302.

Ogonuki, N., Inoue, K., Yamamoto, Y., Noguchi, Y., Tanemura, K., Suzuki, O., Nakayama, H., Doi, K., Ohtomo, Y., Satoh, M., Nishida, A. and Ogura, A. (2002). Early death of mice cloned from somatic cells. Nature Genetics. 30:253-254.

Ohgane J., Wakayama, T., Kogo, Y., Senda, S., Hattori, N., Yanagimachi, R. and Shiota, K. (2001). DNA methylation variation in cloned mice. Genesis. 30:45-50.

Perry, A.C.F. and Wakayama, T. (2002). Untimely ends and new beginnings in mouse cloning. Nature Genetic. 30:243-244.

Peura, T.T. (2001). Serum starvation can cause excessive DNA damage in sheep fetal fibroblasts. Theriogenology. 55(1):285.

Polejaeva, I.A., Chen, S., Vaught, T.D., Page, R.L., Mullins, J., Ball, S., Dai, Y., Boone, J., Walker, S., Ayares. D.L., Colman, A. and Campbell, K. H. S. (2000). Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. Nature. 407:86-90.

Prather, R.S., Barnes, F.L., Sims, M.M., Robl, J.M., Eyestone, W.H. and First, N.L. (1987). Nuclear transplantation in bovine embryo: assessment of donor nuclei and recipient oocyte. Biology of Reproduction. 37:859-866.

Prather, R.S., Sims, M.M. and First, N.L. (1987). Nuclear transplantation in early pig embryos. Biology of Reproduction. 41:414-418.

Renard, J., Chastant, S., Chesne, P., Richard, C. and Marchal, J. (1999). Lymphoid hypoplasia and somatic cloning. Lancet. 359:1489-1491.

Schneike, A.E., Kind, A.J., Ritchie, W.A., Mycock, K., Scott, A.R., Ritchie, M., Wilmut, I., Colman, A., and Campbell, K.H.S. (1997). Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from fetal fibroblast. Science. 278:2130-2133.

Shin, T., Kraemer, D., Pryor, J., Liu, L., Rugila, J., Howe, L., Buck, S., Murphy, K., Lyons, L. and Westhusin, M. (2002). A cat cloned by nuclear transplantation. Nature. 415:859.

Tamashiro, K.L., Wakayama, T., Akutsu, H., Yamazaki, Y., Lachey, J.L., Wortman, M.D., Seeley, R.J., D'Alessio, D.A., Woods, S.C., Yanagimachi, R. and Sakai, R.R. (2001). Cloned mice have an obese phenotype not transmitted to their offspring. Nature Medicine. 8(3):215-216.

Wakayama, T., Perry, A.C., Zuccotti, M., Johnsom, K.R.M. and Yanagimachi, R. (1998). Full-term development of mice from enucleated oocyted injected with cumulus cell nuclei. Nature. 394:369-374.

William, N. (2002). Dolly clouds cloning hopes. Current Biology. 12:R79-R80.

Wilmut, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A.J. and Campbell, K.H.S. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature. 385:810-813.

Woods, G.L., White, K.L., Vanderwall, D.K., Li, G., Aston, K.I., Bunch, T.D. Meerdo, L.N. and Pate, B.J. (2003). A mule clone from fetal cells by nuclear transfer. Science. 301:1063.

Xue, F.,Tian, X.C., Du, F., Kubota, C., Taneja, M., Dinnyes, A., Dai, YT., Levine, H., Pereira, L.V. and Yang, X. (2002). Aberrant patterns of X-chromosome inactivation in bovine clones. Nature Genetics. 31:216-220.

Yanagimachi, R. (2002). Cloning: experience from the mouse and other animals. Molecular and Cellular Endocrinology. 187(1-2):241-248.

Young, L.E., Sinclair, K.D. and Wilmut, I. (1998). Large offspring syndrome in cattle and sheep. Review of Reproduction. 3:155-163.

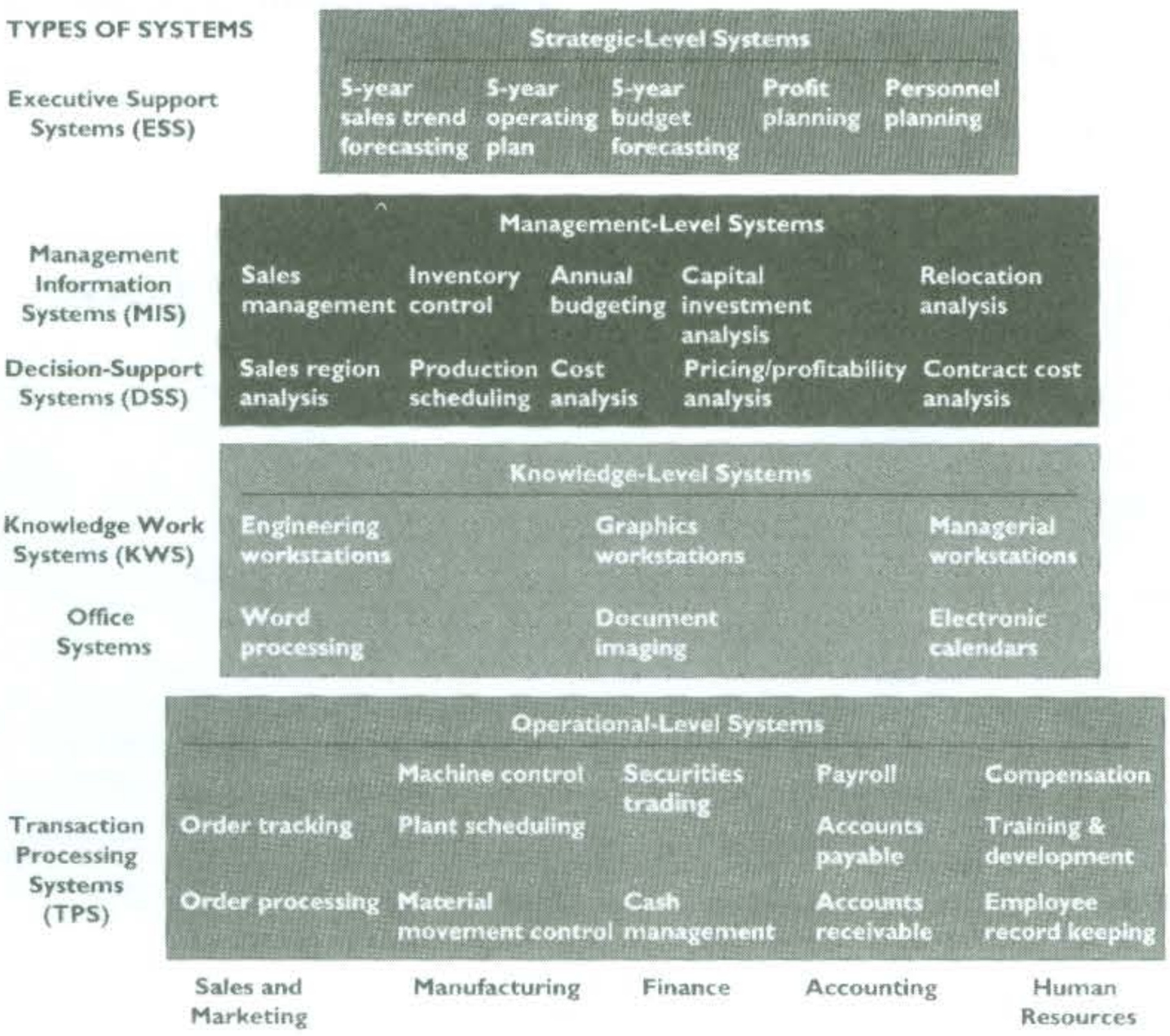
ว. วิทย. มข. 32(1) : 13-22 (2547) KKU Sci. J. 32(1) : 13-22 (2004)

การพัฒนาระบบสารสนเทศให้ประสบความสำเร็จ

วิชุดา ไชยศิวามงคล[1]

ในหลายๆ องค์กรมีความพยายามอย่างมากที่จะพัฒนาระบบการทำงานขององค์กรให้อยู่ในรูปของระบบสำนักงานอัตโนมัติ พร้อมกันนั้นผู้บริหารก็มักจะขอพ่วงต่อด้วยการจัดทำระบบสารสนเทศเพื่อการจัดการ (management information system, MIS) และจะเลยไปถึงระบบสนับสนุนการตัดสินใจ (decision support system, DSS) พร้อมกับระบบสนับสนุนผู้บริหาร (executive support system, ESS) ซึ่งเป็นระบบสารสนเทศในระดับที่สูงขึ้นไปเรื่อย รูปที่ 1 แสดงให้เห็นชนิดของระบบสารสนเทศทั้ง 6 ระบบ สำหรับผู้บริหารในแต่ละระดับและแต่ละกิจกรรม

แน่นอนลักษณะของระบบสารสนเทศที่ผู้บริหารต้องการคือ มีสารสนเทศที่สามารถสนับสนุนทุกกิจกรรมในองค์กรได้ รวมถึงความสะดวกรวดเร็วต่อการปฏิบัติงาน และง่ายต่อการเรียกใช้สารสนเทศต่างๆ ชนิดที่ผู้บริหารกดปุ่มหรือคลิกที่คอมพิวเตอร์แล้ว สามารถแสดงสารสนเทศเพื่อใช้ในการวางแผนหรือตัดสินใจได้ทันที ท่านคิดว่าแนวคิดดังกล่าวเกิดขึ้นได้หรือไม่ สารสนเทศที่ได้จากระบบดังกล่าวมีความน่าเชื่อถือมากน้อยเพียงใด แล้วทำอย่างไรจึงจะพัฒนาระบบดังกล่าวให้ประสบความสำเร็จและสามารถนำไปใช้งานได้เป็นอย่างดี เป็นคำถามที่น่าคิดและชวนให้ค้นหาคำตอบอย่างมาก



รูปที่ 1 ระบบสารสนเทศทั้ง 6 ระบบ สำหรับผู้บริหารในแต่ละระดับ

[1] *ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002*

บทความนี้จึงเขียนขึ้นเพื่อเสนอแนวคิดทางทฤษฎีประกอบกับการวิจัยที่เกี่ยวข้อง สำหรับผู้ที่สนใจทั่วไป ซึ่งผู้เขียนพยายามฉายภาพให้เห็นว่ามีปัจจัยหรือตัวชี้วัดอะไรบ้าง ที่สามารถบ่งบอกถึงความสำเร็จหรือความล้มเหลวในการพัฒนาระบบ เพื่อหาแนวทางในการควบคุมและป้องกันระหว่างดำเนินการพัฒนาระบบต่อไป

สถิติของความสำเร็จในการพัฒนาระบบ

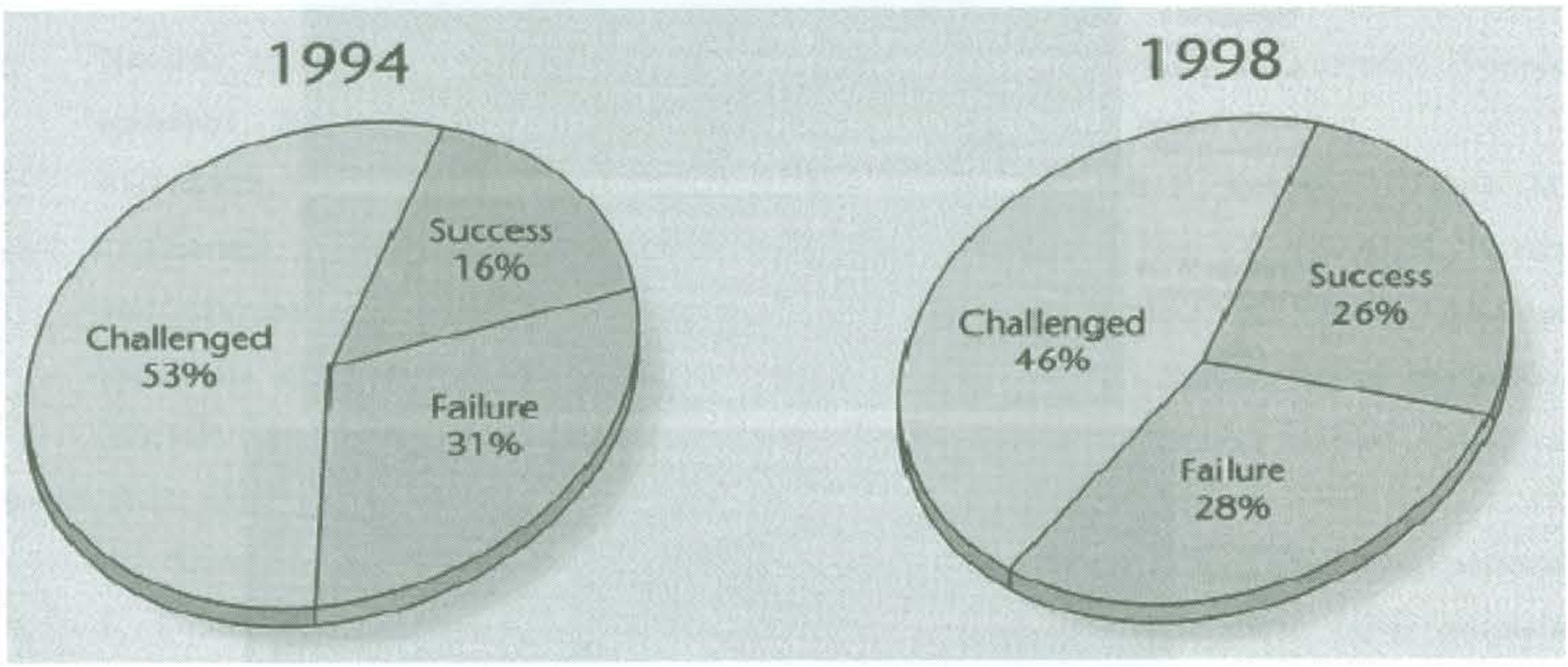
ทราบได้อย่างไรว่าระบบสารสนเทศที่ได้จากการพัฒนานั้นประสบความสำเร็จหรือไม่ ขอแนะนำข้อควรพิจารณาในเบื้องต้นดังนี้

1) ด้านผู้ใช้ ถ้าผู้ใช้ไม่เห็นประโยชน์ หรือคุณค่าของระบบที่พัฒนาก็ยากที่จะประสบความสำเร็จ ทำอย่างไรผู้ใช้ทุกระดับในองค์กรจึงจะใช้ระบบที่พัฒนาขึ้นมาอย่างเต็มใจ

2) ด้านการบริหารโครงการเพื่อพัฒนาระบบ ถ้าไม่สามารถควบคุมการดำเนินงานในแต่ละขั้นตอนได้ตามแผนค่าใช้จ่ายและเวลา ก็ยากที่จะประสบความสำเร็จเช่นกัน ดั้งนั้นควรหานักพัฒนาระบบที่มีประสบการณ์ และมีความเชี่ยวชาญ

3) ด้านผู้บริหาร คล้ายกับด้านของผู้ใช้ แต่แตกต่างกันที่อำนาจในการสั่งการ และการให้ความสำคัญกับเรื่องดังกล่าวอย่างจริงจังเช่น มีการวางแผนร่วมกันกับฝ่ายพัฒนาระบบ เพื่อรับทราบข้อจำกัดในการพัฒนาระบบว่ายอมรับได้หรือไม่ หรือมีทางออกอื่นอีกหรือไม่ ซึ่งบางเรื่องมีผลกระทบต่อกฎระเบียบและวัฒนธรรมขององค์กร

Oz (2002) ได้รายงานสถิติเกี่ยวกับความสำเร็จและความล้มเหลวของการพัฒนาระบบว่า จากการสำรวจในปี 1994 พบว่าเกินกว่าครึ่งคือร้อยละ 53 ที่การพัฒนาระบบนั้นเสร็จช้ากว่ากำหนดหรือมีการใช้งบประมาณเกินกว่าที่กำหนดไว้ และร้อยละ 31 ถูกยกเลิกกลางคัน อาจจะกล่าวได้ว่าในปี 1994 การพัฒนาระบบล้มเหลวถึงร้อยละ 84 ตามรูปที่ 2 ซึ่งมีผู้วิจัยบางกลุ่มประมาณไว้ว่าในปี 2000 นั้นจะมีความล้มเหลวของการพัฒนาระบบสูงถึงร้อยละ 90 ถ้าการพัฒนาระบบไม่มีการบริหารจัดการโครงการที่ดี



รูปที่ 2 สถิติความสำเร็จและความล้มเหลวของการพัฒนาระบบ

Laudon and Laudon (2003) ได้รายงานว่ามีจำนวนไม่น้อยที่การพัฒนาระบบพบกับความล้มเหลวเนื่องจากไม่ระมัดระวังในการจัดการเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงระบบ และยังรายงานอีกว่าร้อยละ 50-70 ที่พบกับความล้มเหลวเนื่องจากมีการกำหนดขอบเขตของโครงการใหญ่เกินความเป็นจริง ทำให้ระบบมีความซับซ้อนยากแก่การพัฒนาให้เสร็จ

จะเห็นว่าเป็นเรื่องยากพอสมควรที่เราจะพัฒนาระบบสารสนเทศให้มีคุณภาพและประสิทธิภาพตามที่เราวางแผนไว้ สิ่งเหล่านี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหรือมีตัวชี้วัดอะไรบ้าง ที่เห็นชัดในเบื้องต้นคือ **เรื่องการเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ระบบรวมทั้งศึกษาสถานการณ์ขององค์กรในเบื้องต้นให้กระจ่างและปรับความเข้าใจเกี่ยวกับข้อมูลและระบบงานของทุกคนในองค์กรให้อยู่ในทิศทางเดียวกันเสียก่อน** ซึ่งจะต้องทำควบคู่ไปกับการบริหารโครงการให้ดีในแง่ของค่าใช้จ่ายและเวลาที่วางแผนไว้ ดังจะเห็นได้จากงานที่เป็นการบริการจุดเดียว (one-stop service) จะทำสำเร็จได้ก็ต่อเมื่อทุกหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต้องเข้าใจข้อมูลที่ใช้ร่วมกันเป็นอย่างดี รวมถึงจะต้องมีการจัดทำระบบฐานข้อมูลที่ดี ในประเทศไทยได้มีการศึกษาวิจัยในเรื่องตัวชี้วัดเหมือนกัน เพื่อหาว่าตัวชี้วัดใดบ้างที่คาดว่าจะมีผลต่อความล้มเหลวในการใช้ระบบสารสนเทศที่พัฒนาขึ้นมา ซึ่งเป็นเรื่องที่น่าสนใจมาก

การวิจัยที่น่าสนใจ

สมบูรณ์วัลย์ สัตยารักษ์วิทย์ และคณะ (2542) ได้ประเมินระบบสารสนเทศขององค์กรในประเทศไทย โดยแบ่งการประเมินออกเป็น 4 ด้านได้แก่ ผลที่ได้จากการระบบ การใช้ระบบ ผลกระทบ และกระบวนการพัฒนาระบบ ระหว่างระบบงานหลักกับระบบงานสนับสนุน สำหรับหน่วยตัวอย่างนั้นเลือกจากองค์กรที่มีการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศค่อนข้างก้าวหน้าด้วยตัวชี้วัดที่ทีมวิจัยศึกษาขึ้นมา โดยใช้แบบสอบถาม ถามจากผู้เชี่ยวชาญ ซึ่งแยกเป็นนักวิชาการ 39 คนและ ผู้บริหาร 100 คน (เช่น ผู้บริหารจัดการระบบเทคโนโลยีสารสนเทศ ผู้ใช้ระบบและผู้พัฒนาระบบ) ดำเนินการถามซ้ำ 2 รอบเพื่อให้ได้คำตอบที่เป็นฉันทามติ

ในข้อถามที่ใช้ประเมินมีเกณฑ์ 5 ระดับ (0-5 : ไม่สำคัญจนถึงสำคัญมาก) นำมาหาค่ามัธยฐาน (median) เพื่อจัดตำแหน่งความสำคัญของตัวชี้วัดต่างๆ และคำนวณพิสัยระหว่างควอไทล์ (inter quartile range, IRQ) เพื่อดูความสอดคล้องของความคิดเห็นในกลุ่มผู้ตอบ

ในที่นี้จะขอยกผลบางส่วนที่น่าสนใจมานำเสนอ ผู้วิจัยได้ตั้งเกณฑ์การแปลผลค่ามัธยฐานไว้หลายระดับ เช่น ถ้าค่ามัธยฐาน 4.61-5.00 ถือว่าตัวชี้วัดนั้นๆ สำคัญมากที่สุด และถ้าค่ามัธยฐานเป็น 4.21-4.60 ถือว่าสำคัญมาก เป็นต้น ผู้เขียนจึงคัดเฉพาะกรณีสำคัญมากที่สุดมาให้พิจารณาตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวชี้วัดของการประเมินด้านต่างๆ ที่มีค่า มัธยฐาน 4.61-5.00 (สำคัญมากที่สุด)

ด้าน		รอบที่ 1	รอบที่ 2
ผลที่ได้จากการระบบ	ระบบงานหลัก	คุณภาพสินค้าหรือบริการ คุณภาพสินค้าหรือบริการ	ความพึงพอใจของผู้ใช้ระบบ
	ระบบงานสนับสนุน	-	-
การใช้ระบบ	ระบบงานหลัก	ความเชื่อถือได้ของระบบ ความถูกต้องของข้อมูล ความเป็นปัจจุบันของข้อมูล ความครบถ้วนของข้อมูล ความมั่นคงปลอดภัยของระบบ	ความเชื่อถือได้ของระบบ ความถูกต้องของข้อมูล ความเป็นปัจจุบันของข้อมูล ความครบถ้วนของข้อมูล ความมั่นคงปลอดภัยของระบบ เวลาในการตอบสนองของระบบ การเข้าถึงสารสนเทศ
	ระบบงานสนับสนุน	ความเชื่อถือได้ของระบบ ความถูกต้องของข้อมูล ความครบถ้วนของข้อมูล ความมั่นคงปลอดภัยของระบบ ความเป็นปัจจุบันของข้อมูล	ความเชื่อถือได้ของระบบ ความถูกต้องของข้อมูล ความครบถ้วนของข้อมูล ความเป็นปัจจุบันของข้อมูล ความมั่นคงปลอดภัยของระบบ
ผลกระทบ	ระบบงานหลัก	การให้บริการลูกค้า การเพิ่มขีดความสามารถ ในการแข่งขันขององค์กร	การให้บริการลูกค้า การเพิ่มขีดความสามารถ ในการแข่งขันขององค์กร
	ระบบงานสนับสนุน	-	-
กระบวนการพัฒนาระบบ	ระบบงานหลัก	-	-
	ระบบงานสนับสนุน	-	-

สำหรับกระบวนการพัฒนาระบบ พบว่าเรื่องเวลาที่ใช้จริงๆในการพัฒนาเทียบกับเวลาที่กำหนดในแผน ถูกจัดให้มีความสำคัญในระดับมาก ส่วนเรื่องค่าใช้จ่ายจริงในการพัฒนาเทียบกับงบประมาณที่ตั้งไว้ และเรื่องการปรับเปลี่ยนแผนในการพัฒนาระบบ ถูกจัดให้มีความสำคัญในระดับปานกลาง

ปัญหาของการพัฒนาระบบมีอะไรบ้าง

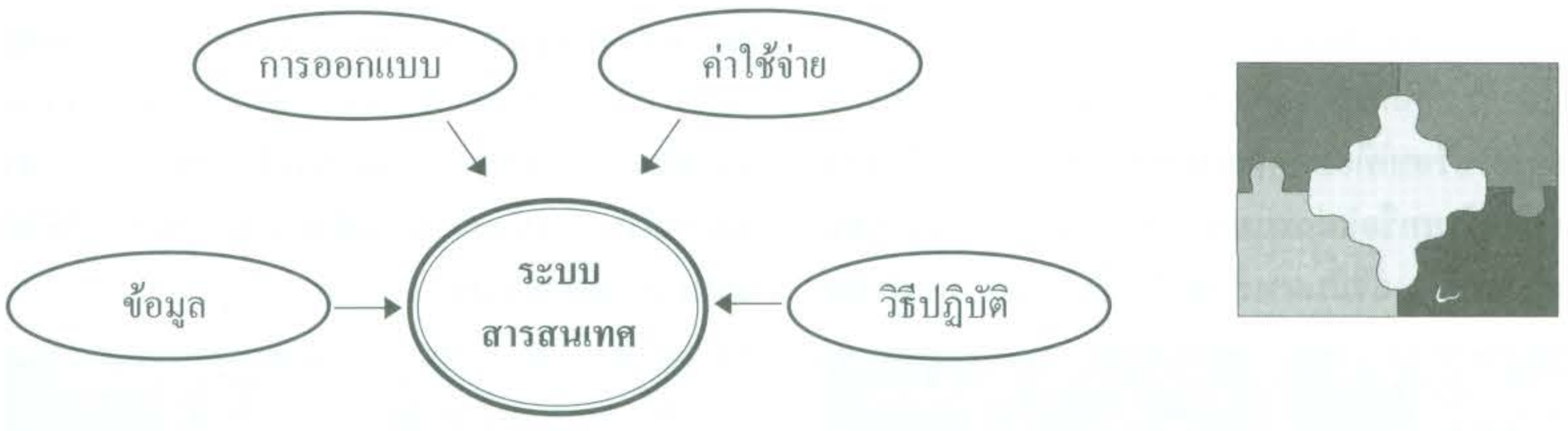
ผลการวิจัยดังกล่าวนั้นมีรายละเอียดมากมายเท่าที่กล่าวมาทำให้เราเห็นตัวชี้วัดที่มีผลต่อความสำเร็จในการพัฒนาระบบสารสนเทศนั้นชัดเจนขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่ให้ความสำคัญมากที่สุดในเรื่องของข้อมูล เช่น สารสนเทศต้องสมบูรณ์แม่นยำ ความเป็นปัจจุบันของข้อมูล ความมั่นคงปลอดภัยของระบบ ความเชื่อถือได้ของระบบ และค่าใช้จ่ายควรต่ำลง เป็นต้น ปัญหารองลงมาคือด้านการบริหารโครงการทั้งเรื่องค่าใช้จ่ายและเวลาที่ไม่เป็นไปตามแผน เมื่อศึกษาต่อก็พบว่ามีนักวิชาการหลายท่านกล่าวถึงเรื่องปัญหาด้านการพัฒนาและการปรับเปลี่ยนระบบ Laudon and Laudon (2004) ได้กล่าวถึงปัญหาด้านดังกล่าวว่ามีปัญหาหลัก 4 ประเด็น (รูปที่ 3) ที่จะต้องพยายามหาวิธีการจัดการหรือควบคุมซึ่งได้แก่

1. การออกแบบ : การออกแบบที่ไม่ตรงกับความต้องการของผู้ใช้ หรือมีส่วนเชื่อมโยงกับผู้ใช้ที่ไม่เหมาะสมทำให้ใช้ยาก หรือไม่สามารถเข้ากับโครงสร้างและวัฒนธรรมขององค์กรนั้นได้ ทำให้ผู้ใช้ไม่ใช้ระบบใหม่ ผลที่ตามมาคือฐานข้อมูลไม่ถูกปรับปรุงให้เป็นปัจจุบัน สารสนเทศที่ได้จะไม่ทันต่อเหตุการณ์

2. ข้อมูล : ไม่มีการนิยามข้อมูลที่ใช้ร่วมกันในองค์กร ทำให้ผู้ใช้เข้าใจข้อมูลไม่สอดคล้องตรงกัน ข้อมูลที่จัดเก็บไม่สอดคล้องกับหน้าที่และการปฏิบัติงาน ขาดความสมบูรณ์ ความถูกต้องแม่นยำ

3. ค่าใช้จ่าย : ค่าใช้จ่ายต่างๆ เกินงบประมาณที่ตั้งไว้มาก ไม่สามารถควบคุมได้ เนื่องจากบางระบบต้องใช้งบประมาณมากจึงจะพัฒนาได้สำเร็จ

4. วิธีปฏิบัติ : สารสนเทศต่างๆ ไม่สามารถปฏิบัติการได้อย่างราบรื่น ไม่สามารถควบคุมให้รายงานหรือสารสนเทศผลิตออกมาได้ตามตารางเวลาที่กำหนดไว้



รูปที่ 3 สาเหตุที่จะทำให้ของการพัฒนาระบบสารสนเทศสำเร็จหรือไม่

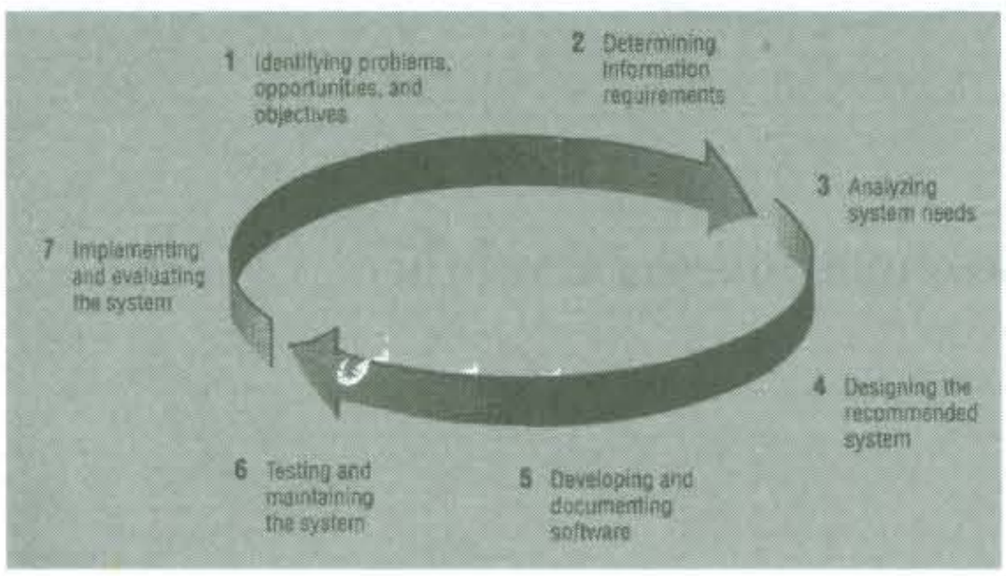
จัดการกับปัญหาอย่างไรดี

ถ้าจะตอบคำถามข้างต้นให้กระจ่างคงต้องกล่าวถึงทฤษฎีหลายเรื่อง ถ้าเป็นคำตอบแบบพื้นๆ ในเบื้องต้นอาจจะบอกได้ว่า เรื่องที่สำคัญอันดับแรกคือ **เรื่องการเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ระบบรวมทั้งควรศึกษาสถานการณ์ขององค์กรให้ชัดเจนเสียก่อน** หากเร่งรีบจนเกินไปอาจจะเกิดปัญหาได้ ดังนั้นเรื่องการศึกษาองค์กร ศึกษาเอกสารขององค์กร รวมถึงการศึกษากระบวนการทำงานขององค์กรจนเข้าใจนั้นเป็นสิ่งที่สำคัญมาก หลายคนเข้าใจว่าการเข้าไปศึกษาตรงนี้เพื่อหาปัญหา จริงอยู่สิ่งที่ต้องการคืออยากทราบปัญหา แต่อย่าลืมว่าเราจะสรุปปัญหาได้อย่างชัดเจนก็ต่อเมื่อเราต้องเข้าใจระบบและทราบข้อเท็จจริงต่างๆ ขององค์กรนั้นๆ เป็นอย่างดีเสียก่อน จากนั้นทำการนิยามข้อมูลและหาวิธีดึงผู้ใช้ระบบเข้ามามีส่วนร่วมในการพัฒนาระบบ เพื่อปรับความเข้าใจในเรื่องของสารสนเทศที่จะได้จากระบบให้ตรงกัน รวมถึงหาวิธีการปฏิบัติงานที่ง่ายเป็นมาตรฐานและหาระบบที่เป็นที่ยอมรับตรงกับความต้องการของผู้ใช้ ส่วนเรื่องการควบคุมเวลาและค่าใช้จ่ายนั้น ถ้าใช้นักพัฒนาระบบที่มีประสบการณ์ก็จะช่วยได้มาก เพราะจะมีประสบการณ์ใน**การบริการโครงการ**ไม่ว่าจะเป็นการบริหารเพื่อการพัฒนาระบบหรือการบริหารเพื่อการปรับเปลี่ยนระบบงาน

ในการพัฒนาระบบสารสนเทศขององค์กรนั้น ถ้าจะเปรียบเทียบก็คงเหมือนกับการต่อภาพจิกซอว์ แต่ละฝ่ายหรือแต่ละแผนกนั้นมีการประสานงานกันตลอดเวลา ดังนั้นการศึกษาในเบื้องต้นนี้ มิใช่ศึกษาเฉพาะฝ่ายหรือแผนกใดแผนกหนึ่งเท่านั้น แต่ควรจะศึกษาภาพรวมขององค์กรให้เข้าใจ แล้วจึงวางแผนต่อว่าจะตัดภาพนั้นๆ ออกเป็นกี่ส่วน และตัดอย่างไร เพราะอย่างที่กล่าวมาแล้วว่าแต่ละฝ่ายหรือแต่ละแผนกนั้นมีการประสานงานกันตลอดเวลา จากนั้นจึงพิจารณาต่อว่าควรจะนำชิ้นส่วนไหนมาพัฒนาก่อนเป็นลำดับที่ 1, 2, 3... แต่ในขณะที่พัฒนาระบบแต่ละชิ้นส่วนนั้น ต้องไม่ลืมว่าเราจะต้องนำชิ้นส่วนนี้ไปเชื่อมต่อกับชิ้นส่วนย่อยอื่นๆ ด้วย ดังนั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคำนึงถึงข้อมูล เอกสารหรือสารสนเทศที่จะต้องเชื่อมโยงกันระหว่างระบบย่อยเหล่านั้นให้เหมาะสม ลองพิจารณารายละเอียดในหัวข้อต่างๆ ต่อไป

วงชีวิตของการพัฒนาระบบ

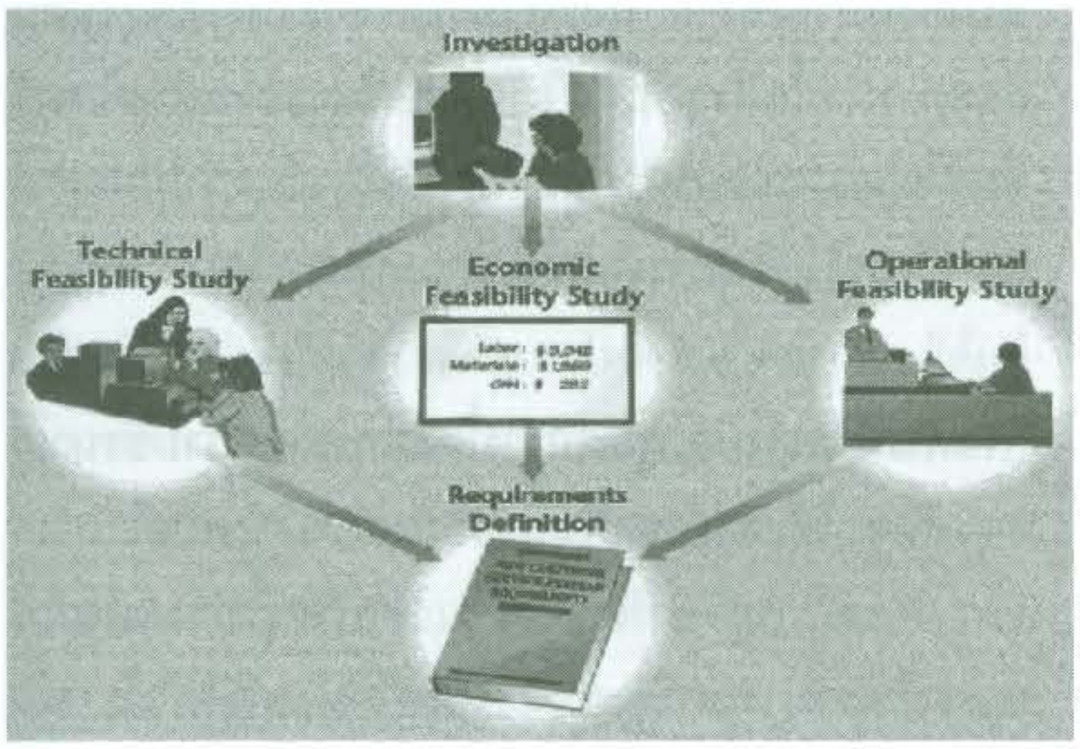
ขั้นตอนการนำจิกซอว์หรือระบบงานแต่ละชิ้นส่วนมาพัฒนาให้ดีนั้น ต้องใช้หลักการวิเคราะห์และออกแบบระบบงานเข้ามาช่วย ส่วนทำอย่างไรนั้น ผู้เขียนได้เขียนบทความเรื่อง “แนวคิดการพัฒนาองค์กรในยุคเทคโนโลยีสารสนเทศ” (วิชุดา ไชยศิวามงคล, 2540) สรุปว่า หลักการของวงชีวิตในการ**พัฒนาระบบ**นั้นยังคงใช้ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับองค์กรที่มีความซับซ้อน และต้องการกำหนดคุณสมบัติต่างๆ อย่างเป็นทางการร่วมกัน ซึ่งมี 7 ขั้นตอน ตามรูปที่ 4 แน่นอนขั้นตอนการวางแผนและการออกแบบระบบนั้นจำเป็นต้องได้รับความร่วมมือหรือการสนับสนุนจากผู้ใช้ระบบ เมื่อนำมาผนวกกับการสนับสนุนจากผู้บริหาร ก็จะทำให้ได้ระบบใหม่ที่เหมาะสม



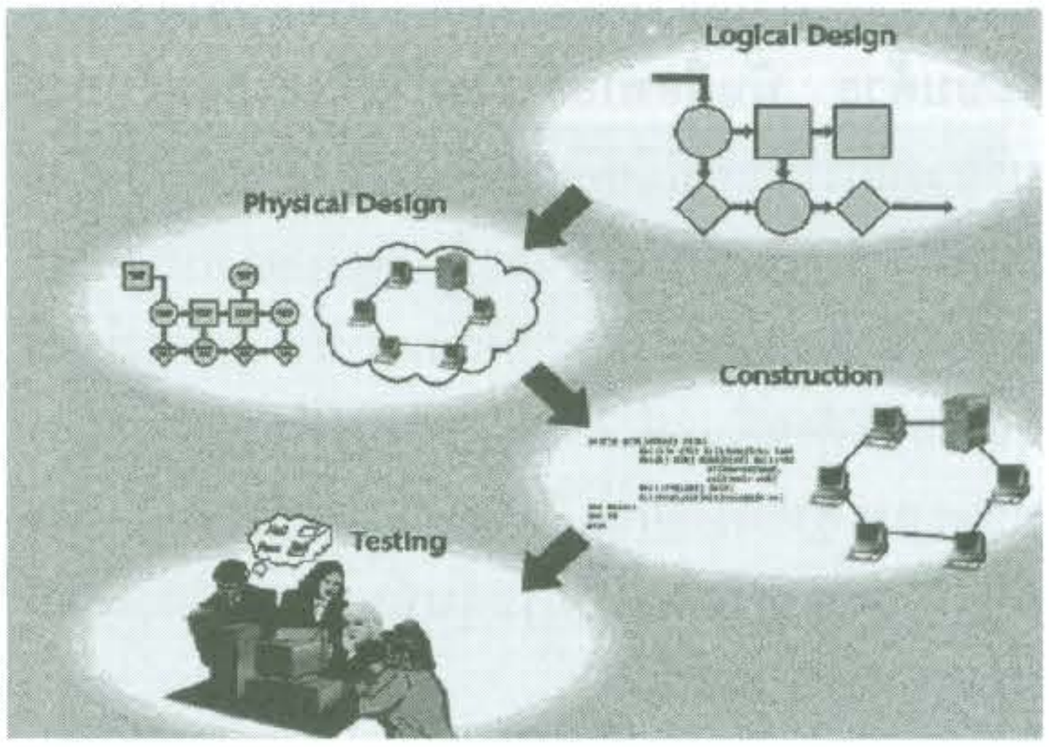
รูปที่ 4 วงชีวิตของการพัฒนาระบบ

ขั้นตอนที่ 1-3 นั้นเป็นขั้นตอนในการ**วิเคราะห์ระบบ** นั่นคือต้องศึกษา**เพื่อทำความเข้าใจหน้าที่และกระบวนการทางธุรกิจในฝ่ายหรือแผนกต่างๆ ขององค์กรนั้นทั้งหมดเสียก่อน** เพื่อให้ได้มาซึ่งปัญหาและความต้องการขององค์กรตามรูปที่ 5ก ซึ่งต้องทำการวิเคราะห์ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นปริมาณและการใช้ทรัพยากรต่างๆ การควบคุมระบบต่างๆ ระบบสารสนเทศและความซับซ้อนด้านการปฏิบัติงานของระบบต่างๆ ในองค์กรตามสถานการณ์ปัจจุบันว่ามีความเหมาะสมเพียงใด จะทำให้เราทราบถึงจุดแข็ง จุดอ่อนของระบบงานในองค์กร จนกระทั่งสามารถกำหนดความต้องการของระบบได้ ซึ่งขั้นตอนที่ 1-3 นี้นับว่ามีความสำคัญยิ่ง ควรได้รับความร่วมมือจากผู้ใช้และผู้บริหารอย่างจริงจัง มิฉะนั้นจะไม่ได้ปัญหาที่แท้จริงของระบบ ซึ่งส่งผลให้ได้ระบบใหม่ที่ไม่เหมาะสม

สำหรับปัญหาที่ได้จากการวิเคราะห์ระบบนั้นอาจจะแบ่งได้เป็น 2 ประเด็นใหญ่ๆ คือปัญหาทางด้านการบริหารจัดการซึ่งต้องใช้มาตราการ และกฎระเบียบขององค์กรมาช่วยในการแก้ปัญหา สำหรับประเด็นที่ 2 เป็นปัญหาด้านการจัดการข้อมูลและเอกสารต่างๆ ที่มีอยู่มากมายในองค์กร **เพื่อให้ได้มาซึ่งสารสนเทศที่มีประโยชน์ต่อองค์กร** ซึ่งในทั้ง 2 ประเด็นจะต้องหาวิธีการบริหารจัดการให้สอดคล้องประสานกันได้อย่างลงตัวจึงจะถือว่าเป็นแนวทางที่ถูกต้อง



ก



ข

รูปที่ 5 ก. กระบวนการวิเคราะห์ระบบ ข. กระบวนการออกแบบระบบ

ขั้นตอนที่ 4-7 นั้นเป็นขั้นตอนการ**ออกแบบระบบ** เมื่อ**สรุปปัญหาและความต้องการที่แท้จริง**ของระบบได้อย่างชัดเจน จากนั้นวางแผนการออกแบบทีละระบบย่อยหรือชิ้นส่วนย่อย ไม่ว่าจะเป็นการออกแบบสารสนเทศต่างๆ เพื่อใช้ในการบริหารจัดการและเพื่อการติดตามควบคุมการปฏิบัติงานของระบบย่อยตามรูปที่ 5ข ที่จะต้องออกแบบทั้งเชิงตรรกภาพและเชิงกายภาพได้แก่ ออกแบบเอกสารนำเข้า ออกแบบวิธีนำข้อมูลเข้าระบบฐานข้อมูล ออกแบบระบบเครือข่าย ตลอดจนวิธีการปฏิบัติงาน เป็นต้น ซึ่งจะต้องมีการพิจารณาถึงความเหมาะสม และความเป็นไปได้พร้อมกับการทดสอบระบบใหม่ด้วย สำหรับระบบงานที่มีขนาดใหญ่ ควรวางแผนการทำงานอย่างเป็นโครงสร้าง เพราะจะทำให้การทำงานในแต่ละระบบย่อยไม่ผิดพลาด เนื่องจาก**ต้องออกแบบเพื่อเตรียมการเชื่อมโยงเข้ากับระบบย่อยอื่นๆ ด้วย**

ในท้ายที่สุดท่านจะได้ระบบสารสนเทศเพื่อใช้ในการบริหารจัดการ และเพื่อการติดตามควบคุมการปฏิบัติงานของทั้งองค์กร นั่นคือต้องพยายามออกแบบเพื่อแก้ปัญหาที่พบและให้ตรงกับความต้องการของผู้ใช้หรือเจ้าของระบบ ซึ่งขั้นตอนการออกแบบระบบนี้นับว่ามีความสำคัญยิ่งเช่นกัน

ทั้งนี้ควรได้รับความร่วมมือจากผู้ใช้และผู้บริหารอย่างจริงจัง การจัดทำระบบต้นแบบเป็นอีกวิธีที่จะช่วยตรวจสอบความต้องการหรือปรับความเข้าใจให้ตรงกันระหว่างผู้ใช้ระบบกับทีมพัฒนาระบบ และแน่นอนต้องมีการเปลี่ยนแปลงระบบเป็นระยะๆ เพื่อรองรับสภาพการณ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา วงชีวิตของพัฒนาระบบวงใหม่ก็จะเริ่มขึ้น

การบริหารการพัฒนาและปรับเปลี่ยนระบบ

การที่เราจะจัดการกับปัญหาทั้ง 4 ประเด็นได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้น ต้องทำควบคู่กับการบริหารจัดการเกี่ยวกับการพัฒนาและปรับเปลี่ยนระบบด้วย นั่นคือทำอย่างไรผู้ใช้จึงจะยอมรับการบริหารและระบบปฏิบัติการต่างๆในระบบใหม่อย่างเต็มใจ จะเห็นว่าหน้าที่ของนักพัฒนาระบบมิได้อยู่เฉพาะเรื่องการพัฒนาด้านเทคนิคเท่านั้น แต่จะต้องมีคุณสมบัติด้านอื่นๆด้วยเช่น ความรู้ด้านการบริหาร ทักษะการพูดการเขียน มีศิลปะในการติดต่อสื่อสารกับผู้อื่น และสามารถกระตุ้นทีมทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เป็นต้น

เมื่อศึกษาปัจจัยที่จะมีผลต่อความสำเร็จในการพัฒนาและปรับเปลี่ยนระบบ พบว่ามีอีก 4 ข้อ ตามรูปที่ 6 คือ

1. การมีส่วนร่วมหรือบทบาทของผู้ใช้ระบบต่อการออกแบบระบบใหม่ พบว่าสามารถลดช่องว่างในการสื่อสารเพื่อเปลี่ยนระบบลงได้อย่างมาก โดยอาจจะจัดทำระบบต้นแบบขึ้น แล้วให้ผู้ใช้ทดลองใช้พร้อมเสนอแนะแบบที่เหมาะสมกับเขา เป็นต้น

2. ผู้บริหารจะต้องให้การสนับสนุนอย่างเต็มที่ในระหว่างการพัฒนาระบบ

3. ระดับของความซับซ้อน และความเสี่ยงของโครงการในการพัฒนาระบบนั้นๆ เนื่องจากแต่ละระบบมีความแตกต่างกันทั้งขนาด ขอบเขต ระดับความซับซ้อน และโครงสร้างของโครงการ รวมทั้งการเลือกเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับระบบ ถ้าโครงการดังกล่าวมีขนาดใหญ่ และโครงสร้างที่ไม่ชัดเจนแล้วต้องการใช้เทคโนโลยีที่สูง จะมีโอกาสเสี่ยงต่อการล้มเหลวสูงมาก

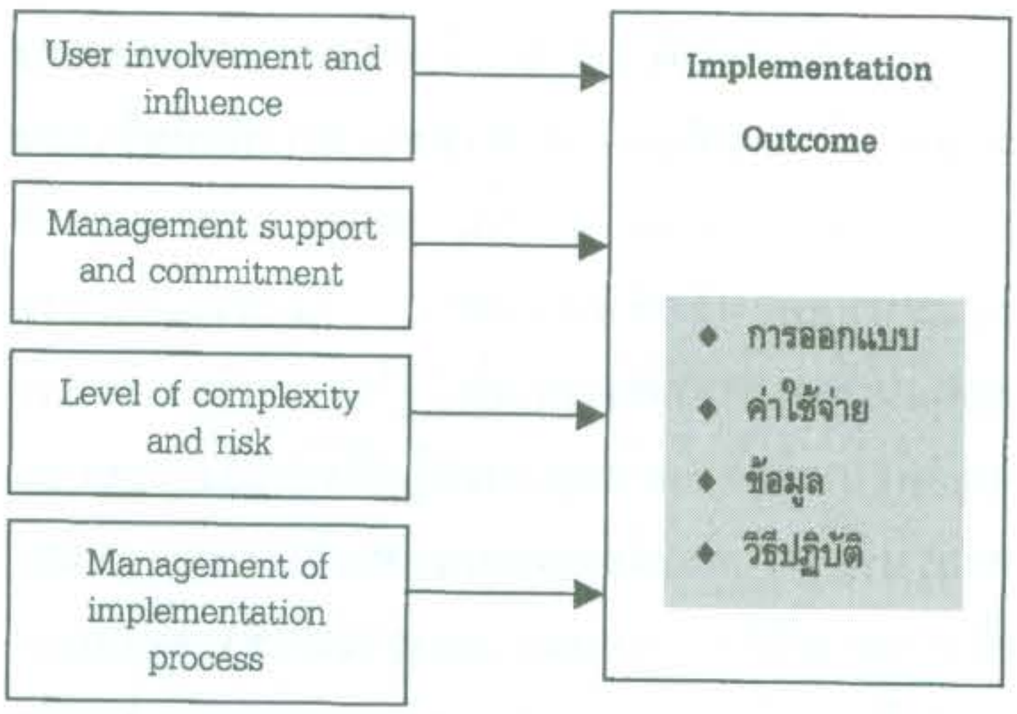
4. การจัดการในเรื่องการพัฒนาและการเปลี่ยนระบบต้องมีคุณภาพ

4.1 ประเด็นหนึ่งที่เป็นประเด็นพื้นฐานในการนำระบบไปใช้งานแต่มักจะถูกละเลย ได้แก่ เรื่องการฝึกอบรมให้ผู้ใช้มีความเข้าใจในระบบใหม่ ส่วนใหญ่มีการฝึกอบรมแต่มิได้เน้นให้ผู้ใช้เห็นประโยชน์ในการใช้ระบบนั้นๆอย่างชัดเจน มักจะหยุดที่ผู้ใช้สามารถเข้าใช้ระบบได้ แต่จริงๆแล้วต้องฝึกจนกว่าจะแน่ใจว่าผู้ใช้มีความเห็นว่าระบบดังกล่าวสะดวกสบายในการใช้งาน และสามารถใช้ระบบได้อย่างเต็มศักยภาพ เมื่อถึงจุดนั้นผู้ใช้ทุกระดับจะเห็นประโยชน์ที่แท้จริงของระบบ และจะได้รับความร่วมมืออย่างเต็มที่จากผู้ใช้ในการพัฒนาระบบครั้งต่อไป

4.2 การประมาณเวลาและค่าใช้จ่ายในการพัฒนาระบบผิดพลาด เนื่องจากขาดความชำนาญและมักจะใช้เวลามากเกินกว่าที่กำหนดไว้เสมอ

4.3 มีปัญหาด้านเทคนิคที่ประเมินไว้พบว่าไม่สามารถสนับสนุนระบบได้ตามที่คิดไว้

4.4 ผลประโยชน์ที่ได้รับจากระบบไม่ตรงกับแผนที่วางไว้



รูปที่ 6 ปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาและปรับเปลี่ยนระบบ

นอกจากนี้วัฒนธรรมขององค์กรก็เป็นอีกเรื่องที่จะต้องนำมาพิจารณาด้วย หากบริหารจัดการสิ่งเหล่านี้ไม่ดี อาจจะทำให้ค่าใช้จ่ายเกินแผนหรืองบที่ตั้งไว้ เวลาที่วางแผนไว้ในกิจกรรมอื่นๆ จะถูกเลื่อน อาจจะส่งผลกระทบไปถึงด้านเทคนิค และผลประโยชน์ขององค์กรที่ควรจะได้รับ

ป้องกันและควบคุมกันอย่างไรดี

ปัญหาทั้ง 4 ข้อข้างต้นนั้น จำเป็นต้องหาวิธีการบริหารจัดการที่ดีเข้ามาช่วย ในที่นี้จะขอแบ่งวิธีการบริหารจัดการออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนของการบริหารการพัฒนาระบบ กับการบริหารเพื่อปรับเปลี่ยนระบบ

1. การบริหารการพัฒนาระบบ

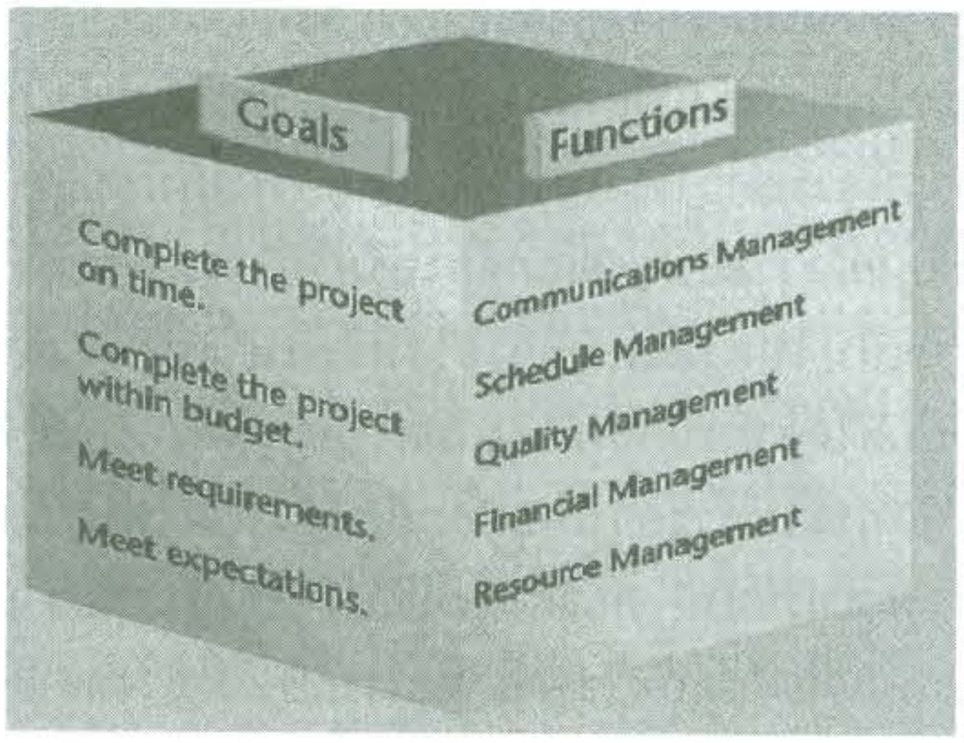
ในเรื่องนี้ท่านสามารถใช้หลักการของการบริหารโครงการเข้ามาช่วยได้ ตามรูปที่ 7 ซึ่งเป้าหมายของการบริหารโครงการนั้นมี 4 เรื่องหลักๆ ได้แก่ เรื่องของเวลา งบประมาณ ความสอดคล้องตรงกับความต้องการและตรงกับสิ่งที่คาดหวังไว้ ซึ่งต้องดำเนินการหรือจัดการ 5 เรื่องที่สำคัญๆ ได้แก่ การสั่งการหรือการติดต่อประสานงาน การจัดตารางการทำงาน การจัดการด้านคุณภาพของระบบ การจัดการด้านค่าใช้จ่าย และการจัดด้านทรัพยากร ทั้งนี้เพื่อ

1.1 ควบคุมปัจจัยเสี่ยงต่างๆ

- ไม่ว่าจะเป็นปัจจัยจากภายใน หรือภายนอกองค์กร เช่นสามารถเดาปัญหาที่จะเกิดขึ้นได้ และต้องสนทนาปัญหาและหาวิธีแก้ไขกับทีมงานอย่างสม่ำเสมอ
- ควรวางแผนการทำงานอย่างเป็นทางการเพื่อสะดวกในการติดตาม และประเมินระบบงาน
- ควรประสานกับผู้ใช้ระบบอย่างสม่ำเสมอเพื่อลดปัญหาการต่อต้านจากผู้ใช้ระบบ

1.2 ออกแบบระบบงานต้องให้เหมาะกับองค์กร ซึ่งจะต้องคำนึงถึงผลกระทบที่จะเกิดกับองค์กรด้วย

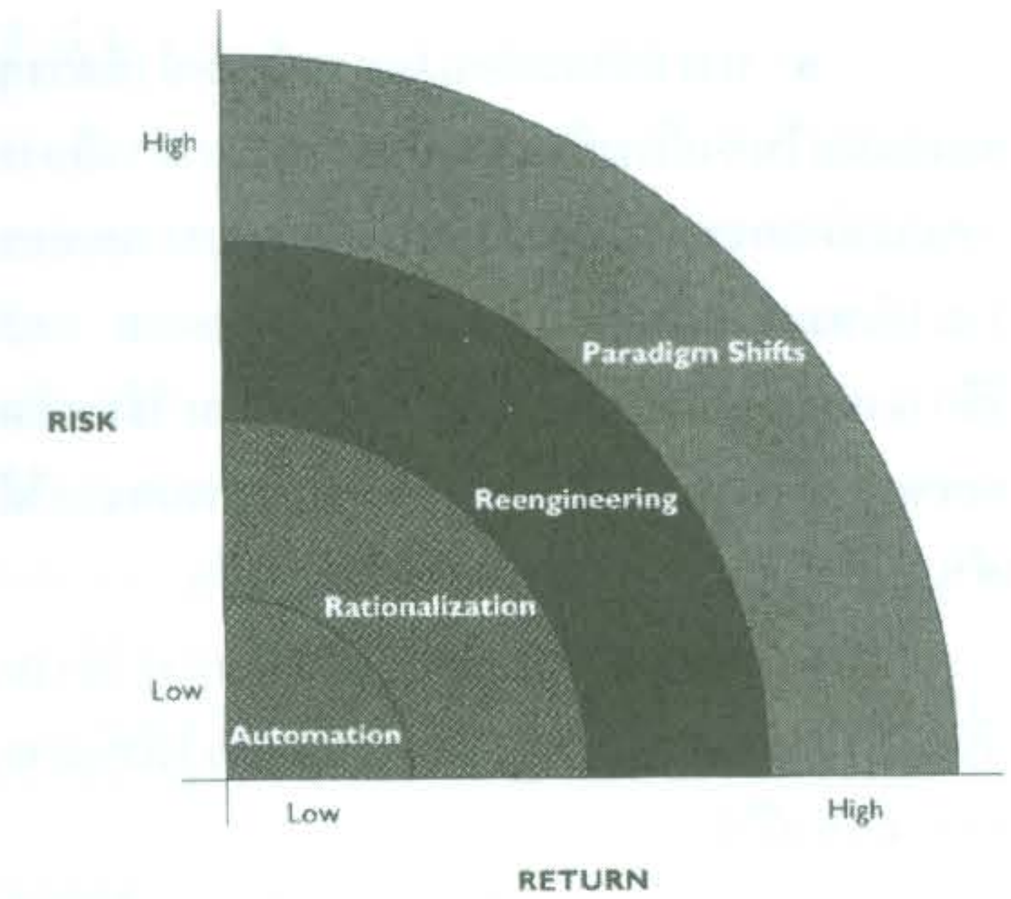
- การปรับเปลี่ยนโครงสร้างหน้าที่ต่างๆ ของระบบในองค์กรเป็นเรื่องที่ต้องระวัง ควรมีการวิเคราะห์ผลกระทบให้ดีเสียก่อน พิจารณางานแต่ละงานให้เหมาะสม โดยพิจารณาทั้งปริมาณงาน และวิธีการ เช่น ด้านอัตรากำลัง วิธีการปฏิบัติงาน วิธีการคิดตลอดจนวิธีการตัดสินใจ ทางที่ดีก็คือให้พนักงานได้เข้ามามีส่วนร่วมในการวางระบบใหม่
- พิจารณาด้านสุขลักษณะในการใช้งาน เพื่อให้ระบบใหม่มีความปลอดภัยและไม่ทำลายสุขภาพของผู้ใช้
- การผสมผสานกันระหว่างด้านเทคโนโลยีสมัยใหม่ กับกลุ่มบุคลากรต่างๆ หรือสังคมในองค์กร เพื่อให้เกิดความพึงพอใจในการปฏิบัติงานของตัวผู้ใช้ระบบเอง



รูปที่ 7 การบริหารโครงการ

2. การบริหารเพื่อปรับเปลี่ยนระบบ

การนำระบบสารสนเทศที่เป็นแบบดิจิตอลมาใช้ในองค์กรนั้น จะมีผลต่อการปรับเปลี่ยนองค์กร ผู้พัฒนาระบบจะต้องเชื่อมโยงระบบสารสนเทศเข้ากับแผนการดำเนินงานขององค์กรให้ได้ ต้องพิจารณาว่าการปรับเปลี่ยนดังกล่าวมีผลกระทบต่อองค์กรอย่างไรบ้างเช่น ต้องปรับโครงสร้างและหน้าที่ต่างๆ ขององค์ใหม่หรือไม่ ถ้าต้องปรับควรปรับอย่างไร เพราะเหตุใด เป็นต้น ซึ่งการปรับเปลี่ยนองค์กรนั้นมี 4 ระดับ (รูปที่ 8) ในแต่ละระดับจะมีความสี่ยงต่อความล้มเหลวแตกต่างกันไป



รูปที่ 8 ระดับของการปรับเปลี่ยนองค์การ

บทสรุป

ในบทความนี้ผู้เขียนพยายามให้ผู้อ่านได้รับทราบถึงสาเหตุของความสำเร็จและความล้มเหลวในการพัฒนาระบบ ต้องมีการควบคุม 4 ประเด็นหลักให้ดี ควรพิจารณาว่าระบบที่ได้ง่ายต่อการปฏิบัติหรือไม่ ข้อมูลมีความสมบูรณ์ถูกต้องหรือไม่ เวลาและค่าใช้จ่ายเป็นไปตามแผนที่วางไว้หรือไม่ และจากวิธีปฏิบัติได้สารสนเทศที่ตรงกับความต้องการหรือไม่ ซึ่งแนวทางในการควบคุมและป้องกันเพื่อให้ประสบความสำเร็จนั้น ต้องคำนึงถึงกระบวนการวิเคราะห์ระบบและขั้นตอนในการพัฒนาระบบด้วย เพราะถ้าศึกษาจนเข้าใจระบบจะทำให้ทราบจุดอ่อนจุดแข็งของระบบ และสามารถพัฒนาระบบเพื่อแก้ปัญหาได้ตรงประเด็นทั้งด้านข้อมูลและวิธีปฏิบัติที่ง่ายต่อผู้ใช้ จะทำให้ผู้ใช้รับระบบใหม่อย่างเต็มใจ ส่วนเรื่องการบริหารการพัฒนาและปรับเปลี่ยนระบบ ก็จะต้องวางแผนเป็นอย่างดี เพื่อควบคุมปัจจัยเสี่ยงต่างๆ เนื่องจากในแต่ละองค์กรอาจจะไม่เหมือนกันเพราะจะมีสภาพแวดล้อมและวัฒนธรรมขององค์กรที่แตกต่างกัน ดังนั้นบทความข้างต้นจึงเป็นเพียงแนวทางเบื้องต้น เพราะรายละเอียดแต่ละเรื่องยังมีอีกมากมาย และการพัฒนาระบบนั้นต้องใช้ทั้งศาสตร์และศิลป์ซึ่งขึ้นกับประสบการณ์ความเชี่ยวชาญของผู้พัฒนาระบบว่าสามารถประยุกต์ศาสตร์และศิลป์เข้ากับองค์กรที่พัฒนาได้เหมาะสมมากเพียงใด

ระดับที่ 1 เป็นการปรับเปลี่ยนโดยการนำเอาระบบอัตโนมัติเข้ามาช่วยผู้ปฏิบัติการให้ทำงานได้สะดวกขึ้น ซึ่งความเสี่ยงต่ำที่สุด

ระดับที่ 2 เป็นการปรับเปลี่ยนกระบวนการปฏิบัติงาน รวมถึงการปรับเปลี่ยนในเรื่องของระเบียบปฏิบัติประจำวันด้วย

ระดับที่ 3 เป็นการปรับเปลี่ยนโดยการออกแบบระบบใหม่ทั้งหมด ทำให้กระบวนการทำงานกระชับขึ้น

ระดับที่ 4 เป็นการปรับเปลี่ยนแนวคิด ทั้งกระบวนการปฏิบัติและวิธีการดำเนินธุรกิจ ไปจนถึงการเปลี่ยนประเภทธุรกิจ ซึ่งระดับนี้มีความเสี่ยงในการล้มเหลวสูงที่สุด

บรรณานุกรม

วิชุดา ไชยศิวามงคล. (2545). การวิเคราะห์และออกแบบระบบ. ครั้งที่ 4. ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิชุดา ไชยศิวามงคล. (2540). แนวคิดการพัฒนาองค์กรในยุคเทคโนโลยีสารสนเทศ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 25:44-50.

สมบูรณ์วัลย์ สัตยารักษ์วิทย์, ปรีชา วิจิตรรธรรมรส, วราภรณ์ จิรชีพพัฒนา, เกสร ชินเมธีพิทักษ์, ปัญจราศี ปุณณชัยยา, สุภา กีร์ติบุตร และวัชรีภรณ์ ไชยมงคล. (2542). การประเมินระบบสารสนเทศขององค์กรในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.

Kendall, K.E. and Kendall, J.E. (1999). Systems Analysis and Design. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall International.

Laudon, K.C. and Laudon, J.P. (2003). Management Information Systems. 8th ed. Singapore: Prentice Hall International.

Oz, E. (2002). Management Information System, 3rd ed. Canada: Thomson Learning.

Senn, J.A. (1989). Analysis and Design of Information System. 2nd ed. New Jersey: McGraw-Hill Publishing Company.

ว. วิทย. มข. 32(1) : 23-34 (2547) KKU Sci. J. 32(1) : 23-34 (2004)

โรงงานชีวภาพสำหรับผลิตกรดไขมันเพื่ออุตสาหกรรม

ปวีณา พงษ์ดนตรี[1]

นอกเหนือจากอุตสาหกรรมอาหารแล้ว กรดไขมันยังมีบทบาทที่สำคัญต่ออุตสาหกรรมสำหรับการอุปโภคหลายประเภท ทั้งนี้เพื่อทดแทนการใช้ก๊าซธรรมชาติหรือ น้ำมันปิโตรเลียมซึ่งกำลังจะหมดไปในช่วงเวลา 40-50 ปีข้างหน้า ประกอบกับความต้องการลดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ ดังนั้นเพื่อเป็นการเตรียมเทคโนโลยีสำหรับรองรับปัญหาดังกล่าว แนวคิด "โรงงานชีวภาพ (biological factory)" จึงได้เกิดขึ้นโดยให้พืชเป็นผู้ผลิตกรดไขมันมาเป็นแหล่งวัตถุดิบทดแทน บทความนี้กล่าวถึงแนวคิดโรงงานชีวภาพและการประยุกต์ใช้ความรู้เรื่องวิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันในพืชสำหรับผลิตกรดไขมันเพื่ออุตสาหกรรม

แนวคิดโรงงานชีวภาพ

แนวคิดเกี่ยวกับโรงงานชีวภาพนั้นมิใช่แนวคิดใหม่ เนื่องจากมนุษย์เราได้ทำการเพาะปลูกเพื่อนำผลิตผลมาใช้เป็นอาหารหรือเป็นวัตถุดิบสำหรับเครื่องอุปโภคมาตั้งแต่ยุคปฏิวัติเขียว (green revolution) ภูมิอากาศเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการกำหนดชนิดของพืชที่จะปลูก ปาล์มเป็นพืชน้ำมันที่ปลูกในเขตร้อนชื้น ไม่สามารถปลูกได้ในเขตหนาว ถึงแม้ว่าปาล์มเป็นพืชน้ำมันที่ให้ผลผลิตคือน้ำมันต่อพื้นที่สูงที่สุดก็ตาม ดังนั้นประเทศในเขตหนาวจึงต้องใช้พืชชนิดอื่น เช่น เรพและทานตะวัน ในการผลิตน้ำมันสำหรับการบริโภคและอุปโภค

ถึงแม้ว่าภูมิอากาศจะเป็นตัวกำหนดชนิดของพืชเศรษฐกิจ แต่ก็ไม่เหนือความพยายามของมนุษย์ในการปรับปรุงสายพันธุ์พืชให้เป็นโรงงานสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่มนุษย์ต้องการ โดยการอาศัยเทคโนโลยีที่มีอยู่ในขณะนั้น ตัวอย่างที่สำคัญได้แก่การปรับปรุงสายพันธุ์เรพซึ่งเป็นพืชน้ำมันในเขตหนาว โดยวิธีการสร้างลูกผสมแบบดั้งเดิม (conventional breeding) ให้มีกรดโอเลอิกสูง เรพสายพันธุ์เดิมนั้นเป็นพืชที่มีกรดอีรูซิกซึ่งเป็นกรดไขมันที่ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำมันหล่อลื่นมากกว่าอุตสาหกรรมอาหารอยู่สูง กรดโอเลอิกนั้นเป็นกรดไขมันที่พบมากในน้ำมันมะกอกซึ่งเป็นน้ำมันที่ใช้ประกอบอาหารของชาวตะวันออกกลางและชาวเมดิเตอเรเนียน ในขณะนั้นมีการเพาะปลูกกันมากเฉพาะในเขตเมดิเตอเรเนียน ทำให้ต้องมีการนำเข้าน้ำมันมะกอกซึ่งมีราคาสูงเป็นปริมาณมาก และเพื่อเป็นการลดการนำเข้าจึงเกิดความคิดที่จะทำให้เรพมีกรดโอเลอิกสูง จึงเกิดโครงการพัฒนาสายพันธุ์เรพโดยความร่วมมือระหว่างประเทศในเขตยุโรปและแคนาดาขึ้น ซึ่งนับเป็นโครงการที่ประสบความสำเร็จสูง สายพันธุ์เรพที่มีกรดโอเลอิกสูงนี้ได้ชื่อใหม่ว่าคาโนลา และนอกเหนือจากการทำให้มีกรดโอเลอิกสูงได้แล้ว ยังสามารถจัดการให้มีระยะเวลาในการเพาะปลูกแตกต่างจากสายพันธุ์ที่มีกรดอีรูซิกสูงด้วย ทำให้สามารถลดการปนเปื้อนระหว่างน้ำมันที่มีกรดไขมันแตกต่างกันได้ แต่ด้วยเหตุผลทางด้านราคาจึงทำให้ครั้งหนึ่งในช่วงต้นคริสต์ศักราช 1980 ประเทศ

[1] *ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40003*

อังกฤษประสบปัญหาซึ่งเกิดจากพ่อค้าที่ต้องการรวยทางลัด ด้วยการนำเอาน้ำมันจากเรพที่ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำมันหล่อลื่นที่มีราคาถูกกว่ามาขายหลังการกำจัดสารอะนิลีน (aniline) บางส่วนออกไป เพื่อนำไปใช้เป็นน้ำมันสำหรับบริโภคซึ่งมีราคาแพงกว่ามากในสมัยนั้น ทำให้มีคนเสียชีวิต 600 คน และป่วยจากการได้รับอนุพันธ์ของอะนิลีนในระดับต่างๆ กันอีก 15,000 คน

นอกจากการใช้ความรู้ทางด้านพันธุศาสตร์เพื่อการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้องการแล้ว ความรู้ที่เกิดขึ้นใหม่เมื่อมีความก้าวหน้าทางด้านชีวเคมี ทำให้เราทราบว่าวิถีการสังเคราะห์สารหลายอย่างในพืชนั้นเกิดขึ้นได้อย่างไรและมีเอนไซม์ชนิดใดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในแต่ละขั้นของวิถีนั้น ประกอบกับเทคโนโลยีด้าน ดีเอ็นเอ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การถ่ายยีน มีความก้าวหน้าอย่างรวดเร็ว และความตระหนักในการเตรียมรับภาวะการขาดแคลนวัตถุดิบสำหรับการบริโภคและอุปโภคในอนาคต จึงทำให้แนวความคิดเกี่ยวกับโรงงานชีวภาพเปลี่ยนไปเป็นการให้พืชเศรษฐกิจในแต่ละเขตที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ต่างๆ เองโดยวิธีการทางพันธุวิศวกรรม วิธีการนี้มีบทบาทต่อการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความต้านทานต่อโรคบางชนิด และได้เริ่มมีความสำคัญต่อการพัฒนาความสามารถของพืชเศรษฐกิจให้ผลิตสารที่ตรงต่อความต้องการของเรามากขึ้น เช่น แป้งในข้าวสาลี โปรตีนบางชนิดในถั่วเหลือง หรือกรดไขมันชนิดต่างๆ ในพืชน้ำมัน หลายชนิดมีการศึกษาวิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันจนเป็นที่เข้าใจกันพอสมควรแล้ว ประกอบกับปัจจุบันสามารถแยกยีนของเอนไซม์ที่สำคัญๆ ของวิถีดังกล่าวได้ออกมาเป็นส่วนใหญ่แล้ว ดังนั้นจึงได้มีความพยายามที่จะทำให้พืชเศรษฐกิจในเขตต่างๆ เป็นโรงงานชีวภาพเพื่อสังเคราะห์กรดไขมันสำหรับอุตสาหกรรมหลายประเภทขึ้นด้วยวิธีการทางพันธุวิศวกรรม ดังที่จะกล่าวถึงในรายละเอียดดังต่อไปนี้

บทบาทของกรดไขมันจากพืชต่ออุตสาหกรรม

กรดไขมันจากพืชได้มีบทบาทต่ออุตสาหกรรมอาหารมาเป็นเวลานานแล้ว และเริ่มมีการใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อการอุปโภคมากขึ้นเมื่อไม่นานมานี้ มีการนำกรดไขมันที่ได้จากมะพร้าวมาใช้ในอุตสาหกรรมสบู่และน้ำยาซักฟอกมากยิ่งขึ้น นอกจากนั้นยังได้มีการพัฒนาน้ำมันมะพร้าวให้เป็นไบโอดีเซลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์แทนน้ำมันปิโตรเลียม กรดริซิโนเลอิกที่พบในน้ำมันละหุ่งเป็นกรดไขมันที่ใช้ในอุตสาหกรรมสีย้อมและจาระบีมานานแล้วเช่นกัน และยังมีพืชอีกหลายชนิดที่ให้กรดไขมันและน้ำมันที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

เมล็ดของพืชมีกรดไขมันที่แตกต่างกันออกไปทั้งชนิดและปริมาณ น้ำมันพืชมีกรดไขมันมากกว่า 300 ชนิดทีเดียว แต่มีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่นำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมทั้งนี้เนื่องจากถูกจำกัดด้วยพื้นที่ในการเพาะปลูกและภูมิอากาศ การปลูกพืชน้ำมันเพื่อการบริโภคแตกต่างกันไปในเขตต่างๆ ของโลก ในเขตหนาวนิยมปลูกเรพ แต่ในเขตเมดิเตอเรเนียนปลูกมะกอกและทานตะวัน ส่วนเขตร้อนนิยมปลูกปาล์มเป็นต้น สำหรับพืชน้ำมันที่ปลูกเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมสบู่และน้ำยาซักฟอกนั้นในเขตร้อนนิยมใช้มะพร้าว ส่วนในเขตหนาวนิยมใช้ *Cuphea* spp. สำหรับบทบาทของกรดไขมันจากพืชต่ออุตสาหกรรมสำหรับการอุปโภคอื่นๆ เช่น กาวอีปอกซี น้ำมันชักเงา เรซิน ไนลอน เริ่มเข้ามาแทนที่การใช้ก๊าซธรรมชาติหรือน้ำมันดิบมากขึ้น แต่การปรับวิถีทางเกษตรกรรมเพื่อเพาะปลูกพืชที่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันสำหรับการบริโภคได้นั้นมิใช่เรื่องง่าย จึงทำให้มีแนวคิดในการทำให้พืชเศรษฐกิจในแต่ละเขตสามารถเป็นโรงงานผลิตกรดไขมันสำหรับอุตสาหกรรมที่หลากหลายดูเป็นเรื่องที่ง่ายกว่า

ตารางที่ 1 บทบาทของกรดไขมันจากพืชในอุตสาหกรรมต่างๆ

อุตสาหกรรม		กรดไขมัน	พืชที่พบกรดไขมัน
สำหรับการบริโภค	อาหาร	palmitic acid	ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis*)
		stearic acid	โกโก้ (*Theobroma cacoa*)
		oleic acid	มะกอก (*Olea europaea* L.)
			คาโนลา (*Brassica napus*)
		linoleic acid	ทานตะวัน (*Helianthus annuus*)
			ข้าวโพด (*Zea may*)
		linolenic acid	ลินซีด (*Linum usitatissimum*)
			ถั่วเหลือง (*Glycine max*)
	อาหารเสริม	γ-linoleic acid	evening primrose (*Oenothera biennis*)
			borage (*Borago officinalis* L.)
สำหรับการอุปโภค	เครื่องสำอาง	stearic acid	โกโก้ (*Theobroma cacoa*)
	น้ำมันเชื้อเพลิง น้ำยาซักฟอก สบู่	octanoic acid	*Cuphea hookerina*
		capric acid	*Cuphea paucipetala*
			California bay (*Umbellularia californica*)
		lauric acid and	nutmeg (*Myristica fragans*) และ
		myristic acid	มะพร้าว (*Cocos nucifera*)
	พลาสติก ไนลอน เรซิน	petroselinic acid	ผักชี (*Coriandrum sativum* L.)
			แครอท (*Duacus carota* L.)
		calendic acid	*Calendula officinalis*
	สี น้ำมันชักเงา linoleum	linoleic acid	ทานตะวัน (*Helianthus annuus*)
			ข้าวโพด (*Zea may*)
		α-linolenic acid	ลินซีด (*Linum usitatissimum*)
	Epoxy resin	vernolic acid	*Vernonia anthelmintica*
	น้ำหอม น้ำมันหล่อลื่น ไนลอน	calendic acid	*Calendula officinalis*
	สีย้อม จาระบี	ricinoleic acid	ละหุ่ง (*Ricinus communis*)
	น้ำยาเคลือบ (enamel) น้ำมันชักเงา	α-eleostearic acid	tung (*Aleurites fordii*)
	สี น้ำหมึก น้ำยาเคลือบ	α-licanic acid	octicica (*Ligcania rigida*)
	น้ำมันหล่อลื่น	eicosenoic acid	meadowfoam (*Limnanthes douglasii*)
	น้ำมันหล่อลื่น น้ำหอม ไนลอน	erucic acid	มัสทาร์ด (*Brassica juncea*)
			เรพ (*Brassica napus*)
	น้ำมันหล่อลื่น	nervonic acid	honesty (*Lunaria annua*)

ที่มา : Murphy (1994) และ Hills (2001)

กรดไขมันคืออะไร

กรดไขมันเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) บริเวณสายไฮโดรคาร์บอนนั้นเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าหมู่เอซิล (acyl group) ที่นับความยาวตามจำนวนคาร์บอนซึ่งมักพบว่าเป็นเลขคู่ (ตารางที่ 2) ในเมล็ดพืชพบว่ามีความยาวได้ตั้งแต่ 8 - 24 คาร์บอนอะตอม และอาจพบพันธะคู่ในบริเวณหมู่เอซิล กรดไขมันชนิดต่างๆ ถูกเก็บสะสมไว้ในรูปของไตรกลีเซอไรด์โดยการนำไปเชื่อมกับกลีเซอรอล สัญลักษณ์ของกรดไขมันชนิดต่างๆ เขียนได้โดยแสดงความยาวคาร์บอนและจำนวนพันธะคู่ที่นับจากหมู่คาร์บอกซิล เช่น $18:1\Delta^9$ เป็นสัญลักษณ์ของกรดโอเลอิกที่มีความยาวคาร์บอน 18 อะตอมมีจำนวนพันธะคู่ 1 พันธะนับจากหมู่คาร์บอกซิลเข้ามาเป็นตำแหน่งที่ 9 กรดไขมันเหล่านี้ไม่สามารถอยู่เป็นอิสระได้ในเซลล์เนื่องจากมีสมบัติเป็นตัวทำลายเมมเบรน ดังนั้นเซลล์จึงต้องมีวิธีในการป้องกันตนเองโดยการนำกรดไขมันไปเก็บไว้ในรูปของไตรกลีเซอไรด์หรือเรียกให้ถูกต้องตามโครงสร้างคือไตรเอซิลกลีเซอรอล เป็นการนำกรดไขมันไปเชื่อมไว้กับกลีเซอรอลซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำ (รูปที่ 1) เมื่อไตรเอซิลกลีเซอรอลหลายโมเลกุลมารวมตัวกันทำให้สามารถเกิดเป็นเม็ดน้ำมัน (oil droplet) ขึ้นในเมล็ดของพืช มีสถานะเป็นของเหลวที่เรียกว่าน้ำมันขึ้นเมื่อหมู่เอซิลมีพันธะคู่เป็นองค์ประกอบอยู่ หรือเป็นไขมันที่มีสถานะเป็นของแข็งเมื่อไม่มีพันธะคู่เป็นองค์ประกอบ จุดประสงค์หลักในการสังเคราะห์กรดไขมันของพืชเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานให้แก่ต้นอ่อนก่อนมีใบแท้เพื่อการดำรงเผ่าพันธุ์เท่านั้น พืชหลายชนิดมีวิธีการป้องกันตนเองโดยการสังเคราะห์กรดไขมันที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตอื่นเก็บไว้ในเมล็ด เช่น กรดริซิโนเลอิกที่พบในเมล็ดละหุ่ง หรือ กรดเนอโวนิกที่พบในเมล็ด honesty (*Lunaria annua*) เป็นต้น แต่ขณะเดียวกันก็มีพืชหลายชนิดที่สะสมกรดไขมันที่ไม่เป็นพิษหากแต่เป็นกรดไขมันจำเป็นซึ่งสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ไว้ในเมล็ดด้วย เช่น กรดลิโนเลนิกในเมล็ดถั่วเหลืองและทานตะวัน และกรดลิโนเลอิกในเมล็ดงาเป็นต้น อย่างไรก็ตามมนุษย์เราสามารถนำน้ำมันจากพืชมาใช้ก่อนได้ และในขณะเดียวกันยังให้ความสำคัญในการรักษาพันธุ์พืชเหล่านั้นเพื่อไว้ใช้ประโยชน์ในวันข้างหน้าอีกด้วย

การสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันในพืช

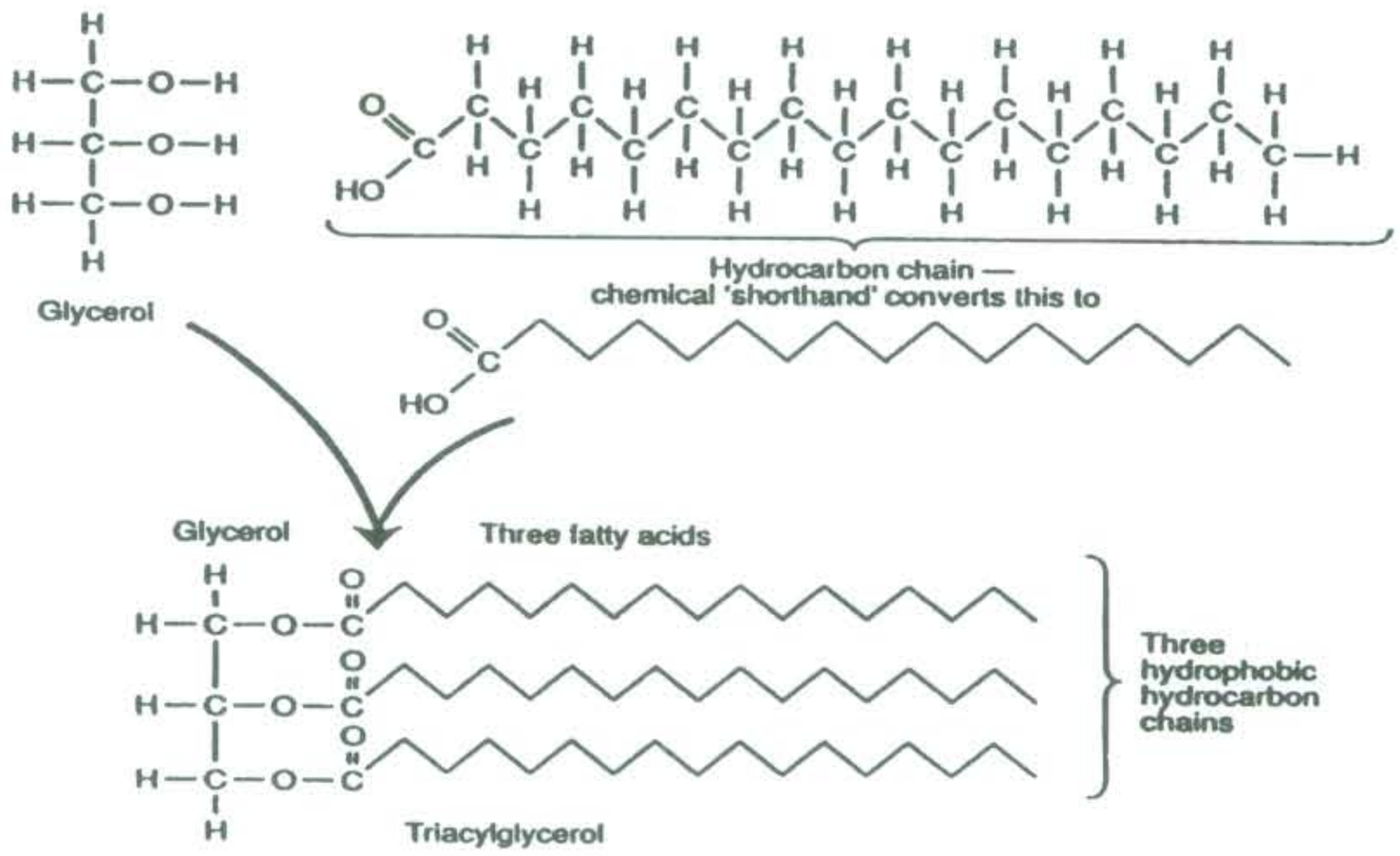
นอกเหนือจากการวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันในเมล็ดพืชชนิดต่างๆ แล้ว การศึกษาวิถีการสังเคราะห์ของกรดไขมันเหล่านั้นและการสะสมในรูปน้ำมันเป็นเรื่องที่ได้รับความสนใจอย่างมากจากนักชีวเคมีกลุ่มหนึ่ง

ในช่วงเวลากว่า 20 ปีที่ผ่านมา นักวิทยาศาสตร์ในยุโรปและอเมริกาได้ศึกษาวิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันในละหุ่ง ดอกคำฝอย ถั่วเหลือง และเรพ ซึ่งเป็นพืชที่วัฏจักรชีวิตสั้นและมีชนิดของกรดไขมันในน้ำมันที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถสรุปได้ว่าวิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันของพืชเกิดขึ้นที่บริเวณต่างๆภายในเซลล์ โดยการสังเคราะห์กรดไขมันเกิดขึ้นก่อนในพลาสทิด และส่งออกมาสู่ไซโทซอลในรูปของกรดไขมันที่ถูกกระตุ้น (activated fatty acid, fatty acyl-CoA) ก่อนที่จะนำไปเก็บสะสมในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่เอนโดพลาสมิกเรติคิวลัม (endoplasmic reticulum, ER) และรวมตัวกันเป็นเม็ดน้ำมันในไซโทพลาซึมต่อไป โดยมีเอนไซม์ที่จำเพาะต่อปฏิกิริยาในแต่ละขั้นตอนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และพบเอนไซม์เหล่านั้นเฉพาะในคัพภะที่กำลังเจริญไปเป็นเมล็ดเท่านั้น ไม่พบในส่วนของใบ รากหรือลำต้นที่ไม่มีการสะสมน้ำมัน ชนิดของกรดไขมันที่แตกต่างกันในเมล็ดพืชแต่ละชนิดเกิดจากอิทธิพลของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันของพืชที่แสดงไว้ในรูปที่ 2 ช่วยให้เข้าใจขั้นตอนในการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันของพืชซึ่งสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้

ตารางที่ 2 ตัวอย่างกรดไขมันที่พบมากในธรรมชาติ

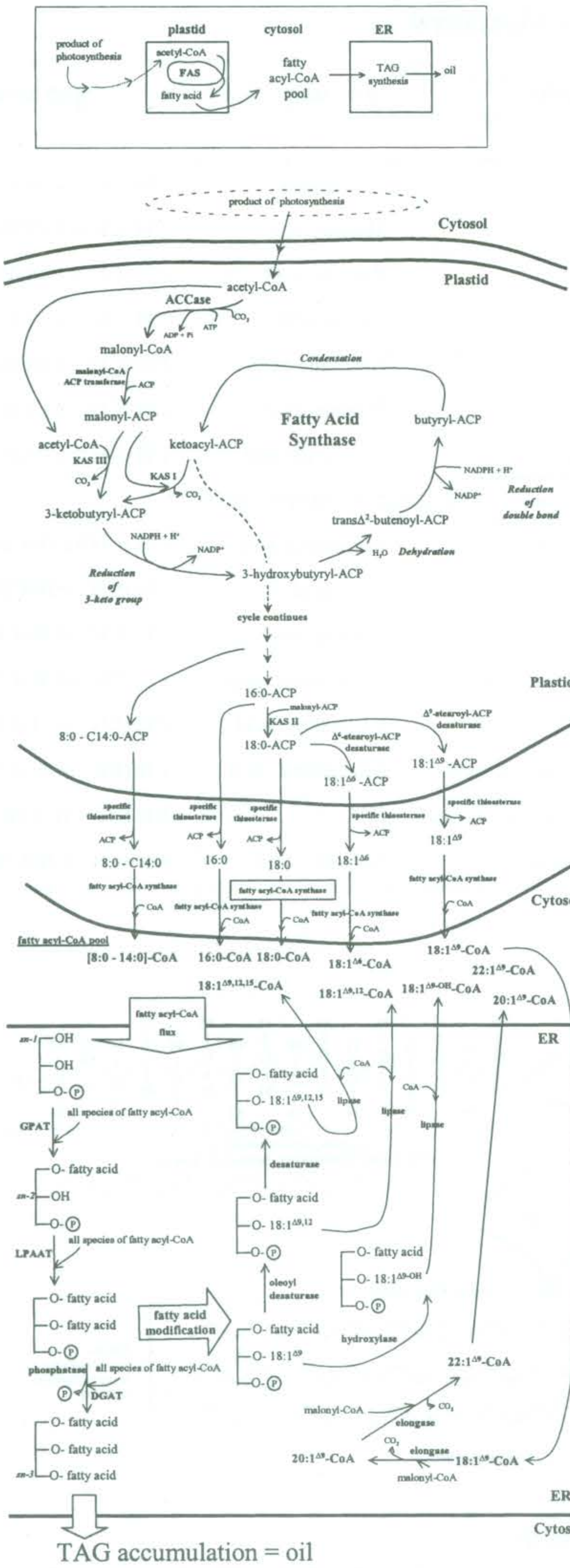
สัญลักษณ์	ชื่อตามระบบ	ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acids)			
12:0	Dodecanoic acid	Lauric acid	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$
14:0	Tetradecanoic acid	Myristic acid	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$
16:0	Hexadecanoic acid	Palmitic acid	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$
18:0	Octadecanoic acid	Stearic acid	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$
20:0	Eicosanoic acid	Arachidic acid	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$
22:0	Docosanoic acid	Behenic acid	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$
24:0	Tetracosanoic acid	Lignoceric acid	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$
กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acids) ทุกตัวมีพันธะคู่เป็นแบบ *cis*			
$16:1\Delta^9$	9-Hexadecenoic acid	Palmitoleic acid	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7OOH$
$18:1\Delta^9$	9-Octadecenoic acid	Oleic acid	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$
$18:2\Delta^{9,12}$	9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid	$CH_3(CH_2)_4(CH=CHCH_2)_2(CH_2)_6COOH$
$18:3\Delta^{9,12,15}$	9,12,15-Octadecatrienoic acid	α-Linolenic acid	$CH_3(CH_2)_4(CH=CHCH_2)_3(CH_2)_6COOH$
$18:3\Delta^{6,9,12}$	6,9,12-Octadecatrienoic acid	γ-Linolenic acid	$CH_3(CH_2)_4(CH=CHCH_2)_3(CH_2)_3COOH$
$20:4\Delta^{5,8,11,14}$	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	Arachidonic acid	$CH_3(CH_2)_4(CH=CHCH_2)_4(CH_2)_2COOH$
$20:5\Delta^{5,8,11,14,17}$	5,8,11,14,17-Eicosatetraenoic acid	EPA	$CH_3CH_2(CH=CHCH_2)_5(CH_2)_2COOH$
$24:1\Delta^{15}$	15-Tetracosenoic acid	Nervonic acid	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{13}COOH$

ที่มา : Voet and Voet (1992)



รูปที่ 1 การเกิดไตรกลีเซอไรด์

กรดไขมัน 3 โมเลกุลถูกนำมาเชื่อมต่อกับ กลีเซอรอลด้วยพันธะเอสเทอร์ เมื่อไตรกลีเซอไรด์หลายโมเลกุลมารวมตัวกันจะได้น้ำมันหรือไขมันขึ้น (Murphy, 1994)



รูปที่ 2 วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันของพืช

(ดูคำอธิบายหน้าถัดไป)

คำอธิบายรูปที่ 2 วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันของพืช

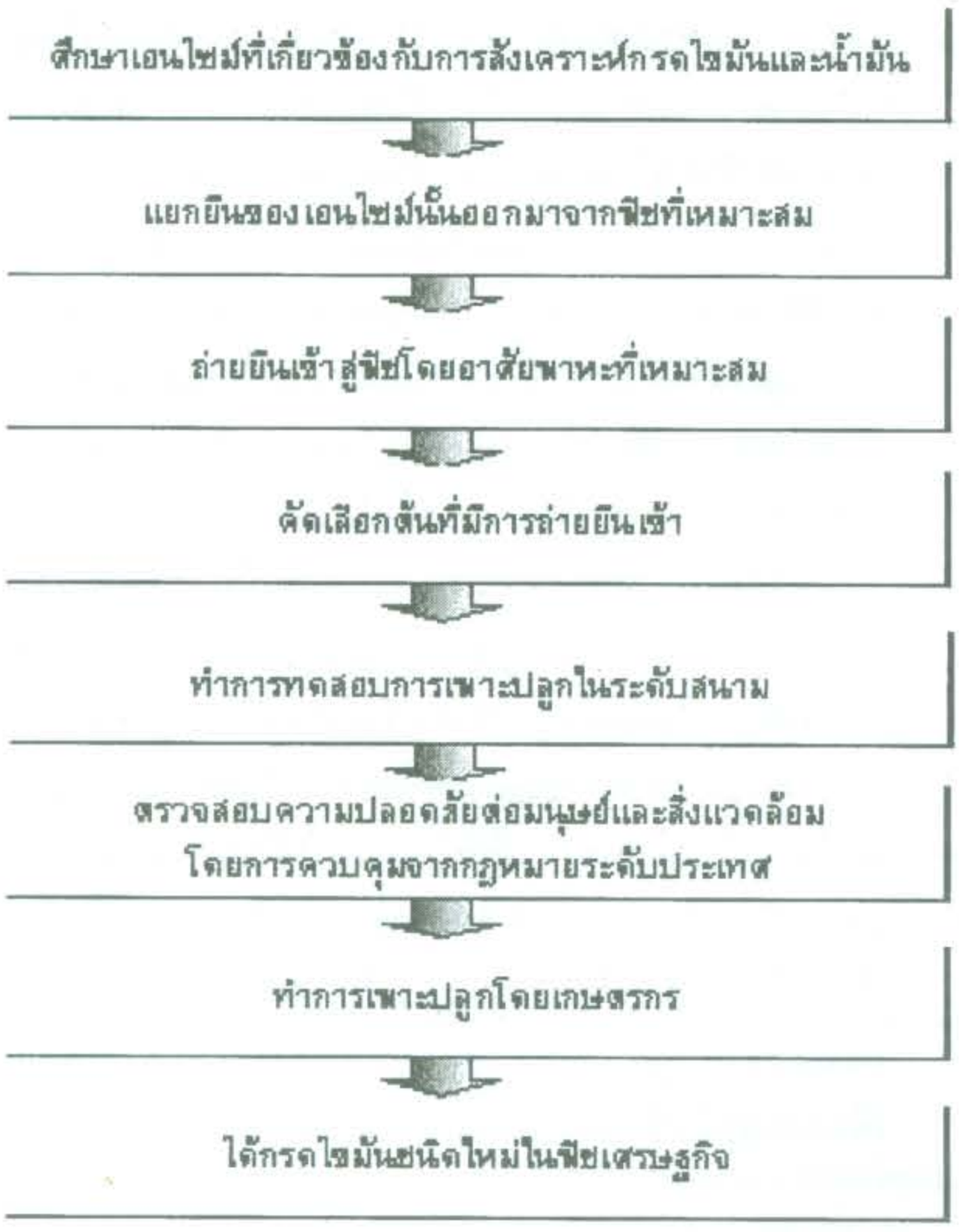
การสังเคราะห์กรดไขมันในพลาสทิด เริ่มจาก acetyl-CoA ที่ได้จากกระบวนการสลายผลิตภัณฑ์จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง กรดไขมันความยาวขนาดไม่เกิน 18 คาร์บอนอะตอมถูกสังเคราะห์ขึ้นในพลาสทิดและถูกส่งออกมายังไซโทซอล ในรูปของ Fatty-acyl CoA ก่อนนำไปเก็บในรูปของไตรกลีเซอไรด์ (TAG) ที่ ER และรวมตัวกันเป็นน้ำมัน (oil) ในไซโทซอล

กลไกการสังเคราะห์กรดไขมันนั้นเป็นการทำให้จำนวนคาร์บอนในหมู่เยซิลยาวขึ้นครั้งละ 2 อะตอม โดยได้มาจากหมู่ malonyl และมีโปรตีนชนิดหนึ่งคือ acyl carrier protein (ACP) เป็นผู้ช่วยที่สำคัญ มีรายละเอียดดังนี้ คือ มี acetyl-CoA carboxylase (ACCase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หลังจากนั้นหมู่ malonyl จะถูกย้ายไปยัง ACP ได้เป็น malonyl-ACP ก่อนที่จะนำไปใช้ในกระบวนการเติมคาร์บอนครั้งละ 2 อะตอมลงบนหมู่เอซิลของกรดไขมัน ซึ่งเริ่มต้นจากหมู่ acetyl-CoA ก่อนได้เป็น 3-ketobutyryl-ACP ที่มีหมู่คีโตอยู่ 2 หมู่ซึ่งง่ายต่อการถูกรีดิวซ์ด้วย $NADPH+H^+$ (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) ได้เป็น 3-hydroxybutyryl-ACP เมื่อดึงน้ำออก 1 โมเลกุลจะเกิดโครงสร้างแบบอีโนอิลที่มีพันธะคู่แบบ trans คือ transΔ^2-butenoyl-ACP ซึ่งจะง่ายต่อการถูกรีดิวซ์อีกครั้งหนึ่งด้วย $NADPH+H^+$ ได้เป็น butyryl-ACP ที่มีหมู่เอซิลเป็นไฮโดรคาร์บอนซึ่งมีจำนวนคาร์บอน 4 อะตอม และไม่มีพันธะคู่ ซึ่งพร้อมที่จะถูกเติมคาร์บอนเพิ่มขึ้นอีก 2 อะตอมจากหมู่ malonyl อีกหลายรอบ กลไกการสังเคราะห์กรดไขมันนี้มีกลุ่มเอนไซม์ที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยา ชื่อว่า fatty acid synthase (FAS) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาตามลำดับ คือ ketoacyl-ACP synthase (KAS), ketoacyl-ACP reductase, hydroxyacyl-ACP dehydrase และ enoyl-ACP reductase

การเพิ่มความยาวของหมู่เอซิลของพลาสทิดในพืชแต่ละชนิดนั้นสิ้นสุดลงตามความจำเพาะของเอนไซม์ specific thioesterase ที่อยู่บนเมมเบรนด้านในของพลาสทิด (inner envelope membrane) ที่ใช้ในการตัดหมู่เอซิลออกจาก ACP และทำให้อยู่ในรูปที่ได้รับการกระตุ้น โดยการเติมหมู่ CoA ด้วยเอนไซม์ fatty acyl-CoA synthetase ที่พบอยู่บนเมมเบรนด้านนอกของพลาสทิด (outer envelope membrane) ก่อนการส่งออกมาที่ไซโทซอล เกิดเป็น fatty acytyl-CoA pool ขึ้นเพื่อรอการนำไปสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์หรือไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol, TAG) ต่อที่ ER โดยมีเอนไซม์ทำงานตามลำดับดังนี้คือ glycerol-3-phosphate acyl transferase (GPAT)ที่สามารถนำกรดไขมันหลายชนิดจาก fatty acyl-CoA pool เข้าไปเชื่อมกับบริเวณ *sn*-1 ของ glycerol-3-phosphate (G-3-P) ได้เป็น lysophosphateidic acid ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการนำกรดไขมันตัวที่สองมาเชื่อมที่ตำแหน่ง *sn*-2 โดยอาศัยเอนไซม์ lysophosphatidic acid acyltransferase (LPAAT) ได้เป็น phosphatidic acid หมู่ฟอสเฟตจะถูกกำจัดออกไปโดยอาศัยเอนไซม์ phosphatase ได้เป็น diacylglycerol เอนไซม์ diacylgylcerol acyltransferase (DGAT) จะทำหน้าที่เติมกรดไขมันลงในตำแหน่ง *sn*-3 ได้เป็น TAG ซึ่งรวมตัวกันเกิดเป็นน้ำมันสะสมอยู่ในเมล็ด

พืชมีปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น ใน *Cuphea* spp. หรือมะพร้าวมีกรดไขมันที่มีความยาวประมาณ 8-12 และ 14 คาร์บอนอะตอมตามลำดับสะสมอยู่ในน้ำมันเป็นปริมาณมาก แต่อย่างไรก็ตามพืชส่วนใหญ่มีกรดไขมันที่มีความยาวคาร์บอน 16-18 อะตอม กรดโอเลอิก (18:1Δ^9) เป็นกรดไขมันที่มีความยาวคาร์บอน 18 อะตอมที่ถูกเติมพันธะคู่ 1 พันธะโดยอาศัยเอนไซม์ Δ^9-stearoyl-ACP desaturase ในพลาสทิด เป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญในการเป็นสารตั้งต้นของการดัดแปลงกรดไขมัน (fatty acid modification) ให้มีพันธะคู่และมีความยาวคาร์บอนของกรดไขมันเพิ่มขึ้น หรือแม้แต่การเติมหมู่ฟังก์ชั่นอื่น ๆ ที่ ER เมื่อต้องการให้มีพันธะคู่เพิ่มขึ้นหรือเพิ่มหมู่ฟังก์ชัน เช่น หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ลงบนกรดโอเลอิก เอนไซม์ desaturase และ hydroxylase จะทำหน้าที่ตามลำดับ โดยกรดโอเลอิกที่เป็นสารตั้งต้นจะต้องอยู่บนตำแหน่ง *sn*-2 ของlysophosphatidic acid กรดไขมันที่ถูกเติมพันธะคู่และหมู่ฟังก์ชันแล้วจะถูกตัดออกโดยเอนไซม์ specific lipase และกลับออกไปอยู่รวมกับ fatty acyl-CoA pool อีกครั้ง เพื่อนำกลับมาใช้ในการสังเคราะห์ TAG อีก สำหรับการทำให้ความยาวคาร์บอนเพิ่มขึ้นนั้นเป็นหน้าที่ของเอนไซม์ elongase ใน ER ซึ่งนำคาร์บอน 2 อะตอมจาก malonyl-CoA มาเติมลงบนกรดโอเลอิกเพื่อส่งกลับไปที่ fatty acyl-CoA ต่อไป

ถึงแม้วิธีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันของพืชหลายชนิดมีความคล้ายคลึงกัน คือเกิดขึ้นที่บริเวณต่างๆ ภายในเซลล์ แต่พบว่าเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันนั้นมีความจำเพาะที่แตกต่างกันออกไป ความพยายามในการหาวิธีแยกเอนไซม์และยีนของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องนั้นได้ประสบความสำเร็จเมื่อไม่นานมานี้ เนื่องจากเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมันบางตัวและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำมันเป็นเอนไซม์ที่อยู่บนเมมเบรนของพลาสทิดและ ER เมื่อทำการแยกออกมาแล้วไม่สามารถรักษาโครงสร้างเดิมของเอนไซม์ที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาได้ แต่อย่างไรก็ตามความก้าวหน้าของเทคโนโลยีทางด้านดีเอ็นเอได้ช่วยให้การแยกยีนของการสังเคราะห์น้ำมันในพืชดำเนินไปได้เร็วขึ้น และสามารถนำไปใช้ในการทดสอบหน้าที่ของเอนไซม์ในพืชชนิดต่างๆ ได้ด้วยเทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรมของพืช พืชบางชนิดได้ถูกพัฒนาให้เป็นโรงงานสังเคราะห์น้ำมันซึ่งมีกรดไขมันที่ต้องการในระดับที่น่าพอใจแล้วด้วยวิธีการทางด้านพันธุวิศวกรรมร่วมกับวิธีการคัดเลือกสายพันธุ์ลูกผสมแบบดั้งเดิม เพื่อเพิ่มหรือลดบทบาทของเอนไซม์ที่สำคัญต่อการสังเคราะห์กรดไขมันชนิดใหม่ที่ต้องการ ปัจจุบันพืชบางชนิด เช่น เรพและถั่วเหลืองได้รับการพัฒนาในระดับที่นำไปใช้เพาะปลูกได้แล้วหลังผ่านขั้นตอนในการประเมินความเสี่ยงภายใต้กฎหมายของแต่ละประเทศ อย่างไรก็ตามต้นทุนการผลิตยังไม่สามารถดึงดูดให้เกษตรกรทำการเพาะปลูกในพื้นที่ขนาดใหญ่ได้ การประยุกต์ใช้วิธีการทางพันธุวิศวกรรมเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ได้แสดงไว้ในรูปที่ 2 ถึงแม้การประยุกต์วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและน้ำมันของพืชหลายชนิดกับแนวคิดโรงงานชีวภาพนี้ได้รับความสนใจและประสบความสำเร็จบ้างแล้ว หากแต่ปัจจุบันงานส่วนใหญ่ยังอยู่ในขั้นวิจัยและพัฒนา ยังไม่สามารถนำไปใช้ได้จริง ดังที่จะกล่าวถึงเป็นบางตัวอย่างดังต่อไปนี้



รูปที่ 3 ขั้นตอนการประยุกต์ใช้วิธีการทางพันธุวิศวกรรมเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ในแต่ละเขต ซึ่งใช้เวลาประมาณ 5-10 ปี

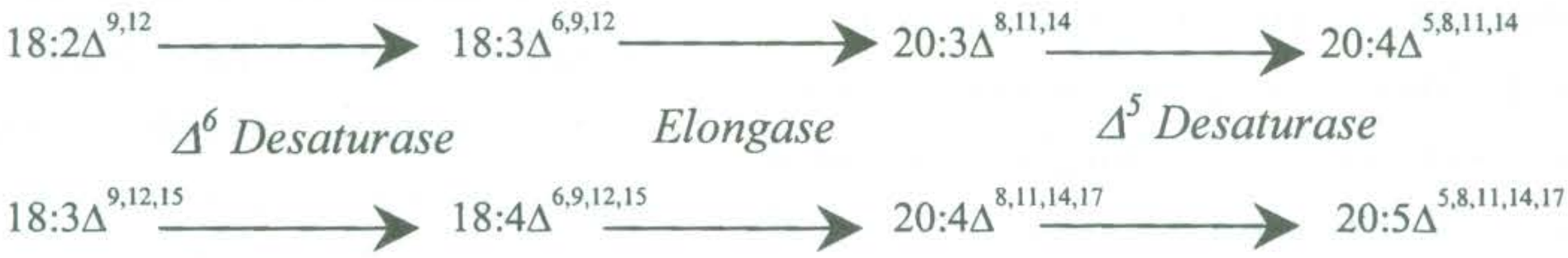
อุตสาหกรรมอาหารและอาหารเสริม

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่สะสมกรดลิโนเลนิก ($18:3\Delta^{9,12,15}$) ในปริมาณที่สูง กรดไขมันชนิดนี้มีพันธะคู่ในหมู่เอซิล 3 พันธะ ซึ่งง่ายต่อการถูกออกซิไดซ์ เมื่อต้องการใช้กรดไขมันที่มีจำนวนพันธะคู่เพียง 1 พันธะคือกรดโอเลอิก ($18:1\Delta^{9}$) ต้องใช้วิธีการทางเคมีโดยใช้ปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชัน ซึ่งมักได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่พึงประสงค์ คือ trans-unsaturates ซึ่งเป็นสารที่พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเส้นเลือดหัวใจตีบ บริษัทดูปองต์ประเทศสหรัฐอเมริกาได้ใช้วิธีการทางชีวภาพเพื่อลดบทบาทของเอนไซม์ที่ใช้ในการเติมพันธะคู่ลงบนกรดโอเลอิก (oleate desaturase) ในถั่วเหลือง เพื่อให้มีกรดโอเลอิกสะสมอยู่เป็นปริมาณมาก สายพันธุ์ถั่วเหลืองที่พัฒนาขึ้นนั้นสามารถเพิ่มกรดโอเลอิกจากเดิม 22 เป็น 85 เปอร์เซ็นต์ และพบ *trans*-unsaturates เป็นปริมาณน้อยมาก แต่อย่างไรก็ตามสายพันธุ์ที่พัฒนาขึ้นนี้ยังไม่ประสบความสำเร็จในเชิงการค้าเนื่องจากยังมีต้นทุนสูงอยู่

นอกจากนั้น ความนิยมในการรับประทานช็อกโกแลตที่ทำจากโกโก้บัตเตอร์ของเมล็ดโกโก้ ที่มีการสะสมกรดสเตียริกในเมล็ดสูงถึง 34 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีความสนใจในการพัฒนาสายพันธุ์คาโนลาให้มีการสะสมกรดสเตียริกหรือกรดโอเลอิกที่ไม่มีพันธะคู่ขึ้น โดยการลดบทบาทของเอนไซม์ที่ใช้ในการเติมพันธะคู่ลงบนกรดสเตียริกในขณะที่ยังอยู่กับ ACP (stearate-ACP desaturase) ถึงแม้ว่าสามารถเพิ่มปริมาณกรดสเตียริกได้ถึง 40 เปอร์เซนต์ แต่พบว่าเมล็ดมีปัญหาในการงอกและไม่สามารถพัฒนาเป็นสายพันธุ์ที่ต้องการได้ ปัญหาดังกล่าวได้รับการแก้ไขโดยการตัดกรดสเตียริกออกมาจาก ACP ก่อน ด้วยการเพิ่มบทบาทของเอนไซม์ stearate-ACP desaturase ทำให้ได้กรดสเตียริกสะสมเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้บริษัทไพโอเนียร์ในสหรัฐอเมริกายังทำให้ทานตะวันที่ปกติมีการสะสมกรดลิโนเลนิกสูงถึง 68 เปอร์เซ็นต์ เปลี่ยนมาสะสมกรดสเตียริกได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ (เดิมมีเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น) ด้วยวิธีลดบทบาทของเอนไซม์ที่ใช้ในการเติมพันธะคู่ลงบนกรดสเตียริกในขณะที่ยังอยู่กับ ACP (stearate-ACP desaturase) โดยไม่พบปัญหาเรื่องการงอกของเมล็ด อย่างไรก็ตามการบริโภคกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่เป็นปริมาณมากสามารถทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์กรดแกมมาลิโนเลนิก ต้องใช้กรดไขมันจำเป็นคือกรดลิโนเลอิกและกรดลิโนเลนิกที่มีพันธะคู่ 1 และ 2 พันธะตามลำดับเป็นสารตั้งต้น กรดแกมมาลิโนเลนิกนี้มีความสำคัญคือเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดินซึ่งเป็นสารที่ช่วยรักษาสมดุลของฮอร์โมนภายในร่างกาย ดังนั้นจึงเกิดแนวคิดในการใช้โรงงานชีวภาพเป็นตัวผลิตกรดแกมมาลิโนเลนิกขึ้นเพื่อเป็นอาหารเสริม ปัจจุบันน้ำมัน evening primrose และ borage เป็นแหล่งของกรดแกมมาลิโนเลนิกที่สำคัญ การเพิ่มบทบาทของเอนไซม์ที่ใช้ในการเติมพันธะคู่ลงบนกรดลิโนเลนิกอีกหนึ่งพันธะ คือ Δ^{6}-desaturase ที่ได้จาก evening primrose ในคาโนลาพบว่ามีการสะสมกรดแกมมาลิโนเลนิกในน้ำมันได้ 40 เปอร์เซ็นต์

กรดไขมันสองชนิดที่พบมากในปลาและมีความเกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของพรอสตาแกลนดิน คือ eicosapentaenoic acid (20:5) และ arachidonic acid (20:4) และปัจจุบันเริ่มมีความเชื่อว่าการบริโภคกรดไขมันจากปลาช่วยป้องกันและลดภาวะความซึมเศร้า ทำให้ได้รับความสนใจที่จะทำให้มีการสังเคราะห์กรดไขมันดังกล่าวในพืช แต่เนื่องจากไม่พบว่ามีกรดไขมันจากพืชชนิดใดที่มีพันธะคู่เกิน 3 พันธะ ดังนั้นเพื่อให้พืชสามารถสังเคราะห์กรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่า 3 พันธะ จึงมีแนวคิดที่จะเพิ่มบทบาทของเอนไซม์ที่ใช้ในการเติมพันธะคู่ลงในกรดไขมันอีกสองพันธะ คือ Δ^{5}- และ Δ^{6}-desaturase (รูปที่ 3) ที่มาจากหนอนและมนุษย์ตามลำดับ และเนื่องจากการเพิ่มความยาวของกรดไขมันในพืชนั้นมีข้อจำกัดคือสามารถทำได้เมื่อมีสารตั้งต้นเป็นกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่หรือมีพันธะคู่ได้เพียงพันธะเดียว จึงมีแนวคิดในการให้เอนไซม์จากสัตว์ที่สามารถเพิ่ม

ความยาวของกรดไขมันเมื่อมีสารตั้งต้นเป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 พันธะเข้าไปมีบทบาทในพืช การทดสอบแนวคิดนี้ได้เริ่มในยีสต์ก่อน และเมื่อใช้กรดลิโนเลนิก ($18:1\Delta^{9,12,15}$) เป็นสารตั้งต้นพบว่ามีการสะสม eicosapentaenoic acid (20:5) และ arachidonic acid (20:4) เกิดขึ้นในปริมาณที่น่าพอใจ ขณะนี้กำลังพัฒนาให้มีการสังเคราะห์ในพืชเป็นลำดับถัดไป



รูปที่ 3 การสังเคราะห์ eicosapentaenoic acid (20:5) และ arachidonic acid (20:4) จากกรดลิโนเลอิก ($18:2\Delta^{9,12}$) และกรดลิโนเลอิก ($18:3\Delta^{9,12,15}$) โดยเอนไซม์ Δ^6 desaturase และ Δ^5 desaturase
ที่มา : Hills (2001)

อุตสาหกรรมอื่น ๆ

แนวคิดในการใช้โรงงานชีวภาพผลิตน้ำมันที่มีกรดไขมันเพื่อใช้เป็นแหล่งไฮโดรคาร์บอนสำหรับอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น การใช้เป็นเชื้อเพลิง น้ำมันหล่อลื่น หรือเครื่องอุปโภคอื่นๆ นั้น คาดว่าจะมีความเป็นไปได้สูง ซึ่งจะขอกล่าวถึงเป็นบางตัวอย่าง โดยแบ่งกลุ่มตามความยาวของกรดไขมัน ดังนี้

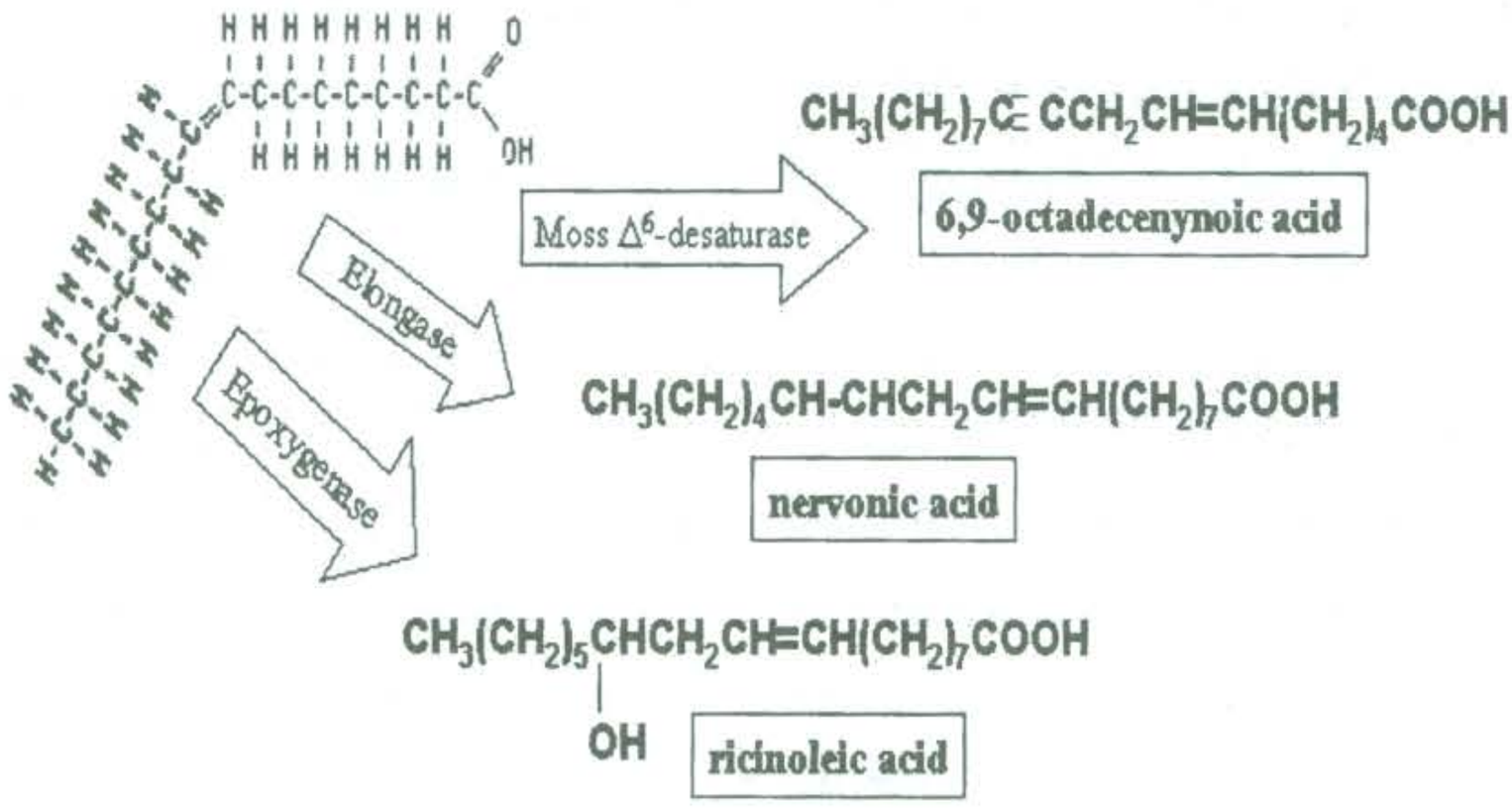
1. กลุ่มกรดไขมันที่มีความยาว 8-14 คาร์บอน อะตอม

กรดลอริก (12:0) เป็นกรดไขมันชนิดแรกที่ทำให้มีการสังเคราะห์ขึ้นในคาโนลาโดยอาศัยแนวคิดโรงงานชีวภาพ หลังจากที่สามารถแยกยีน lauryl-ACP thioesterase จากต้น California bay ที่ทำหน้าที่จำเพาะในการตัดหมู่เอซิลที่มีความยาวคาร์บอน 12 อะตอมออกจาก ACP ได้ เมื่อทำการถ่ายยีนดังกล่าวเข้าไปในคาโนลา และทานตะวัน พบว่าสามารถทำให้มีการสะสมกรดลอริกได้ 25 เปอร์เซ็นต์ ในปัจจุบันกำลังได้รับการพัฒนาสายพันธุ์ให้มีกรดลอริกเพิ่มขึ้นด้วยวิธีการคัดเลือกสายพันธุ์ลูกผสม ปัญหาที่พบคือกรดไขมันดังกล่าวไม่สามารถนำไปเชื่อมกับมอนอเอซิลกลีเซอรอลได้ เนื่องจากไม่มีเอนไซม์ LPAAT ที่จำเพาะต่อกรดไขมันที่มีความยาวคาร์บอน 12 อะตอมในคาโนลา ดังนั้นอีกวิธีหนึ่งที่ทำให้มีการสะสมกรดลอริกในน้ำมันคาโนลาเพิ่มขึ้นคือการเพิ่มบทบาทของเอนไซม์ที่มีความจำเพาะดังกล่าวที่แยกได้จากมะพร้าว (coconut LPAAT) เข้าไปในคาโนลา พบว่ามีการสะสมกรดลอริกในน้ำมันเพิ่มขึ้นเป็น 67 เปอร์เซ็นต์ นอกจากกรดลอริกแล้วยังมีความพยายามในการให้คาโนลาสังเคราะห์กรดไขมันที่มีความยาวคาร์บอน 8 และ 10 อะตอม โดยอาศัยวิธีการแบบเดียวกัน คือ การถ่ายยีนของเอนไซม์ที่จำเพาะต่อการตัดกรดไขมันที่มีความยาวคาร์บอนขนาด 8 และ 10 อะตอม (specific thioesterase) ที่แยกได้จากต้น *Cuphea* spp. เข้าไปในคาโนลา อย่างไรก็ตามคาโนลามักมีปัญหาในการนำกรดไขมันที่ไม่ใช่กรดโอเลอิกเข้าไปเชื่อมกับกลีเซอรอลในตำแหน่ง *sn*-2 เสมอ แม้แต่ในเรพสายพันธุ์ที่สะสมกรดอีรูซิกก็มีข้อจำกัดของการสะสมกรดอีรูซิกในกลีเซอรอลตำแหน่งนี้เช่นเดียวกัน และจำเป็นต้องมีการศึกษาข้อจำกัดนี้ต่อไปถ้าต้องการใช้คาโนลาหรือเรพสะสมกรดไขมันชนิดอื่นๆ

2. กลุ่มกรดไขมันที่มีความยาว 16-18 คาร์บอน อะตอม

อนุพันธ์ของกรดโอเลอิก ได้แก่ ricinoleic acid ที่มีหมู่ไฮดรอกซีเพิ่มขึ้น vernolic acid ที่มีหมู่อีปอกซีเพิ่มขึ้น และ acetylenic fatty acid ที่มีพันธะ

สามเพิ่มขึ้น อนุพันธ์ของกรดโอเลอิกเหล่านี้เกิดจากการใช้เอนไซม์ที่จำเพาะซึ่งได้แก่ hydroxylase, epoxygenase และ Δ^6-desaturase เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนกรดโอเลอิกให้เป็นอนุพันธุ์ต่างๆ ในเบื้องต้นนั้นได้ทำการทดสอบในพืชตัวอย่างคือ *Arabidopsis* ก่อนแต่ยังพบว่าปริมาณอนุพันธ์ของกรดโอเลอิกเหล่านั้นต่ำอยู่ คาดว่ายังต้องทำความเข้าใจถึงวิถีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของกรดโอเลอิกในพืชที่สังเคราะห์กรดไขมันดังกล่าวให้มากขึ้น เช่น ละหุ่ง *Vernonia anthelmintica* และมอส เป็นต้น เพื่อให้สามารถนำมาใช้ในการแก้ปัญหาการสะสมอนุพันธ์ของกรดโอเลอิกในน้ำมันพืชชนิดอื่นต่อไป พืชที่มีศักยภาพเพียงพอต่อการใช้เป็นโรงงานชีวภาพเพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ของกรดโอเลอิกนั้น คาดว่าน่าจะเป็นถั่วเหลืองที่ได้รับการดัดแปลงให้มีการสะสมกรดโอเลอิกในน้ำมันที่กล่าวไว้ก่อนหน้านี้ การสังเคราะห์กรดไขมันที่เป็นอนุพันธ์ของกรดโอเลอิกบางตัวได้แสดงไว้ในรูปที่ 4



รูปที่ 4 การสังเคราะห์กรดไขมันที่เป็นอนุพันธ์ของกรดโอเลอิก

นอกจากนั้นความต้องการใช้ไบโอดีเซลในเอเชียได้มีมากขึ้น ในปัจจุบันน้ำมันปาล์มสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตไบโอดีเซลได้ โดยในน้ำมันปาล์มนั้นมีปริมาณกรดปาล์มิติก 42 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำมันที่ได้จากเนื้อในเมล็ดปาล์ม มีกรดปาล์มิติกสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีสมบัติทำให้น้ำมันกลายเป็นไขเมื่ออากาศเย็น การแก้ปัญหานี้นอกจากจะใช้วิธีผสมน้ำมันปาล์มกับน้ำมันก๊าดหรือน้ำมันปิโตรเลียมแล้วยังมีแนวคิดแก้ปัญหาดังกล่าวโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพด้วยการเพิ่มพันธะคู่ 1 พันธะลงในกรดปาล์มิติกเพื่อไม่ให้เป็นไขในสภาพอากาศเย็นในขณะใช้งานกับเครื่องยนต์ ด้วยการถ่ายยีนของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ดังกล่าวลงไปในปาล์ม ขณะนี้บริษัทจากญี่ปุ่นกำลังทดลองปลูกปาล์มสายพันธุ์ดังกล่าวในอินโดนีเซีย

การเพิ่มปริมาณการสะสมกรดไขมันบางชนิดในน้ำมันโดยการเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์

นอกเหนือจากการถ่ายยีนจากสิ่งมีชีวิตอื่นเข้าไปในโรงงานชีวภาพแล้ว ความก้าวหน้าของเทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรมยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสะสมกรดไขมันบางชนิดในน้ำมัน โดยการเพิ่มความจำเพาะที่เอนไซม์มีต่อสารตั้งต้นด้วยการจัดโครงสร้างของเอนไซม์ให้เข้าจับกับสารตั้งต้นได้ดีขึ้นเพื่อให้เปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์คือกรดไขมันที่ต้องการได้เร็วขึ้น ตัวอย่างที่ประสบความสำเร็จแล้วคือ การปรับโครงสร้างของ 18:0-ACP thioesterase ให้เข้าจับ 18:0-ACP ได้เร็วขึ้น และพบว่ามีการสะสมกรดสเตียริกในน้ำมันจากคาโนลาได้มากขึ้น

บทส่งท้าย

ความก้าวหน้าในการศึกษาวิถีการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์หลักของพืชหลายชนิดและเทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรมของพืชในปัจจุบันได้มีบทบาทในการพัฒนาสายพันธุ์พืชให้เป็นโรงงานผลิตที่มีความสามารถเพิ่มขึ้น ซึ่งได้รับความสนใจมากกว่าการค้นคว้าวิจัยเพื่อหาทางทำให้พืชมีความต้านทานต่อโรคและแมลง การศึกษาดังกล่าวประสบความสำเร็จในระดับหนึ่งแล้ว การค้นหาเอนไซม์ที่สำคัญต่อการทำให้พืชเศรษฐกิจในแต่ละเขตสามารถดัดแปลงการสังเคราะห์กรดไขมันที่สำคัญชนิดต่างๆ กำลังมีความก้าวหน้าอย่างมาก การปรับปรุงพันธุ์พืชตามแนวคิดนี้ยังคงดำเนินไปอย่างต่อเนื่องในหลายประเทศ สายพันธุ์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นได้ถูกเก็บรวบรวมไว้สำหรับการศึกษาผลดีและผลเสียของพืชที่ได้จากวิธีดังกล่าว อย่างไรก็ตามเทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรมเป็นเพียงเครื่องมืออย่างหนึ่งที่จะช่วยให้การพัฒนาสายพันธุ์พืชมีความรวดเร็วและได้ผลตรงตามวัตถุประสงค์ ในขั้นตอนการประเมินสายพันธุ์พืชใหม่ๆ เหล่านั้นยังคงมีความจำเป็นต้องพึ่งวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมเช่นกัน นอกจากนี้แล้วการสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชด้วยการผสมพันธุ์และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ก็ยังนับว่าเป็นวิธีการที่สำคัญในการปรับปรุงประสิทธิภาพกระบวนการ สังเคราะห์กรดไขมันของพืช ซึ่งนับเป็นโรงงานชีวภาพที่ไม่มีวันหมดไปจากโลก ทั้งนี้เพื่อการสร้างความมั่นคงทางด้านอาหารตลอดจนเป็นแหล่งพลังงานที่จะเข้ามาทดแทนพลังงานจากน้ำมันดิบและก๊าซธรรมชาติในอนาคต

บรรณานุกรม

Harwood, J.L. (1997). Plant lipid metabolism. In: Dey, P.M. and Harborne, J.B. (eds.). Plant Biochemistry. London: Bath Press. p.237-272.

Hills, M.J. (2001). Genetic modification of vegetable oils to optimize fatty acid profiles for food and industry. Lipid Technology. March 2001:29-32.

Murphy, D. (1994). Genetically engineered plant oils. Biological Plant Sciences Review. 8:16-19.

Ohlrogge, J. (1999). Plant metabolic engineering: are we ready for phase two? Current Opinion in Plant Biology. 2:121-122.

Ohlrogge, J. and Browse, J. (1995). Lipid biosynthesis. The Plant Cell. 7:957-970.

Voet, D. and Voet, J. (1995). Biochemistry. 2nd ed. Toronto: John Willey and Sons.

❐❐❐❐❐❐❐

ว. วิทย. มข. 32(1) : 35-45 (2547) KKU Sci. J. 32(1) : 35-45 (2004)

การวิเคราะห์เปลาโนทอลในสารสกัดจากแคลลัสเปล้าน้อย

สมเกียรติ ระวังแก้ว [1] และสุพร นุชดำรงค์ [1]

บทคัดย่อ

ในการวิจัยนี้ ได้ดัดแปลงวิธีการตรวจวิเคราะห์สารเปลาโนทอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (thin layer chromatography, TLC) เคลือบสาร silica gel G60 F_{254} ส่องดูโครมาโทแกรมใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ความไวของวิธีการตรวจสอบ (0.83 ไมโครกรัม) สูงกว่าวิธีการพัฒนาสีโครมาโทแกรมด้วยไอโอดีน ประมาณ 3 เท่า (2.50 ไมโครกรัม) นำวิธีที่ดัดแปลงขึ้นนี้ มาศึกษาการผลิตสารเปลาโนทอลในแคลลัสเพาะเลี้ยงจากใบเปล้าน้อยบนอาหารซึ่งปรับให้เป็นอาหารแข็งสูตรต่างๆ ผลการทำ TLC ของสารสกัดจากแคลลัสโดยระบบเคลื่อนที่ของการแยก 3 ระบบ คือ คลอโรฟอร์ม:อีเทอร์ อัตราส่วนโดยปริมาตร (v/v) เป็น 4:1, 5:1 และ 3.5:1 แสดงให้เห็นถึงการผลิตสารเปลาโนทอลในแคลลัสที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรอะกาโรส 2% ส่วนการเลี้ยงแคลลัสด้วยอาหารแข็งวุ้นอะการ์ 0.7% (สูตรควบคุม) ซึ่งเสริมแมกนีเซียมซัลเฟต 25% หรือโดยเฉพาะอย่างยิ่งสูตรควบคุมเสริมโซเดียมคลอไรด์ 0.6% น่าจะมีผลเหนี่ยวนำการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ของเปลาโนทอล เนื่องจากในโครมาโทแกรมพบสารที่ประมาณระยะของสารเปลาโนทอลมาตรฐานเมื่อทำ TLC ด้วยระบบเคลื่อนที่ซึ่งประกอบด้วยคลอโรฟอร์ม:อีเทอร์ อัตราส่วน 4:1 v/v แต่ระยะของสารในโครมาโทแกรมจะคลาดเคลื่อนไปถ้าเปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 5:1 v/v และ 3.5:1 v/v สำหรับการศึกษาผลของแมกนีเซียมซัลเฟตและโซเดียมคลอไรด์ตามลำดับ

Abstract

A method for detection of plaunotol by thin layer chromatography (TLC) was modified using silica gel G60 F_{254} plates. The chromatograms were visualized under ultraviolet light (254 nm) with a sensitivity of 0.83 μg, which is approximately 3 times higher than that obtained from the method using reaction with iodine (2.50 μg). The modified method was used to study the production of plaunotol in callus cultures from leaves of plau-noi. Calluses were grown on various formulations of solid media. Extracts of callus were analyzed on TLC and the mobile phase systems were mixtures of chloroform and ether at 3 different ratios (v/v) including 4:1, 5:1 and 3.5:1. The results demonstrated the capability of plaunotol production in calluses grown on a medium solidified with 2% agarose. Nevertheless, cultures on a medium solidified with 0.7% agar (control medium) containing 25% magnesium sulfate or especially 0.6% sodium chloride were suggested to produce derivatives of plaunotol. Such interpretation was made since one spot in chromatograms was observed at the approximate position of standard plaunotol on TLC using a mixture of chloroform:ether at the ratio of 4:1 v/v as a mobile phase. However, the relative mobility of the spot was away from that of standard plaunotol when the ratio was changed to 5:1 v/v and 3.5:1 v/v in the study of magnesium sulfate and sodium chloride effects respectively.

[1] *ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002*

บทนำ

เปล้าน้อย (*Croton sublyratus* Kurz.) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้าน แต่เดิมมาชาวบ้านใช้ใบเปล้าน้อยรักษาโรคกระเพาะ โรคพยาธิและโรคผิวหนัง (ณรงค์ เพ็งปรีชา, 2530) จากการศึกษาทางด้านเภสัชวิทยา พบว่า ใบของพืชชนิดนี้สะสมสารทุติยภูมิประเภทไดเทอร์พีน (diterpenes) หลายชนิดออกฤทธิ์ร่วมกันรักษาแผลในกระเพาะอาหาร โดยสารออกฤทธิ์สำคัญ คือ เปลาโนทอล (plaunotol) นั้นมีสมบัติสมานแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ กระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ (Ogiso et al., 1978) และกระตุ้นการหลั่งสารพรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) ซึ่งช่วยป้องกันมิให้เซลล์ในกระเพาะอาหารหรือลำไส้ถูกทำลายโดยสภาวะกรดของน้ำย่อย (Ushiyama, 1987) ปัจจุบันมีรายงานยืนยันว่าสารเปลาโนทอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* (Takagi et al., 2000) แบคทีเรียชนิดนี้เป็นตัวการสำคัญที่ทำลายเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหาร ทำให้เกิดแผลเรื้อรังซึ่งมักนำไปสู่การเป็นมะเร็งของกระเพาะอาหารและลุกลามไปยังส่วนอื่นของระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้เปลาโนทอลยังออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคชนิดสำคัญ คือ *Staphylococcus aureus* ได้อีกด้วย (Hada et al., 2001)

เปล้าน้อยที่พบแถบจังหวัดปราจีนบุรีและประจวบคีรีขันธ์ เป็นสายพันธุ์ที่มีการผลิตสารเปลาโนทอลสูงกว่าเปล้าน้อยในท้องที่อื่นๆ (ณรงค์ เพ็งปรีชา, 2530) การใช้วัตถุดิบใบเปล้าน้อยเป็นแหล่งของการผลิตสารเปลาโนทอลในระดับอุตสาหกรรมมีขีดจำกัดทั้งทางด้านการเก็บเกี่ยวผลผลิตและสภาพภูมิประเทศที่ใช้ในการเพาะปลูก แนวคิดของการแก้ปัญหาดังกล่าวนี้ คือ การประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ศึกษาวิจัยเพื่อหาสภาวะเพาะเลี้ยงที่เอื้อให้เกิดการสังเคราะห์สารเปลาโนทอลในแคลลัส (callus) ของเปล้าน้อย Morimoto and Murai (1989) รายงานว่า แคลลัสเปล้าน้อยจะผลิตสารเปลาโนทอลเฉพาะเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารแข็งที่มีลักษณะของ การขาดน้ำจากการเติมสารวุ้น (gelling agent) บางชนิดที่มีราคาแพงและด้วยความเข้มข้นสูง เช่น วุ้นอะกาโรส (agarose) การวิจัยนี้จึงทดลองเลี้ยงแคลลัสด้วยอาหารแข็งที่เตรียมโดยใช้วุ้น อะการ์ (agar) ความเข้มข้นปกติ (0.7%) แต่สร้างสภาวะขาดน้ำด้วยการเติมสารซึ่งราคาไม่แพง ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ หรือพอลิเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol, PEG-6000) เพื่อศึกษาผลของสารเหล่านี้ในการเหนี่ยวนำให้แคลลัสเปล้าน้อยผลิตสารเปลาโนทอล เปรียบเทียบกับผลของการเลี้ยงแคลลัสด้วยอาหารแข็งจากการเติมอะกาโรส 2%

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

ตู้ปฏิบัติการปลอดเชื้อ (laminar flow ยี่ห้อ Clean Air) สำหรับย้ายเนื้อเยื่อและแคลลัส

เครื่องระเหยแห้งภายใต้ความเย็นจัดและสุญญากาศ (freeze dryer ยี่ห้อ FTS System) สำหรับเตรียมตัวอย่างแคลลัสแห้ง

เครื่องกำเนิดแสงอัลตราไวโอเลต (ยี่ห้อ CAMAG) แผ่น TLC สำเร็จรูปเคลือบสาร silica gel G60 F_{254} (ของบริษัท Merck) และชุดอุปกรณ์รีฟลักซ์ (reflux apparatus) สำหรับวิเคราะห์ผลผลิตเปลาโนทอล

2. การพัฒนาแคลลัสเปล้าน้อย

เหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญของแคลลัสจากใบอ่อนต้นเปล้าน้อย (ที่นำมาจากแหล่งเดิม คือ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และปลูกในเขตอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น) โดยใช้อาหารสูตร 1/2 MS เสริมสารควบคุมการเติบโต 2,4-D 2 มิลลิกรัม/ลิตร และ BA 3 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งดัดแปลงจากสูตรของ Murashige and Skoog (1962) ตามวิธีของธราธร บุญแก้ว (2534) และทำให้เป็นอาหารแข็งด้วยวุ้นอะการ์ 0.7% เป็นอาหารสูตรควบคุม เมื่อแคลลัสอายุประมาณ 1 เดือน จึงแบ่งแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ (subculture) และทำซ้ำทุกๆ 1 เดือน เพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัส

3. การเพาะเลี้ยงแคลลัสเปล้าน้อยด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ

แบ่งแคลลัสจากข้อ 2 มาทดลองเลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างๆ ดังนี้

3.1 อาหารสูตร 1/2 MS เสริมสารควบคุมการเติบโตตามข้อ 2 ซึ่งปรับให้เป็นอาหารแข็งด้วยการเติมวุ้นอะกาโรส 2% แทนการใช้วุ้นอะการ์

3.2 อาหารสูตรควบคุมตามข้อ 2 ซึ่งเติมสารต่างๆ ต่อไปนี้อย่างใดอย่างหนึ่ง คือ โซเดียมคลอไรด์ 0.6% แมกนีเซียมซัลเฟต 25% แคลเซียมคลอไรด์ 25% หรือพอลิเอทิลีนไกลคอล 10% ทดลองโดยควบคุมขนาดแคลลัสที่ใช้เริ่มต้นเลี้ยง ให้มีน้ำหนักประมาณ 0.04-0.05 กรัม และวางแคลลัสให้สัมผัสอาหารบนพื้นผิวเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร หลังจากเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ เปรียบเทียบการเจริญของแคลลัส (n = 10) ในอาหารสูตรต่างๆ ด้วยค่าน้ำหนักสด (fresh weight)

4. การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารเปลาโนทอล

นำแคลลัสที่เลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ไประเหยแห้งภายใต้อุณหภูมิเย็นจัดและสุญญากาศ บดแคลลัสแห้ง 0.4 กรัม จนเป็นผงละเอียด แล้วสกัดด้วยสารละลายเมทานอล 50% ที่มีโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ (alkaline methanol) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร โดยวิธีรีฟลักซ์ (reflux) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดมาสกัดซ้ำด้วยคลอโรฟอร์ม 20 มิลลิลิตร แยกชั้นคลอโรฟอร์มมาระเหยโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน ได้สารสกัดแห้งนำไปเก็บในช่องแช่แข็ง เมื่อจะวิเคราะห์ด้วย TLC จึงเตรียมตัวอย่างโดยละลายสารสกัดแห้งด้วยคลอโรฟอร์ม 0.2 มิลลิลิตร

5. การวิเคราะห์ผลผลิตสารเปลาโนทอล

นำตัวอย่างมาแยกด้วยวิธี TLC โดยใช้แผน TLC สำเร็จรูปเคลือบสาร silica gel G60 F_{254} และใช้ระบบเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นสารผสมคลอโรฟอร์มและอีเทอร์ อัตราส่วน 4:1 v/v (ธราธร บุญแก้ว, 2534) 5:1 v/v หรือ 3.5:1 v/v กำหนดระยะการแยกเป็น 10 เซนติเมตร วิเคราะห์ตัวอย่างควบคู่กับสารมาตรฐานต่อไปนี้ คือ เปลาโนทอล (เตรียมจากยา Kelnac® ของบริษัท Sankyo, Japan) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เจรานิลเจราไนออล (geranylgeraniol ของบริษัท Sigma) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และกรดเมวาโลนิก (mevalonic acid ของบริษัท Sigma) ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตรตัวอย่างและสารมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์ คือ 5 ไมโครลิตร

นำแผ่น TLC ที่แยกสารไปตรวจสอบโครมาโทแกรม (chromatogram) โดยทำให้เกิดสีด้วยปฏิกิริยากับไอโอดีน (I_2) ในภาชนะบรรจุเกล็ดไอโอดีนประมาณ 10-20 นาที หรือส่องดูใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร บันทึกภาพตำแหน่งสารในโครมาโทแกรมของตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

ผลการทดลอง

1. การเจริญของแคลลัส

การตรวจสอบการเจริญของแคลลัสเปล้าน้อยในอาหารสูตรต่างๆ เปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม แสดงให้เห็นว่า อาหารสูตรควบคุมที่มีองค์ประกอบเปลี่ยนไป คือ เสริมผลกระทบของเกลือชนิดต่างๆ ได้แก่ แคลเซียมคลอไรด์ หรือแมกนีเซียมซัลเฟตความเข้มข้นสูงถึง 25% ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของแคลลัส โดยเฉพาะอย่างยิ่งสังเกตว่าแมกนีเซียมซัลเฟตน่าจะช่วยให้แคลลัสเจริญดีขึ้น (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตาม ในการทดลองมิได้เพิ่มความเข้มข้นของเกลือทั้งสองชนิดให้สูงขึ้นกว่านี้ ส่วนการเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.6% ในอาหารสูตรควบคุมไม่มีผลต่อการเจริญของแคลลัสเปล้าน้อย แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.8% แคลลัสจะเปลี่ยนสีเป็นเกือบน้ำตาลและมีการเจริญช้ามาก (ไม่แสดงข้อมูล) การเสริมอาหารสูตรควบคุมด้วยพอลิเอทิลีนไกลคอล 10% ทำให้แคลลัสเจริญช้าลงเล็กน้อย ซึ่งเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเอทิลีนไกลคอลเป็น 15% หรือ 20% อาหารกลับแปรสภาพเป็นของเหลว จึงไม่นำมาใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบการเจริญของแคลลัสเปล้าน้อยในอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	น้ำหนักสดของแคลลัส (กรัม)
อาหารสูตรควบคุม (วุ้นอะการ์ 0.7%)	1.845 ± 0.441
อาหารสูตรควบคุม + โซเดียมคลอไรด์ 0.6%	1.851 ± 0.248
อาหารสูตรควบคุม + แคลเซียมคลอไรด์ 25%	1.824 ± 1.218
อาหารสูตรควบคุม + แมกนีเซียมซัลเฟต 25%	2.653 ± 0.483
อาหารสูตรควบคุม + พอลิเอทิลีนไกลคอล 10%	1.403 ± 0.343
อาหารสูตรเติมวุ้นอะกาโรส 2%	1.553 ± 0.281

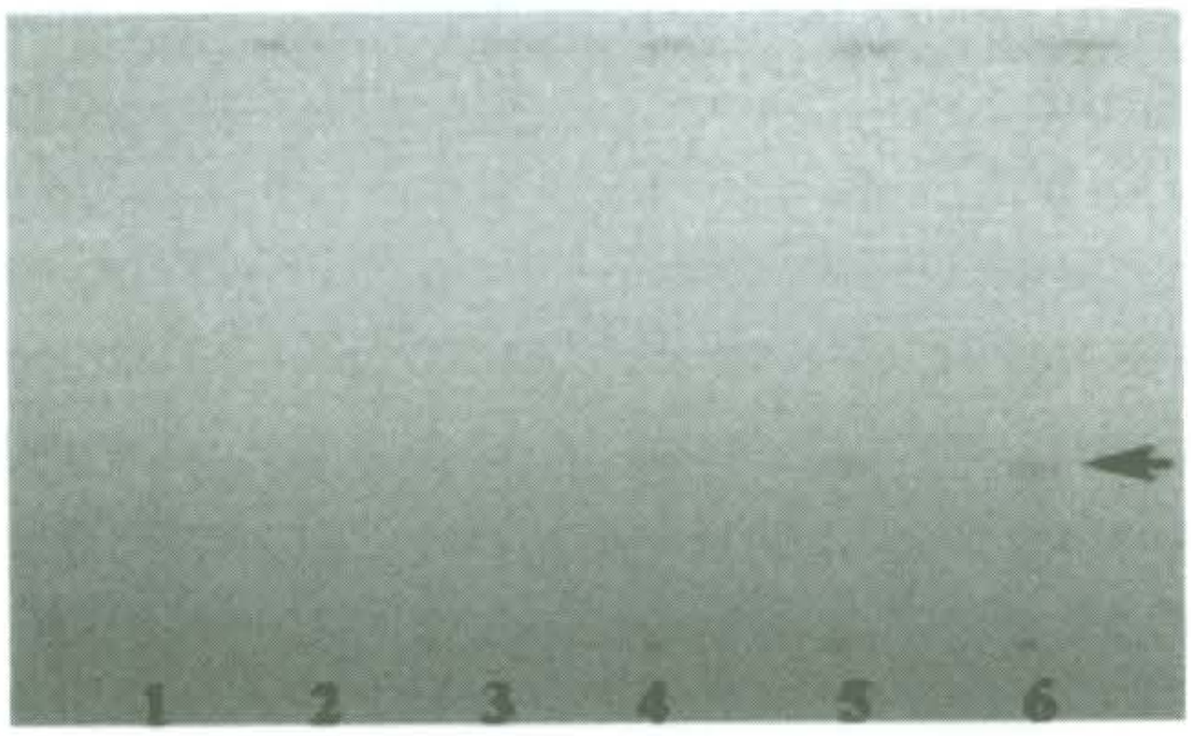
การเจริญของแคลลัสช้าลงเล็กน้อยในสูตรอาหารที่ใช้วุ้นอะกาโรส 2% แทนวุ้นอะการ์ และสังเกตเห็นได้ชัดเจนว่า แคลลัสมีลักษณะแห้งร่วนซุย (รูปที่ 1 ก) แตกต่างจากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ ซึ่งเซลล์เกาะกันหลวมๆ (friable) และชุ่มน้ำ ดังแสดงเป็นตัวอย่างด้วยแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารควบคุมเสริมโซเดียมคลอไรด์ 0.6% (รูปที่ 1 ข)

ก. ข.

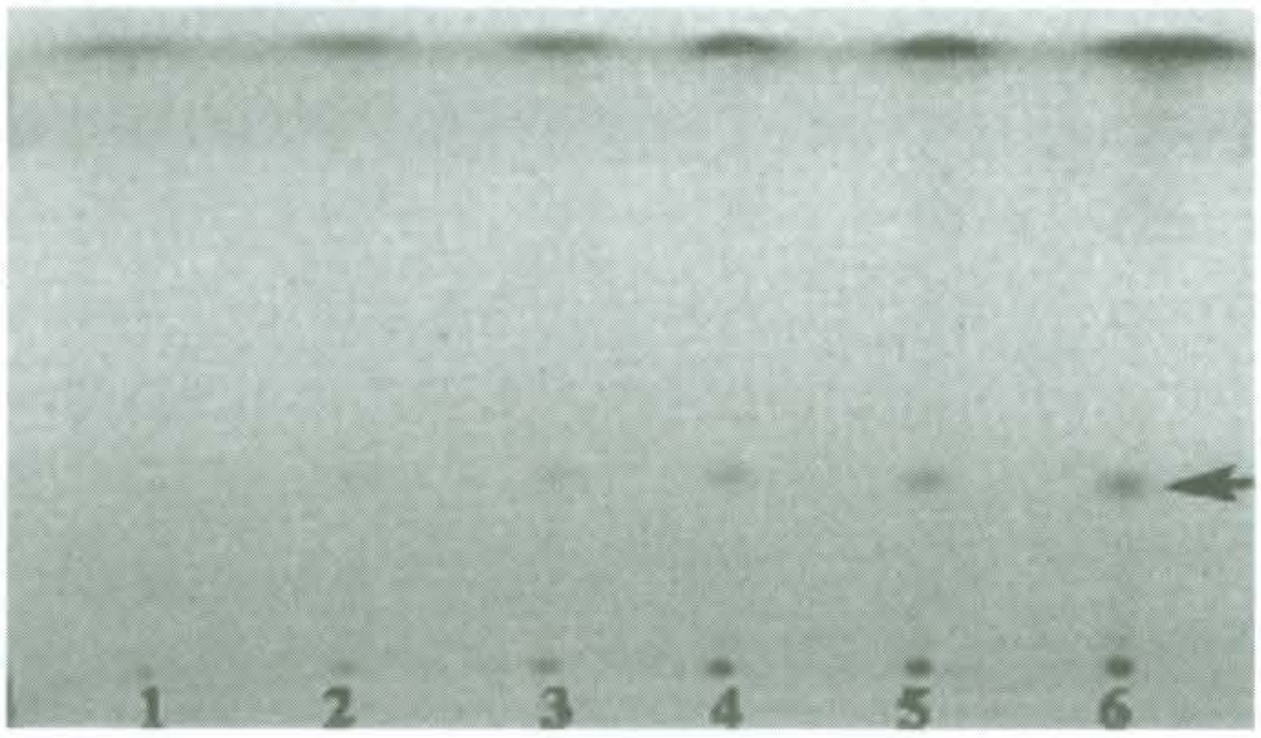
รูปที่ 1 ลักษณะของแคลลัสแห้งและร่วนซุยที่เจริญบนอาหารซึ่งเตรียมเป็นอาหารแข็งด้วยวุ้นอะกาโรส (ก.) เปรียบเทียบกับแคลลัสลักษณะเกาะกันแบบหลวมๆ และชุ่มน้ำที่เจริญบนอาหารแข็งสูตรควบคุมเสริมโซเดียมคลอไรด์ 0.6% (ข.)

2. การวิเคราะห์สารเปลาโนทอลด้วยเทคนิค TLC

2.1 การตรวจสอบโครมาโทแกรมเปลาโนทอลมาตรฐาน จากการส่องดูและบันทึกภาพโครมาโทแกรมใต้แสงอัลตราไวโอเลต (รูปที่ 2 ข) ตำแหน่งของสารเปลาโนทอลมาตรฐานบนแผ่น TLC (เคลือบด้วย silica gel G60 F_{254}) ปรากฏเป็นสีดำบนพื้นเรืองแสงสีเขียว (ลูกศรชี้) โดยความเข้มของสีแปรตามปริมาณสารมาตรฐานเปลาโนทอลและสามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ถึง 0.83 ไมโครกรัม แต่เมื่อนำแผ่น TLC เดียวกันนั้นมาทำปฏิกิริยากับไอโอดีน โครมาโทแกรมเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส่องดูและบันทึกโครมาโทแกรมสีเหลืองด้วยแสงสีขาว (white light) ของหลอดฟลูออเรสเซนต์ ปรากฏตำแหน่งของสารมาตรฐานเปลาโนทอล (ลูกศรชี้) ปริมาณน้อยที่สุดเพียง 2.50 ไมโครกรัม นอกจากนี้ยังสังเกตการเปลี่ยนความเข้มของสีของโครมาโทแกรมตามปริมาณสารที่เปลี่ยนไปไม่ชัดเจน (รูปที่ 2 ก)



ก.



ข.

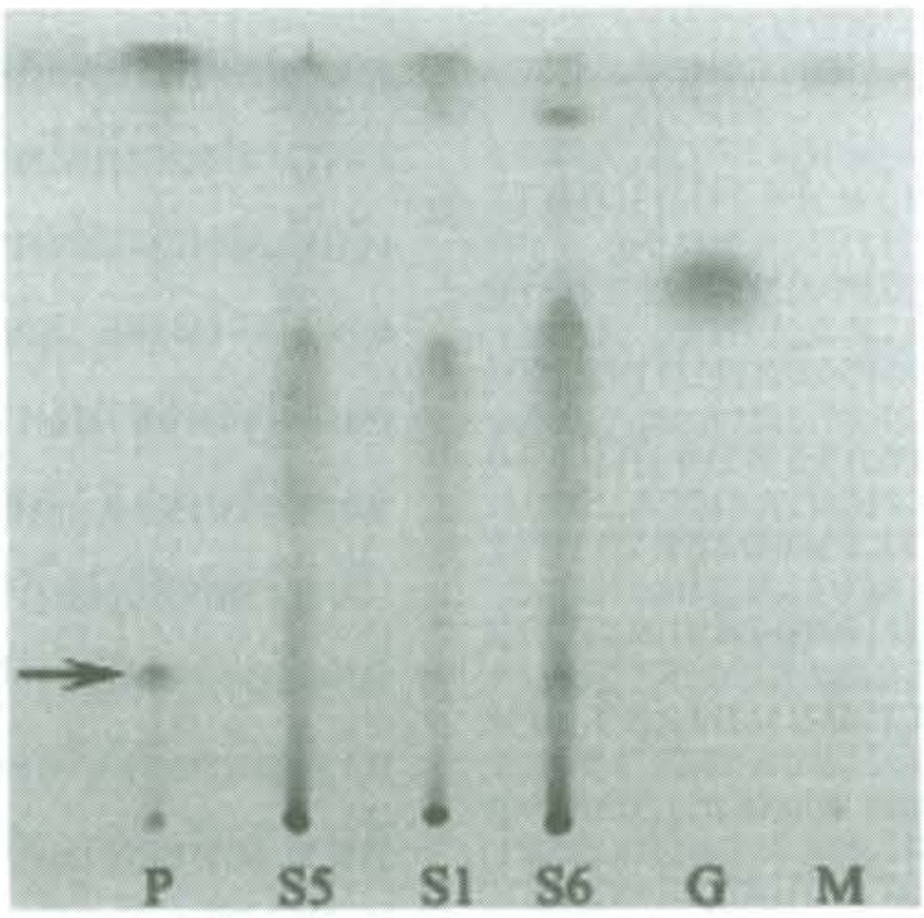
รูปที่ 2 การวิเคราะห์ความไวของวิธีการตรวจสอบโครมาโทแกรมของเปลาโนทอล เมื่อแยกเปลาโนทอลมาตรฐานด้วยเทคนิค TLC แล้วทำปฏิกิริยากับไอโอดีน ส่องดูโครมาโทแกรมใต้แสงสีขาว (ก.) เปรียบเทียบกับโครมาโทแกรมใต้แสงอัลตราไวโอเลตโดยไม่ผ่านการทำปฏิกิริยากับไอโอดีน (ข.) ทดสอบโดยแปรปริมาณสารเปลาโนทอล ดังนี้ 0.63, 0.83, 1.25, 2.50, 5.00 และ 10.00 ไมโครกรัม (spot 1-6) ระบบเคลื่อนที่ของการแยก คือ คลอโรฟอร์ม:อีเทอร์ อัตราส่วน 4:1 v/v ลูกศรชี้ตำแหน่งของสารเปลาโนทอล

2.2 การตรวจสอบผลการเพาะเลี้ยงแคลลัสเปล้าน้อยเพื่อการผลิตสารเปลาโนทอล ในการทดลองขั้นแรกได้ศึกษาผลของอาหารสูตรควบคุมซึ่งเสริมให้มีแมกนีเซียมซัลเฟต (25%) แคลเซียมคลอไรด์ (25%) หรือพอลิเอทิลีนไกลคอล (10%) ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์สารเปลาโนทอลของแคลลัสเปล้าน้อย เปรียบเทียบกับผลจากสภาวะการเลี้ยงในอาหารสูตรวุ้นอะกาโรส (2%) ซึ่งมีรายงานมาก่อนหน้านี้แล้วว่าสามารถกระตุ้นการสังเคราะห์สารเปลาโนทอลได้ (Morimoto and Murai, 1989) และดังแสดงไว้ในรูปที่ 3 (ตัวอย่าง S1) ตรวจไม่พบสารซึ่งเคลื่อนที่ตรงกับระยะของสารมาตรฐานเจรานิลเจราไนออล

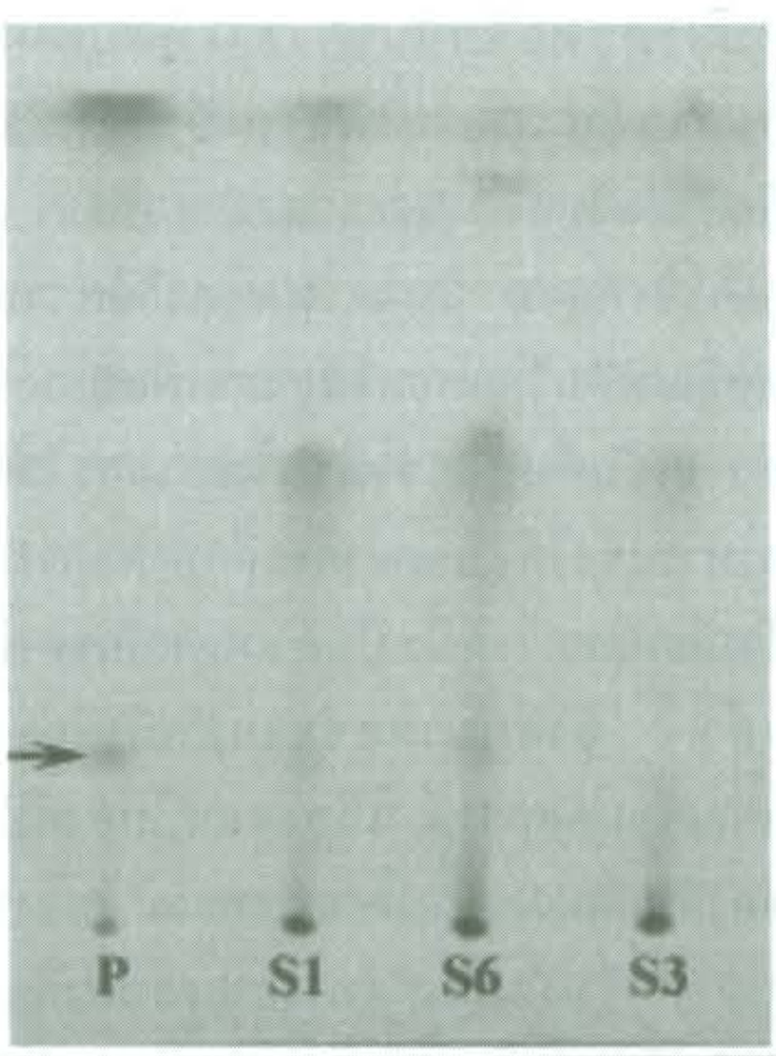
ซึ่งเป็นซับสเตรต (substrate) ของเอนไซม์ที่จะเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนให้เป็นเปลาโนทอล ผลการเติมพอลิเอทิลีนไกลคอล (ตัวอย่าง S2) ให้สารสกัดที่ไม่เคลื่อนที่ในระบบการแยกด้วย TLC ส่วนสารสกัดจากแคลลัสบนอาหารสูตรเติมแมกนีเซียมซัลเฟต (ตัวอย่าง S3) หรือแคลเซียมคลอไรด์ (ตัวอย่าง S4) ปรากฏสารในโครมาโทแกรมตรงระยะใกล้เคียงสารเจรานิลเจราไนออลคล้ายกับผลของอะกาโรส อย่างไรก็ตามจากการสังเกตโครมาโทแกรมของตัวอย่าง S3 พบสารบริเวณตำแหน่งใกล้สารมาตรฐานเปลาโนทอล (ตรงหัวลูกศรในรูปที่ 3 เหนือตำแหน่งสารมาตรฐานกรดเมวาโลนิกเล็กน้อย) แต่เมื่อตรวจสอบซ้ำโดยการเปลี่ยนระบบเคลื่อนที่ของการแยก คือ คลอโรฟอร์ม: อีเทอร์ จากอัตราส่วน 4:1 v/v เป็นอัตราส่วน 5:1 v/v ระยะการเคลื่อนที่ของสารดังกล่าวกลับคลาดเคลื่อนไปจากสารมาตรฐานเปลาโนทอล (ตัวอย่าง S3 รูปที่ 5 ก)

รูปที่ 3 การวิเคราะห์ผลการเพาะเลี้ยงแคลลัสเพื่อผลิตสารเปลาโนทอลด้วยอาหารสูตรเติมวุ้น อะกาโรส (S1) และอาหารสูตรควบคุมเสริมสารพอลิเอทิลีนไกลคอล (S2) แมกนีเซียมซัลเฟต (S3) หรือแคลเซียมคลอไรด์ (S4) ส่องดูโครมาโทแกรมใต้แสงอัลตราไวโอเลต โดยระบบเคลื่อนที่ของการแยก คือ คลอโรฟอร์ม:อีเทอร์ อัตราส่วน 4:1 v/v สัญลักษณ์ P G และ M แทนสารมาตรฐานเปลาโนทอล เจรานิลเจราไนออล และกรดเมวาโลนิก ตามลำดับ ลูกศรชี้ตำแหน่งของสารเปลาโนทอล หัวลูกศรแสดงตำแหน่งของสารที่คาดว่าเป็นเปลาโนทอลในตัวอย่าง S3

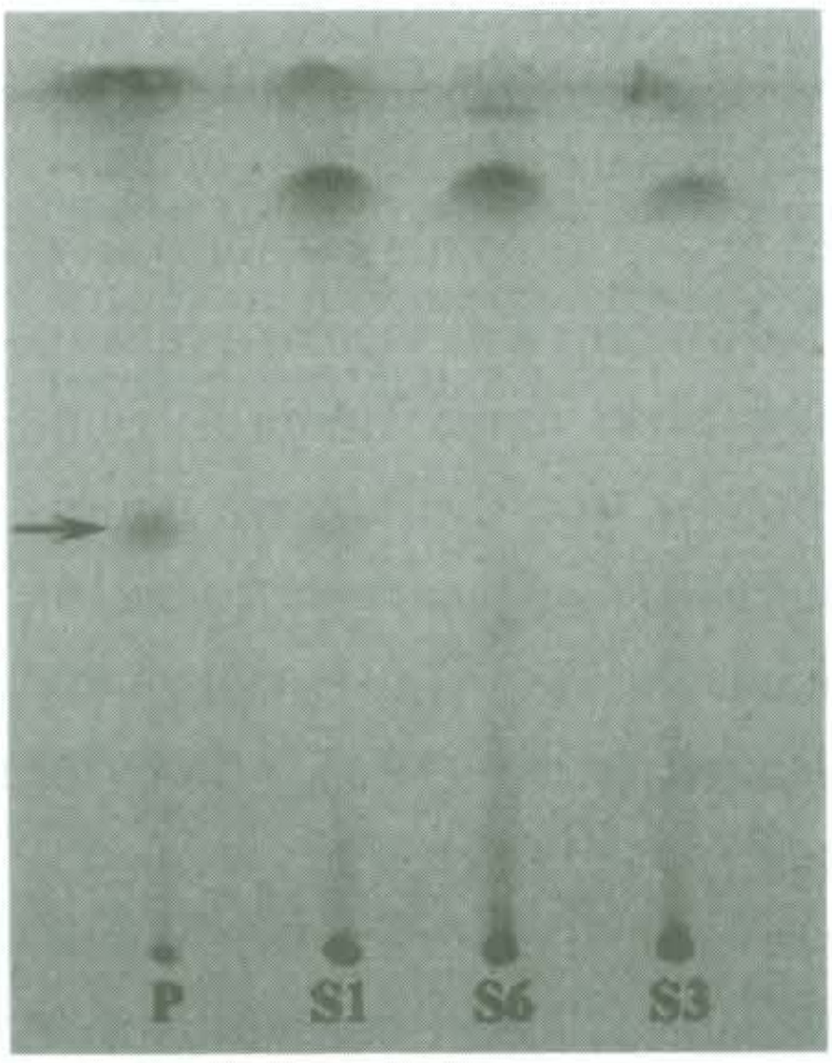
เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสเปล้าน้อยในอาหารสูตรเสริมโซเดียมคลอไรด์ (0.6%) และสกัดสารมาวิเคราะห์โครมาโทแกรม (ตัวอย่าง S6 รูปที่ 4) พบสารที่ระยะตรงพอดีกับสารมาตรฐานเปลาโนทอล เมื่อตรวจสอบซ้ำโดยการเปลี่ยนอัตราส่วนของคลอโรฟอร์ม:อีเทอร์ จากอัตราส่วน 4:1 v/v เป็น 5:1 v/v สารนั้นก็ยังเคลื่อนที่ด้วยระยะของสารมาตรฐานเปลาโนทอล (ตัวอย่าง S6 รูปที่ 5 ก) แต่เมื่อเปลี่ยนอัตราส่วนของคลอโรฟอร์ม:อีเทอร์ เป็น 3.5:1.5 v/v สารดังกล่าวเคลื่อนที่แตกต่างไปจากสารมาตรฐานเปลาโนทอล (ตัวอย่าง S6 รูปที่ 5 ข) ส่วนผลการวิเคราะห์โครมาโทแกรมในสารสกัดจากแคลลัสที่เลี้ยงบนอาหารสูตรอะกาโรสด้วยระบบเคลื่อนที่ต่างกันทั้ง 3 แบบ ให้ผลสอดคล้องกันว่า อะกาโรส (2%) ส่งผลกระตุ้นการสังเคราะห์เปลาโนทอลของแคลลัส ในขณะที่สารสกัดจากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรควบคุมไม่ปรากฏสารตรงระยะการเคลื่อนที่ของเปลาโนทอล (ตัวอย่าง S5 รูปที่ 4)



รูปที่ 4 การวิเคราะห์ผลการเพาะเลี้ยงแคลลัสเพื่อผลิตสารเปลาโนทอล ด้วยอาหารสูตรเติมวุ้น อะกาโรส (S1) อาหารสูตรควบคุม (S5) และอาหารสูตรควบคุมเสริมโซเดียมคลอไรด์ (S6) ส่องดูโครมาโทแกรมใต้แสงอัลตราไวโอเลต โดยระบบเคลื่อนที่ของการแยก คือ คลอโรฟอร์ม:อีเทอร์ อัตราส่วน 4:1 v/v สัญลักษณ์ P G และ M แทนสารมาตรฐาน เปลาโนทอล เจรานิลเจราไนออล และกรดเมวาโลนิก ตามลำดับ ลูกศรชี้ตำแหน่งของ สารเปลาโนทอล



ก.



ข.

รูปที่ 5 การตรวจสอบผลการผลิตสารเปลาโนทอลในแคลลัสซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเติมวุ้น อะกาโรส (S1) อาหารสูตรควบคุมเสริมโซเดียมคลอไรด์ (S6) หรือแมกนีเซียมซัลเฟต (S3) เมื่อเปลี่ยนอัตราส่วนของคลอโรฟอร์ม:อีเทอร์ เป็น 5:1 v/v (ก.) และ 3.5:1.5 v/v (ข.) ส่องดูโครมาโทแกรมใต้แสงอัลตราไวโอเลต สัญลักษณ์ P แทนสารมาตรฐานเปลาโนทอล ลูกศรชี้ตำแหน่งของสารเปลาโนทอล

สรุปและวิจารณ์

เซลล์พืชเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการสามารถใช้เป็นแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) ได้ แต่ต้องมีการปรับเปลี่ยนสภาวะเพาะเลี้ยงให้ได้รับผลกระทบจากปัจจัยภายนอกบางชนิด เช่น ผลกระทบของสูตรอาหาร อิทธิพลของสารควบคุมการเติบโตของพืชและความเข้มแสงต่อการสังเคราะห์สารแอนทราควิโนน (anthraquinones) ในเซลล์ *Morinda elliptica* (Abdullah et al., 1998) ผลของการเสริมสารต้นตอบางชนิดในอาหารมีส่วนช่วยเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์สารโรซาวิน (rosavin) ในเซลล์เพาะเลี้ยงของ *Rhodiola rosea* (Furmanowa et al., 1999) สารออกฤทธิ์เหล่านี้ล้วนแล้วแต่เป็นสารทุติยภูมิและการสังเคราะห์สารเหล่านี้เชื่อกันว่าเป็นวิธีการที่พืชตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกที่ส่งผลกระทบต่อพืช งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการผลิตสารเปลาโนทอลของแคลลัสเปล้าน้อย โดยนำเทคนิค TLC มาใช้ตรวจหาเปลาโนทอลในสารสกัดแคลลัสเปล้าน้อยตามวิธีของธราธร บุญแก้ว (2534) แต่ดัดแปลงเพื่อเพิ่มความไว (sensitivity) ของการวิเคราะห์ จากการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีน (ก๊าซ) กับเปลาโนทอลให้ปรากฏเป็นสีเหลืองบนแผ่น TLC มาเป็นการตรวจสอบโครมาโทแกรมด้วยหลักการเรืองแสงของสาร silica gel G60 F_{254} ที่เคลือบแผ่น TLC ซึ่งพบว่า สามารถเพิ่มความไวขึ้นประมาณ 3 เท่า (รูปที่ 2) นอกจากตำแหน่งของสารมาตรฐานเปลาโนทอลแล้ว ยังสังเกตเห็นสารตรงระยะของตัวทำละลายที่ใช้เป็นระบบตัวเคลื่อนที่ของการแยก คือ คลอโรฟอร์ม: อีเทอร์ อัตราส่วน 4:1 v/v ทั้งนี้ธราธร บุญแก้ว (2534) รายงานว่า เป็นสารรูปออกซิไดซ์ (oxidized form) ของเปลาโนทอล

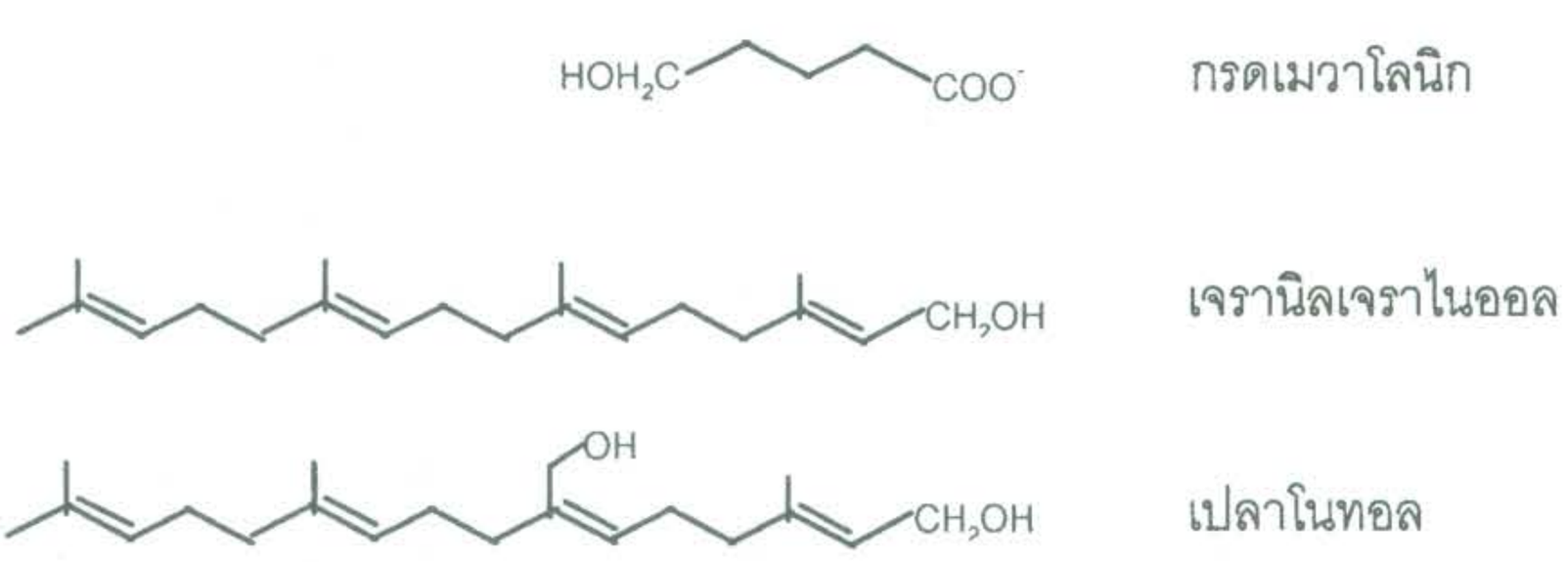
ในการวิจัยได้ทดลองสร้างสภาวะผลกระทบจากองค์ประกอบของอาหารต่อแคลลัสเปล้าน้อย โดยใส่สารบางชนิดเพิ่มเติมลงไป จากการสังเกตลักษณะของแคลลัสที่เจริญในอาหารที่มีวุ้น อะกาโรส 2% พบว่า แคลลัสมีลักษณะแห้งและร่วนซุย (รูปที่ 1 ก) ประกอบกับอาหารสูตรวุ้น อะกาโรสที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีลักษณะกระด้างแสดงว่ากัมมันตภาพของน้ำ (water activity) ในอาหารมีค่าต่ำ จึงตั้งสมมติฐานว่า อาหารสูตรดังกล่าว ทำให้เกิดสภาวะขาดน้ำในเซลล์ และเป็นไปได้ว่า สภาวะนี้น่าจะเป็นเงื่อนไขสำคัญในการกระตุ้นการสังเคราะห์เปลาโนทอลของแคลลัส จึงสนใจที่จะศึกษาผลกระทบของสารอื่นที่ก่อให้เกิดสภาวะขาดน้ำ 2 แบบ คือ แบบที่สารไม่ต้องผ่านเข้าเซลล์ ได้แก่ ผลของสารพอลิเอทิลีนไกลคอล และแบบที่เกิดจากผลกระทบของไอออนเกลือที่ผ่านเข้าเซลล์ ได้แก่ ไอออนของโซเดียมคลอไรด์ แมกนีเซียมและแคลเซียม

ผลกระทบจากความเค็มโดยโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์ (ประมาณ 0.6%) ทำให้เกิดสภาวะขาดน้ำเทียบเท่ากับผลของพอลิเอทิลีนไกลคอล (PEG-6000) ความเข้มข้น 14.3% โดยพิจารณาจากหน่วยความเข้มข้นของสารที่สัมพันธ์กับแรงดันออสโมซิส (osmolarity) ซึ่งมีค่าเท่ากันคือ 200 มิลลิออสโมลาร์ (milliosmolar) (Erdei et al., 2002) อย่างไรก็ตาม ในการทดลองใช้ความเข้มข้นของพอลิเอทิลีนไกลคอลได้สูงสุดเพียง 10% เนื่องจากความเข้มข้นสูงกว่านี้ทำให้อาหารไม่อยู่ในสภาพอาหารแข็งได้ นอกจากจะศึกษาผลกระทบของเกลือโซเดียมคลอไรด์ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของดินเค็มทั่วไปแล้ว ยังศึกษาผลของแมกนีเซียมซัลเฟตและแคลเซียมคลอไรด์ เนื่องจากเป็นองค์ประกอบหลักของดินเค็มแนวพื้นที่ชายฝั่งทะเล (กองบริรักษ์ที่ดิน, 2522) ซึ่งเป็นสมบัติทางกายภาพสำคัญของถิ่นที่อยู่อาศัยเดิมของต้นเปล้าน้อย นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าไอออนของแมกนีเซียมและแคลเซียมก่อให้เกิดภาวะความเค็มด้วย (Colmer et al., 1996; Munns, 2002) พืชมักมีกลไกร่วมกัน (common mechanisms) ในการตอบสนองต่อความเค็มของเกลือและ สภาวะขาดน้ำ (Munns, 2002)

การศึกษาผลกระทบของอาหารสูตรต่างๆ พบว่า การใช้อะกาโรส (2%) เตรียมอาหารแข็ง เป็น

สภาวะในการทดลองที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์สารเปลาโนทอลได้ซึ่งสอดคล้องกับที่มีผู้รายงานมาแล้ว (Morimoto and Murai, 1989) ในขณะที่ผลจากการใช้ระบบเคลื่อนที่ของการแยก คือ คลอโรฟอร์ม: อีเทอร์ อัตราส่วน 4:1 v/v แสดงให้เห็นว่าแมกนีเซียมซัลเฟตน่าจะส่งผลกระตุ้นวิถีการสังเคราะห์เปลาโนทอล แต่เมื่อเปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 5:1 v/v ปรากฏว่า สารในโครมาโทแกรมเคลื่อนที่คลาดเคลื่อนไปจากระยะของเปลาโนทอล และในทำนองเดียวกัน การทำ TLC ด้วยระบบเคลื่อนที่ 4:1 และ 5:1 v/v แสดงให้เห็นว่าโซเดียมคลอไรด์น่าจะส่งผลกระตุ้นวิถีการสังเคราะห์เปลาโนทอล แต่การเปลี่ยนอัตราส่วนเป็น 3.5:1.5 v/v ทำให้ตรวจไม่พบสารในโครมาโทแกรมตรงระยะของเปลาโนทอล ดังนั้น แม้ผลการทดลองจะให้ข้อสรุปว่า แมกนีเซียมซัลเฟตและโซเดียมคลอไรด์ไม่สามารถกระตุ้นการสังเคราะห์เปลาโนทอล แต่ให้ข้อคิดสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC ว่า ผลการทดลองต้องยืนยันโดยการปรับเปลี่ยนความมีขั้วของระบบเคลื่อนที่ อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาจากสมบัติการเคลื่อนที่ของสารในระบบเคลื่อนที่ 3 ระบบ คาดคะเนได้ว่าแมกนีเซียมซัลเฟตและโซเดียมคลอไรด์ อาจกระตุ้นการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ของเปลาโนทอล

เปลาโนทอลเป็นสารที่มีรายงานว่าสังเคราะห์มาจากวิถีเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) สารเริ่มต้นของวิถีคือ ของกรดเมวาโลนิก เอนไซม์ขั้นตอนสุดท้ายในการสังเคราะห์เปลาโนทอล คือ เอนไซม์ geranylgeraniol-18-hydroxylase ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสารเจรานิลเจราไนออล เป็นเปลาโนทอล (De-Eknamkul, 1998) เอนไซม์นี้ตรวจพบในใบของต้นเปล้าน้อยที่เป็นแหล่งผลิตของเปลาโนทอล ในการทดลองนี้จึงทดลองใช้กรดเมวาโลนิกและเจรานิลเจราไนออลเป็นสารมาตรฐาน เพื่อตรวจสอบว่า ถ้าไม่มีการสังเคราะห์สารเปลาโนทอลในแคลลัสน่าจะเป็นผลจากวิถีการสังเคราะห์ถูกยับยั้งและเกิดการสะสมของสารทั้ง 2 ชนิดนี้หรือไม่ ผลการวิเคราะห์สารสกัดจากแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารทุกสภาวะไม่สามารถตรวจพบสารที่เคลื่อนที่ตรงกับกรดเมวาโลนิกและเจรานิลเจราไนออล ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากโครงสร้าง (รูปที่ 6) น่าจะไม่เป็นผลจากการเลือกใช้ระบบการสกัดไม่เหมาะสม ซึ่งหมายความว่าไม่มีการสะสมสารดังกล่าวในแคลลัส ดังนั้นสารที่คาดว่าเป็นอนุพันธ์ของเปลาโนทอลที่ตรวจพบในการวิจัยนี้จึงน่าจะเป็นสารมัธยันต์ (intermediates) อื่นที่มิใช่กรดเมวาโลนิกและเจรานิลเจราไนออล



รูปที่ 6 โครงสร้างของเปลาโนทอลและสารมัธยันต์ในวิถีการสังเคราะห์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนวิจัยประเภทอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

กองบริรักษ์ที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน. (2522). ดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสารพัฒนาที่ดิน. 16(173):19-29.

ณรงค์ เพ็งปรีชา. (2530). เปลาโนทอลหรือเคลแนค: ยาวิเศษสกัดจากสมุนไพรเปล้าน้อย วนสาร. 5(2):102-120.

ธราธร บุญแก้ว. (2534). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นเปล้าน้อย (*Croton sublyratus*) เพื่อผลิตสารเปลาโนทอล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Abdullah, M.A., Ali, A.M., Marziah, M., Lajis, N.H. and Ariff, A.B. (1998). Establishment of cell suspension cultures of *Morinda elliptica* for the production of anthraquinones. Plant Cell Tiss. Org. 54:173-182.

Colmer, T.D., Fan, T.W.-M., Higashi, R.M. and LaÜchli, A. (1996). Interactive effects of Ca^{2+} and NaCl salinity on the ionic relations and proline accumulation in the primary root tip of *Sorghum bicolor*. Physiol. Plantarum. 97:421-424.

De-Eknamkul, W. (1998). Chasing the key enzymes of secondary metabolite biosynthesis from Thai medicinal plants. Pure Appl. Chem. 70(11):2119-2133.

Erdei, L., Tari, I., Csiszár, J., Pècsváradi, A., Horváth, F., Szabó, M., ördög, M., Cseuz, L., Zhiponova, M., Szilák, L. and Gyorgyey, J. (2002). Osmotic stress responses of wheat species and cultivars differing in drought tolerance: some interesting genes (advice for gene hunting). Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology. 46(3-4):63-65.

Furmanowa, M., Hartwich, M., Afermann, A.W., Kozminski, W. and Olejnik, M. (1999). Rosavin as a product of glycosylation by *Rhodiola rosea* (roseroot) cell cultures. Plant Cell Tiss. Org. 56:105-110.

Hada, T., Furusue, S., Matsumoto, Y., Hamashima, H., Masuda, K., Shiojima, K., Aarai, T. and Sasatsu, M. (2001). Comparison of the effects *in vitro* of tea tree oil and plaunotol on methicillin-susceptible and methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. Microbios. 106(S2):133-141.

Morimoto, H. and Murai, F. (1989). The effect of gelling agents on plaunotol accumulation in callus cultures of *Croton sublyratus* Kurz.. Plant Cell Rep. 8:210-213.

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ. 25:239-250.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.

Ogiso, A., Kitasawa, E., Kurabayashi, M., Sato, A., Takahashi, S., Noguchi, H., Kuwano, H., Kobayashi, S. and Mishima, H. (1978). Isolation and structure of antipeptic ulcer diterpene from Thai medicinal plant. Chem. Pharm. Bull. 26(10):3117-3122.

Takagi, A., Koga, Y., Aiba, Y., Kabir, A.M., Watanabe, S., Ohtatada, U., Osaki, T.,

Kamiya, S. and Miwa, T. (2000). Plaunotol suppresses interleukin-8 secretion induced by *Helicobacter pylori* - therapeutic effect of plaunotol on *Helicobacter pylori* infection. J. Gastroen. Hepatol. 15(4):374-380.

Ushiyama, S., Matsuda, K., Asai, F. and Yamazaki, M. (1987). Stimulation of prostaglandin production by (2E, 6Z, 10E)-7-hydroxymethyl-3,11,15-trimethyl-2,6,10,14 - hexadecatetraen-1-ol (plaunotol), a new anti-ulcer drug, *in vitro* and *in vivo*. Biochem. Pharmacol. 36(3):369-375.

ว. วิทย. มข. 32(1) : 46-52 (2547) KKU Sci. J. 32(1) : 46-52 (2004)

การจัดการเพาะเลี้ยงนกกระเรียนไทยในสภาพกรงเลี้ยง

อลงกลด แทนออมทอง[1], เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์[2], รัฐพันธ์ พัฒนรังสรรค์[3], กฤษณ์ ปิ่นทอง[4] และกฤษฎา บูรณารมย์[4]

บทคัดย่อ

การรวบรวมข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงนกกระเรียนไทยในสภาพกรงเลี้ยงที่สวนสัตว์เปิดเขาเขียว โรงเรือนแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนกักกันนก และส่วนเพาะเลี้ยง ทำการศึกษา พฤติกรรมการสืบพันธุ์ซึ่งได้แก่ การเต้นรำ การร้องหาคู่ การจับคู่ การผสมพันธุ์ การทำรัง การฟักไข่ และการเลี้ยงลูก แม่นกเริ่มทำรังในช่วงต้นเดือนมิถุนายน 2543 วางไข่ฟองแรกในวันที่ 25 มิถุนายน ฟองที่สอง 27 มิถุนายน มีลูกนกฟักออกมาเพียง 1 ตัว ในวันที่ 30 กรกฎาคม พ่อแม่นกกระเรียนช่วยกันกกไข่ และเลี้ยงลูก

Abstract

Basic data on breeding the captive eastern sarus crane (*Grus antigone sharpii*) at Khao Kheow Open Zoo were collected. The cage was divided into 2 parts, confining and breeding compartments. Breeding behavior including dancing, unison calling, mating, nesting, incubating, hatching and chicking was studied. The female bird started to nest in early June 2000 and laid the first and second eggs on June 25 and 27. Only one egg hatched on July 30. Both the male and female birds were responsible for incubating and chicking.

[1] *ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002*

[2] *ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10300*

[3] *โรงพยาบาลสัตว์ป่า สวนสัตว์เปิดเขาเขียว อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี 20210*

[4] *คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏสุรินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000*

บทนำ

นกกระเรียนที่กระจายอยู่ทั่วโลกมีอยู่ทั้งสิ้น 16 ชนิด (species) สำหรับนกกระเรียนไทยจัดอยู่ในพวก sarus crane (*Grus antigone* Linn.) แบ่งย่อยได้เป็น 3 ชนิดย่อย (subspecies) ได้แก่ นกกระเรียนอินเดีย (Indian sarus crane; *Grus antigone antigone*) นกกระเรียนไทย (Eastern sarus crane; *Grus antigone sharpii*) และนกกระเรียนออสเตรเลีย (Australian sarus crane; *Grus antigone gilli*) นกกระเรียนจัดเป็นนกน้ำขนาดใหญ่ที่บินได้ จัดเป็น 1 ใน 8 ของนกชนิดที่หายากและใกล้ที่จะสูญพันธุ์ สำหรับในประเทศไทยได้สูญพันธุ์ไปหมดแล้ว และจัดเป็นสัตว์ป่าสงวนตาม พ.ร.บ. สงวน และคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 (กลมพิพย์ กสิการ์ และปานัฎสิริ จันทร์ศิริ, 2536) ปัจจุบันกรมป่าไม้พยายามนำนกกระเรียนไทยกลับคืนสู่ถิ่นเดิมในประเทศไทย อีกครั้งโดยความช่วยเหลือของมูลนิธินกกระเรียนนานาชาติ (International Crane Foundation, ICF) ของประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งได้ร่วมมือกับกรมป่าไม้ในการศึกษาและขยายพันธุ์นกกระเรียนไทยตามโครงการอนุรักษ์นกกระเรียนที่เขตห้ามล่าสัตว์ป่าอ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรี โดยมีโครงการที่จะขยายพันธุ์นกกระเรียนไทยเพื่อนำมาปล่อยในแหล่งดั้งเดิมของนก นอกจากนี้ยังมีการเลี้ยงที่เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าทุ่งกระมัง จังหวัดชัยภูมิ กรงเพาะเลี้ยงของสวนสัตว์นครราชสีมา และสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จังหวัดชลบุรี (เกษม วงศ์เจริญ, 2531)

ในอดีตเราสามารถพบนกกระเรียนได้ในแถบตะวันออกเฉียงใต้ (อินโดจีน) ในประเทศเวียดนาม ลาว กัมพูชา และไทย จากรายงานของนักปักษีวิทยาจากมหาวิทยาลัยฮานอย พบว่าปัจจุบันสามารถพบนกกระเรียนไทยในสภาพธรรมชาติได้ที่เดียวในโลก คือ บริเวณพื้นที่เขตอนุรักษ์ธรรมชาติตรัมซิม (Thram Chim) ที่ตั้งอยู่ในเขตอำเภอดำนง (Dom Nong) ซึ่งเป็นอำเภอเล็ก ๆ ในจังหวัดดงทับ (Dong Thap) ทางตอนใต้ของประเทศเวียดนาม บริเวณสามเหลี่ยมปากแม่น้ำโขง โดยพบนกกระเรียนไทยหากินอยู่ทุกปีในช่วงฤดูแล้ง พอถึงช่วงฤดูฝนน้ำจะท่วมทำให้พื้นที่มีระดับน้ำสูงมาก จนนกกระเรียนไม่สามารถที่จะหากินและสร้างรังได้ จึงมีการย้ายถิ่น หากินไปยังที่อื่น ซึ่งยังไม่มีข้อมูลที่แน่ชัด มีรายงานว่านกกระเรียนไทยมีฤดูกาลสืบพันธุ์อยู่ในช่วงเดือนพฤษภาคมจนถึงเดือนสิงหาคม สำหรับความรู้เกี่ยวกับการสืบพันธุ์ยังไม่มีการศึกษามากนัก (บุบผา อ่ำเกตุ และศิริพร ทองอารีย์, 2527)

นกกระเรียนเป็นนกที่มีลักษณะคล้ายกับนกกระสา คอยาว ขายาว จะงอยปากยาว ปลายนิ้วแหลม แต่มีความแตกต่างจากนกกระสาตรงขนปีก โดยความยาวของขนปีกบิน (secondary feather) คลุมเลยขนหางออกไป นกกระเรียนไทยมีขนของลำตัวเป็นสีเทา แต่ปลายขนปีกมีสีค่อนข้างดำ ตอนบนของคอและหัวเป็นหนังเปลือยสีแดงไม่มีขน หน้าผากตอนบนของหัวสั้นเป็นหนังสีเขียวอ่อน ๆ บริเวณข้างแก้มและท้ายทอยเป็นผิวหนังสีแดงเข้ม ม่านตามีสีเหลืองเข้ม ปากมีสีแดงแกมเขียว แข้งและนิ้วเท้ามีสีชมพู (รูปที่ 1) นกกระเรียนไทยที่มีอายุยังน้อยจะมีขนอุยสีน้ำตาลส่วนหัวและคอมีสีน้ำตาล เมื่อโตเต็มที่มีความยาวประมาณ 152 เซนติเมตร สูงประมาณ 150 เซนติเมตร เป็นนกน้ำที่มีลำตัวสูงใหญ่ที่สุดของประเทศไทย ขนาดของนกกระเรียนไทยที่เก็บเป็นตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์ Smithsonian ในกรุงวอชิงตัน สหรัฐอเมริกา ตั้งแต่ปี พ.ศ.2541 มี น้ำหนักตัวประมาณ 5 กิโลกรัม (ภิญญาพร นิตยะประภา, 2534; สุมิตรา มาถาวร, 2541; บุญส่ง เลขะกุล, 2538; Johnsgrad, 1983; Forshaw, 1991 ; King and Dickinson, 1975)

รูปที่ 1 นกกระเรียนไทย (eastern sarus crane; *Grus antigone sharpii*)

นกกระเรียนไทยเป็นนกน้ำที่สามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งได้แก่ เมล็ดข้าว ลูกไม้ ยอดผัก ยอดหญ้า หนอน แมลง หอย ปู ปลา กบ งูบางชนิด และเขียด เป็นต้น โดยจะหากินอาหารตลอดทั้งวัน จะบินจากแหล่งที่นอนในช่วงเช้าตรู่ก่อนสว่าง และกลับเข้ารังตอนพลบค่ำ (Mirande, 1985; Mirande, Eillis and Seal, 1992 ; Putnum, 1981) Archibald and Swengel (1985) รายงานว่านกกระเรียนไทยอาศัยอยู่ตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย และในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ Archibald (1980) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบนกกระเรียนที่อยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบว่ามีขนาดเล็กกว่านกกระเรียนที่อยู่ในประเทศออสเตรเลีย และนกกระเรียนในประเทศออสเตรเลียมีขนาดของแถบแดงบนหัวเล็กกว่า Mirande and Archibald (1988) รายงานว่านกกระเรียนไทยเริ่มมีพฤติกรรมการจับคู่เมื่อนกมีอายุได้ประมาณ 2-3 ปี นกตัวเมียเริ่มวางไข่หลังจากมีการจับคู่ 1-2 ปี พฤติกรรมการจับคู่กันของนกสังเกตได้จากการที่นกจะเริ่มอยู่ใกล้ชิดกัน และมีการแสดงกิจกรรมร่วมกัน เช่น การกินอาหาร การพักผ่อนอยู่ด้วยกัน การไซ้ขนให้กันและกัน ส่งเสียงร้อง ปกป้องซึ่งกันและกัน การส่งเสียงร้องโต้ตอบซึ่งกันและกัน เต้นรำด้วยกัน ตัวผู้จะทำการปกป้องตัวเมีย และในที่สุดจะเกิดการผสมพันธุ์กัน

อุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

ทำการสร้างโรงเรือนสำหรับการเพาะเลี้ยงนกกระเรียนไทย โรงเรือนเป็นรูป 8 เหลี่ยม มีทางเดินเข้าสู่ภายในโรงเรือน ผนังด้านข้างที่อยู่ระหว่างกรงจะปิดทึบ เพื่อป้องกันการมองเห็นกันของนกกระเรียนที่มีกรงเพาะเลี้ยงติดกัน พื้นที่กรงแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรกเป็นคอกกักกัน ส่วนที่สองเป็นส่วนสำหรับเพาะเลี้ยงนกกระเรียน จะประกอบไปด้วยพื้นที่อยู่อาศัยของนก และส่วนที่เป็นสระน้ำ มีการจัดภูมิทัศน์ภายในเลียนแบบตามธรรมชาติให้มากที่สุด (รูปที่ 2) จากนั้นดำเนินงานวิจัยดังหัวข้อต่อไปนี้

รูปที่ 2 โรงเรือนเพาะเลี้ยงนกกระเรียนไทยของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว

1. การจำแนกเพศ และอายุของนกกระเรียนไทย

เราไม่สามารถที่จะทำการแยกเพศของนกกระเรียนไทยจากลักษณะภายนอกที่มองเห็น ทางสวนสัตว์เปิดเขาเขียวได้เชิญผู้เชี่ยวชาญจากมูลนิธินกกระเรียนนานาชาติ (ICF) มาทำการแยกเพศและอายุของนกกระเรียนไทย ที่ทางสวนสัตว์เปิดเขาเขียวมีอยู่

2. การศึกษาการจับคู่เพื่อการผสมพันธุ์

หลังจากที่ได้ทราบเพศ และอายุของนกกระเรียนไทยแล้ว ทำการจับคู่นกกระเรียนที่เหมาะสมให้มาอยู่ด้วยกัน ให้นกกระเรียนเพศเมียมีอายุมากกว่าเพศผู้ วิธีการจับคู่ใช้วิธีการบังคับให้นกกระเรียนเลือก หลังจากการปล่อยให้นกกระเรียนอยู่ร่วมกันแล้ว ทำการศึกษาพฤติกรรมที่นกกระเรียนทั้งคู่แสดงออกว่าเป็นพฤติกรรมที่เป็นมิตร หรือเป็นพฤติกรรมการก้าวร้าว ถ้าพบพฤติกรรมการก้าวร้าวอย่างรุนแรง ทำการแยกนกทั้งคู่ออกจากกันทันที

3. การศึกษาพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของนกกระเรียนไทย

ทำการศึกษาพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของนกกระเรียนไทยที่เลี้ยงอยู่ในสภาพกรงเลี้ยง ซึ่งได้แก่ การเต้นรำ การร้องขับขานคู่ การผสมพันธุ์ การทำรังการวางไข่ การกกไข่ การฟักไข่ และการเลี้ยงลูก

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การจำแนกเพศ และอายุของนกกระเรียนไทย

การจำแนกเพศ และอายุของนกกระเรียนไทยจากการรายงานของ ICF พบว่าการเลือกคู่ของนกกระเรียนเป็นสัตว์สังคมแบบผัวเดียวเมียเดียว และมีลักษณะภายนอกที่คล้ายกันทั้งสองเพศ จึงยากแก่การจำแนกเพศนกด้วยลักษณะที่เห็นจากภายนอก และยากแก่การเลือกคู่ที่เหมาะสม (Johnsgard, 1983) สวนสัตว์เปิดเขาเขียวได้รับความร่วมมือจาก ICF ซึ่งส่งผู้เชี่ยวชาญมาร่วมในการวิจัยในครั้งนี้ พบว่านกกระเรียนไทยของสวนสัตว์เปิดเขาเขียวที่มีอยู่จำนวน 12 ตัว สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มแรกเป็นนกกระเรียนที่มีอายุระหว่าง 0-3 ปี มีจำนวนอยู่ทั้งสิ้น 6 ตัว คาดว่าเป็นเพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 4 ตัว

กลุ่มที่สองเป็นนกกระเรียนที่มีอายุ 3 ปีขึ้นไป มีจำนวนทั้งสิ้น 6 ตัว เป็นเพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 4 ตัว

2. การศึกษาการจับคู่เพื่อการผสมพันธุ์

หลังจากที่ได้ทราบเพศและอายุของนกกระเรียนไทย ได้ทำการจับคู่นกเพื่อผสมพันธุ์ โดยใช้วิธีการบังคับให้นกเลือก หลักการในการจับคู่การผสมพันธุ์ คือ ให้นกกระเรียนตัวเมียมีอายุมากกว่านกตัวผู้ ทำการจับคู่นกกระเรียนได้ 3 คู่ คือ

กรงที่ 1 นกกระเรียนเบอร์ TH1 (เพศเมีย) และ TH2 (เพศผู้)

กรงที่ 2 นกกระเรียนเบอร์ TH11 (เพศเมีย) และTH3 (เพศผู้)

กรงที่ 3 นกกระเรียนเบอร์ TH4 (เพศเมีย) และ TH7 (เพศผู้)

จากการศึกษาของ ICF พบว่าการที่มนุษย์บังคับให้นกกระเรียนเลือกผสมพันธุ์ ให้ผลที่ดีกว่าการให้นกเป็นตัวเลือกด้วยตัวของมันเอง การเลือกคู่โดยการบังคับให้เลือก หมายถึงมนุษย์เป็นผู้กำหนดการเข้าคู่กันของนก ถ้านกไม่ยอมเข้าคู่กันจะลองเปลี่ยนเป็นตัวอื่น มีโอกาสประสบความสำเร็จในการจับคู่นกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้านกเลือกเองในลักษณะที่มีการอยู่เป็นฝูง ตัวที่เป็นจ่าฝูงจะมีโอกาสได้รับการเลือกก่อน เพราะนกตัวเมียเป็นผู้เลือกตัวผู้ โดยจะมีโอกาสประสบความสำเร็จเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ การจับคู่กันของนกกระเรียนเป็นการจับคู่ที่ยาวนาน นกจะใช้ชีวิตอยู่ร่วมกัน ทำกิจวัตรร่วมกัน นกกระเรียนเป็นนกที่สามารถทำร้ายกันถึงขั้นที่จะทำให้ตัวที่ถูกทำร้ายตายได้ การบังคับให้นักเลือกคู่ ควรที่จะให้นกตัวเมียมีอายุมากกว่า เนื่องจากในบางกรณีตัวเมียที่มีอายุน้อยเกินไป จะไม่สามารถเรียนรู้พฤติกรรมการผสมพันธุ์ได้ (Mirande and Archibald, 1988)

ปล่อยให้นกกระเรียนอยู่ในกรงเลี้ยงที่ติดกันและป้องกันไม่ให้มีการมองเห็นจากนกตัวอื่น ศึกษาพฤติกรรมที่นกทั้งคู่ได้แสดงออกว่าเป็นพฤติกรรมที่เป็นมิตร หรือพฤติกรรมการก้าวร้าว ถ้าเป็นพฤติกรรมการก้าวร้าวอย่างรุนแรง ต้องแยกนกออกจากกันทันที จากการศึกษาพบพฤติกรรมได้ทั้งที่เป็นมิตร และการก้าวร้าว

พฤติกรรมการก้าวร้าว พบว่าเมื่อนกกระเรียนไทยมีการไซ้ขนในลักษณะเทียม (ไม่ตั้งใจที่จะให้ขนเรียบ) เร็ว ๆ ในส่วนของหาง ต้นคอ เป็นการแสดงพฤติกรรมกระวนกระวายในระดับต้น การทำอาการหดคอ พองขน เป็นการบ่งบอกถึงอาการไม่ชอบมากขึ้น ถ้านกไม่ชอบมากขึ้นจะมีการแสดงท่าชูหัวให้สูง กางปีก และกระพือปีก พองขน ซึ่งถ้าหากอีกตัวหนึ่งไม่แสดงอาการยอมแพ้ หรือยอมรับการผสมพันธุ์ นกจะแสดงพฤติกรรมระดับต่อไป คือ กางปีก ชูคอ และย่อขา

พฤติกรรมการก้าวร้าวอย่างหนึ่ง คือ การเดินในลักษณะเตะเท้าออกเหมือนทหาร ตบพื้นเต็มเท้า นิ้วเท้าไม่หุบ ทำตัวให้สูงที่สุด เดินช้า ๆ เป็นลักษณะขู่ก่อนเข้าต่อสู้ นกสามารถบังคับให้ส่วนที่มีสีแดงที่หัวยืดออก หรือหดสั้นได้ ถ้าหากสีแดงเข้มมากและมีพื้นที่เพิ่มขึ้น แสดงถึงพฤติกรรมการก้าวร้าว การแสดงความไม่พอใจมากขึ้นอีกระดับหนึ่ง คือ การทิ้งปีกไปข้างตัว แล้วหันไปไซ้ขนบนปีกข้างนั้น จะทำตัวให้ดูใหญ่ขึ้น และเป็นการแสดงให้เห็นส่วนสีแดงที่อยู่บนหัวอย่างชัดเจน และจากการศึกษาในนกกระเรียนไทยพบว่าเป็นนกที่พร้อมที่จะโจมตีได้ตลอดเวลา จากทุกอิริยาบท

พฤติกรรมที่เป็นมิตร พฤติกรรมที่เป็นมิตรที่สำคัญ คือ การที่นกกระเรียนไทยทั้งสองตัวช่วยกันร้องขับขานคู่ นอกจากเป็นขั้นตอนของการเลือกคู่แล้วยังเป็นการแสดงอาณาเขต พฤติกรรมอีกอย่างหนึ่งที่เป็นมิตร คือ การเลียนแบบซึ่งกันและกัน การเดินไปมาพร้อมกัน การร้องเพื่อการปกป้องอาณาเขตพร้อมกัน การขยับร่างกายด้วยกริยาเดียวกัน

ภายหลังจากที่นกกระเรียนไทยทั้งคู่แสดงพฤติกรรมที่เป็นมิตร ทำการจับนกกระเรียนเพศผู้เข้าหาเพศเมีย เนื่องจากเฉพาะเพศผู้เท่านั้นที่หวงอาณาเขต หลังจากปล่อยนกทำการเฝ้าสังเกตพฤติกรรมอย่างใกล้ชิด พฤติกรรมที่เป็นมิตรภายหลังจากที่ปล่อยนกกระเรียนทั้งคู่แล้ว ได้แก่ การผลัดกันยกหัวขึ้นลง เพศผู้เต้น และเพศเมียเต้นตอบ ผลัดกันยกหัวสลับตัวหนึ่งขึ้น อีกตัวหนึ่งลง แต่ถ้านกมีการยกหัวขึ้นลงพร้อมกันคล้ายการเผชิญหน้า จะเป็นการแสดงพฤติกรรมการก้าวร้าว จากการปล่อยให้นกกระเรียนไทย 3 คู่ อยู่ร่วมกัน พบว่านกกระเรียนไทยทั้ง 3 คู่ ของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว สามารถแสดงพฤติกรรมในทางบวกทุกคู่ และสามารถผสมพันธุ์ 1 คู่ ได้ลูกนกกระเรียนไทยจำนวน 1 ตัว (ปัจจุบันยังไม่ทราบเพศของลูกนก)

3. การศึกษาพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของนกกระเรียนไทย

นกกระเรียนไทยของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว 1 คู่ สามารถแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์ ซึ่งแยกเป็นพฤติกรรมย่อยได้ดังนี้

พฤติกรรมการเต้นรำ นกกระเรียนไทยเพศผู้เป็นฝ่ายเริ่มเต้นรำก่อน ตัวเมียที่เป็นคู่กันจะเต้นรำโต้ตอบ การเต้นรำโดยการยกหัวขึ้นลงสลับกันทำซ้ำ ๆ เช่นนี้เรื่อย ๆ ไป

พฤติกรรมการร้องขับขานคู่ นกกระเรียนไทยเพศผู้เป็นฝ่ายชูคอร้องก่อน แล้วกางปีกทั้งสองข้างออก เพื่อเป็นการดึงดูดความสนใจจากนกเพศเมีย นกเพศเมียที่เป็นคู่กันจะร้องโต้ตอบเป็นจังหวะ

พฤติกรรมการผสมพันธุ์ ก่อนที่นกกระเรียนไทยจะผสมพันธุ์ นกจะมีพฤติกรรมการเต้นรำและการร้องขับขานคู่ก่อน วิธีการผสมพันธุ์นกกระเรียนเพศผู้จะขึ้นทับนกเพศเมีย โดยใช้เท้าเกาะด้านไหล่ของนกเพศเมีย

พฤติกรรมการทำรัง นกกระเรียนเริ่มทำการสร้างรังในช่วงต้นเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2543 ซึ่งอยู่ในช่วงฤดูฝน ใช้ระยะเวลาในการสร้าง 1 สัปดาห์ นกเพศเมียเป็นฝ่ายสร้างรัง นกเพศผู้คอยปกป้อง

อาณาเขต รังมีรูปร่างกลมคล้ายกระจาด มีความกว้างประมาณ 2 ฟุต มีความสูงประมาณ 10 นิ้ว วัสดุที่ใช้ทำรังประกอบด้วยเศษใบไม้ เศษหญ้าแห้ง เศษกิ่งไม้ ที่นกหาได้ภายในบริเวณกรงเลี้ยง รังของนกตั้งอยู่บนพื้นดินใกล้กับสระน้ำในกรงเลี้ยง

พฤติกรรมการกกไข่ นกกระเรียนเพศเมียวางไข่ 1 ชุด มีจำนวน 2 ฟอง เริ่มทำการวางไข่ฟองแรกในวันที่ 25 มิถุนายน พ.ศ. 2543 ฟองที่ 2 ในวันที่ 27 มิถุนายน พ.ศ. 2543 ไข่มีรูปร่างรียาว สีขาว ผิวเรียบไม่ขรุขระ บริเวณส่วนป้านมีจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก กระจายอยู่ทั่วไป เนื่องจากนกกระเรียนหวงถิ่นที่อยู่อาศัย ทำให้ไม่สามารถเข้าไปสังเกตไข่ใกล้ ๆ ได้ จึงทำการส่องดูไข่ด้วยกล้องส่องทางไกล ไข่ของนกกระเรียนไทยมีความกว้าง x ยาว ประมาณ 6 x 10 เซนติเมตร และมีน้ำหนักประมาณ 200 กรัม นกกระเรียนไทยทั้งเพศผู้และเพศเมียช่วยกันกกไข่ แต่ในช่วงตอนกลางคืนแม่นกทำหน้าที่กกไข่ตลอดเวลา นกเริ่มทำการกกไข่เมื่อวันที่ 28 มิถุนายน ลูกนกกระเรียนฟักออกมาเพียงตัวเดียวเมื่อวันที่ 30 กรกฎาคม รวมระยะเวลาในการกกไข่ 34 วัน

พฤติกรรมการเลี้ยงลูก ลูกนกกระเรียนไทยเมื่อฟักออกจากไข่จะมีขนอุยปกคลุมอยู่ทั่วตัว และสามารถลืมตาได้ ขนปกคลุมตัวมีสีน้ำตาลเทา บริเวณหัวและคอมีสีน้ำตาลอมเหลือง ขนข้างอกและท้องมีสีขาว จากการสังเกตพฤติกรรมของลูกนกกระเรียนไทย พบว่าเมื่อลูกนกออกมาจากไข่ใหม่ ๆ จะนอนพักอยู่บนรังประมาณครึ่งวัน จากนั้นลูกนกจะออกมาจากรัง นกกระเรียน เพศเมียจะรื้อรังออก และจิกอาหารมาป้อนลูกนก ในช่วงแรกลูกนกอยู่กับพ่อ-แม่นกตลอดเวลา แต่ในขณะที่คนเลี้ยงนำเอาอาหารไปให้ลูกนกจะวิ่งหนีหลบซ่อนตามกอหญ้า ส่วนพ่อ-แม่นกจะวิ่งมาปกป้องลูก โดยแสดงท่าทีจะทำร้ายคนเลี้ยง ภายหลังจากที่ลูกนกกระเรียนมีอายุได้ประมาณ 3 สัปดาห์ ลูกนกสามารถออกมากินอาหารที่คนเลี้ยงได้เตรียมไว้ให้กับพ่อ-แม่นก แต่พ่อ-แม่นกยังคงต้องป้อนอาหารให้กับลูกนก เมื่อมีอายุ 2 เดือน ลูกนกสามารถกินอาหารได้เอง แต่ยังคงหลบซ่อนตัวเวลาที่คนเลี้ยงไปให้อาหาร (รูปที่ 3 ลูกนกกระเรียนที่มีอายุ 2 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ)

ลูกนกกระเรียนอายุ 2 สัปดาห์

ลูกนกกระเรียนอายุ 4 สัปดาห์

รูปที่ 3 ลูกนกกระเรียนไทยของสวนสัตว์เปิดเขาเขียวที่เกิดในสภาพกรงเพาะเลี้ยง

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการรวบรวมข้อมูลพื้นฐานนกกระเรียนไทย พบว่าสามารถทำการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์นกกระเรียนไทยได้ในสภาพกรงเลี้ยง นกสามารถแสดงพฤติกรรมต่าง ๆ ได้เหมือนกับที่อยู่ในธรรมชาติ การขยายพันธุ์นกกระเรียนไทยมีประโยชน์อย่างมากต่อการอนุรักษ์นกกระเรียนไทยที่ได้สูญพันธุ์ไปจากแหล่งธรรมชาติเดิมแล้ว และจะเอื้อประโยชน์ต่อการปล่อยนกกระเรียนไทยกลับคืนสู่ธรรมชาติต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายธนภัทร พงษ์ภมร ผู้อำนวยการสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ที่ได้สนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณนักวิชาการ เจ้าหน้าที่สวนสัตว์สัตว์เปิดเขาเขียวทุกท่าน ที่ได้ช่วยเหลือการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กลมทิทย์ กสิการ์ และปานัฏสิริ จันทร์ศิริ. (2536). นกกระเรียนไทย. สีมาจารย์. 8(15):80-88.

เกษม วงศ์เจริญ. (2531). การสัมมนาสัตว์ป่าเมืองไทย. คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุญส่ง เลขะกุล. (2538). ธรรมชาตินานาสัตว์. เล่ม 2. สำนักพิมพ์สารคดี: กรุงเทพฯ.

บุปผา อ่ำเกตุ และศิริพร ทองอารีย์. (2527). การสัมมนาสัตว์ป่าเมืองไทย. คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ภิญญาพร นิตยะประภา. (2534). นกกระเรียน. กรุงเทพฯ : โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์.

สุมิตรา มาถาวร. (2541). พืชและสัตว์ป่าสงวนในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: ฐานการพิมพ์.

Archibald, W.G. (1980). Crane as revealed by the unison call. Proceedings of the International Workshop. p.225-251.

Archibald, W.G. and Swengle, T.S. (1985). Comparative ecology and behavior of eastern sarus crane and brolgas in Australia. Proceedings of the Crane Workshop. p.510-532.

Forshaw, J. (1991). Encyclopedia of Animal Birds. London: Merehurst Press.

Johnsgard, P.A. (1983). Cranes of the World. California: Indian University Press.

King, B. and Dickinson, P. (1975). Field Guide to the Birds of South-East Asia. London: Prentice-Hall International.

Mirande, M.C. (1985). Captive breeding and reintroduction program for the eastern sarus crane. AAZPA Annual Proceedings. p.134-148.

Mirande, M.C. and Archibald, W.G. (1988). Sexual maturity and pair formation in captive crane at the International Crane Foundation. Proceedings of the Crane Workshop. p.276-284.

Mirande, M.C., Ellis, S. and Seal, U. (1992). Crane conservation assessment and management plan. Collaborative Workshop. August 9-15, 1992. Calgary, Canada.

Putnum, S.M. (1981). Refined techniques in crane propagation at the International Crane Foundation. Proceedings of the Crane Workshop. p.98-102.

❐❐❐❐❐❐❐

ว. วิทย. มข. 32(1) : 53-69 (2547) KKU Sci. J. 32(1) : 53-69 (2004)

ความหลากหลายของโปรโตซัวในแม่น้ำพอง จังหวัดขอนแก่น

พินิจ หวังสมนึก[1], ภูวฎณ กรพันธุ์[1] และสมพงษ์ ดุลย์จินดาชบาพร[2]

บทคัดย่อ

การสำรวจโปรโตซัวในบางพื้นที่ของแม่น้ำพอง จังหวัดขอนแก่น ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2544 ถึงเดือนมิถุนายน 2545 รวมระยะเวลา 12 เดือน พบโปรโตซัว 13 class รวมทั้งสิ้น 78 ชนิด คือ Class Karyorelictea 1 ชนิด Class Spirotrichea 8 ชนิด Class Prostomatea 2 ชนิด Class Litostomatea 4 ชนิด Class Phyllopharyngea 4 ชนิด Class Nassophorea 2 ชนิด Class Oligohymenophorea 7 ชนิด Class Euglenoidea 32 ชนิด Class Phytomonadea 3 ชนิด Class Cryptomonadea 1 ชนิด Class Dinoflagellata 2 ชนิด Class Lobosea 11 ชนิด และ Class Heliozoea 1 ชนิด โปรโตซัวส่วนใหญ่มีการกระจายตัวคล้ายกันในทุกสถานีที่เก็บตัวอย่าง ส่วน Class Phyllopharyngea พบการกระจายตัวค่อนข้างน้อย โปรโตซัวที่พบจำนวนมาก มี 5 ชนิด คือ *Aspidisca costata, Coleps hirtus, Cyclidium glaucoma, Peranema trichophorum* และ *Chilomonas paramecium* โปรโตซัวที่อาจใช้เป็นดัชนีชีวภาพบ่งบอกคุณภาพน้ำเสียได้มี 15 ชนิด คือ *Aspidisca costata, Chilodonella cucullulus, Cyclidium glaucoma, Euplotes aediculatus, Entosiphon* sp., *Euglena caudata, E. ehrenbergii, Phacus torta, Trachelomonas armata, Trachelomonas* sp.3, *Trachelomonas* sp.4, *Chlamydomonas* sp., *Pandorina morum, Glenodinium* sp. และ *Podophrya fixa* สำหรับการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพและทางเคมีบางประการพบว่า อุณหภูมิของน้ำมีค่า 22.0-31.5 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่า 3.1-6.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอชมีค่า 7.1-7.7 การนำไฟฟ้ามีค่า 143.7-2,690 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำมีค่า 88.9-1,788 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเค็มมีค่า 0.0-0.5 ส่วนในพัน คุณภาพน้ำในสถานีเก็บตัวอย่างน้ำต่างๆ จัดเป็นแหล่งน้ำประเภทที่ 2, 3, 4 และ 5 ตามมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำจืดผิวดิน

Abstract

The investigation of protozoa in some areas of the Phong River, Khon Kaen province was made at two-month intervals between July 2001 and June 2002. Thirteen classes and seventy-eight species of protozoa were recorded; one species of Class Karyorelictea, eight species of Class Spirotrichea, two species of Class Prostomatea, four species of Class Litostomatea, four species of Class Phyllopharyngea, two species of Class Nassophorea, seven species of Class Oligohymenophorea, thirty-two species of Class Euglenoidea, three species of Class Phytomonadea, one species of Class Cryptomonadea, two species of Class Dinoflagellata, eleven species of Class Lobosea, and one species of Class Heliozoea. Almost all of the protozoa but Class Phyllopharyngea had similar distribution at all stations. Five species of protozoa were abundant: *Aspidisca*

[1] *ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ. ขอนแก่น 40002*

[2] *ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ. ขอนแก่น 40002*

costata, Coleps hirtus, Cyclidium glaucoma, Peranema trichophorum and *Chilomonas paramecium.* Fifteen species of protozoa that may be used as a bio-indicator of water quality were recorded: *Aspidisca costata, Chilodonella cucullulus, Cyclidium glaucoma, Euplotes aediculatus, Entosiphon* sp., *Euglena caudata, E. ehrenbergii, Phacus torta, Trachelomonas armata, Trachelomonas* sp.3, *Trachelomonas* sp.4 *Chlamydomonas* sp., *Pandorina morum, Glenodinium* sp. and *Podophrya fixa.* Values were recorded for water temperature (22.0-31.5°C), dissolved oxygen (3.1-6.2 mg/l), pH (7.1-7.7), electrical conductivity (143.7-2,690 µS/cm), total dissolved solids (88.9-1,788 mg/l) and salinity (0.0-0.5 ppt). Water quality of sample sites were at level 2, 3, 4 and 5 according to the Thai Water Pollution Standard.

บทนำ

โปรโตซัวเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่มีลักษณะคล้ายสัตว์ บางชนิดคล้ายทั้งพืชและสัตว์ ทำให้มีความเหลื่อมซ้อนในการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตโปรโตซัวพบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย น้ำเค็ม และในดิน มีการดำรงชีวิตแบบอิสระและอาศัยอยู่กับสิ่งมีชีวิตอื่น (Kudo, 1966) การศึกษาโปรโตซัวในแหล่งน้ำในประเทศไทยส่วนใหญ่เน้นเกี่ยวกับความหลากหลายของโปรโตซัวในแหล่งน้ำจืดแบบต่างๆ เช่น ธนู มะระยงค์ และคณะ (2540) สำรวจโปรโตซัวบางบริเวณของแม่น้ำปิง อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน พบโปรโตซัว 16 ชนิด สบชัย สุวัฒนคุปต์ และคณะ (2540) สำรวจโปรโตซัวบริเวณแม่น้ำลี้ อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน พบโปรโตซัว 22 ชนิด อินทิรา ปรุงเกียรติ (2542) ศึกษาความหลากหลายของโปรโตซัวและคุณภาพน้ำในคลองแม่ข่า จังหวัดเชียงใหม่ พบโปรโตซัว 104 ชนิด พินิจ หวังสมนึก และคณะ (2545) สำรวจโปรโตซัวในเขื่อนอุบลรัตน์ จังหวัดขอนแก่น พบโปรโตซัว 47 ชนิด แต่ก็มีบ้างที่พยายามจะหาชนิดของโปรโตซัวเพื่อใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพน้ำ เช่น บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์ (2532) ศึกษาชนิดของโปรโตซัวเพื่อใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพน้ำของบึงมักกะสัน พบโปรโตซัวรวมทั้งสิ้น 74 สกุล พบว่ามีโปรโตซัวจำนวน 30 สกุล สามารถนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพน้ำของบึงมักกะสันได้

แม่น้ำพองเป็นแม่น้ำสายสำคัญสายหนึ่งของภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งมีลุ่มน้ำที่ครอบคลุมพื้นที่หลายจังหวัด น้ำจากแม่น้ำพองถูกนำมาใช้อุปโภคและบริโภค ใช้เป็นเส้นทางการคมนาคม การเกษตรกรรม การประมง และอุตสาหกรรม โดยเฉพาะในเขตจังหวัดขอนแก่น ซึ่งมีระยะการไหลผ่านยาว และมีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตามมีการปล่อยสารเคมีและทิ้งสิ่งปฏิกูลลงไปทำให้แม่น้ำพองเกิดการเน่าเสีย ทำให้สิ่งมีชีวิตหลายชนิดตาย จนต้องมีการปรับปรุงแก้ไขให้สภาพของแม่น้ำพองกลับสู่สภาพเดิมในช่วงหลายปีที่ผ่านมา (สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6, 2542) งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายและนิเวศวิทยาบางประการของโปรโตซัวในแม่น้ำพอง รวมทั้งสำรวจชนิดของโปรโตซัวที่อาจใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำ โดยนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับชนิดของโปรโตซัวที่ตรวจพบในแหล่งน้ำสะอาดบริเวณเหนือเขื่อนอุบลรัตน์และรายงานการศึกษาในแหล่งน้ำอื่นๆ โดยคาดว่าผลการศึกษาครั้งนี้น่าจะใช้เป็นพื้นฐานทางอนุกรมวิธานของโปรโตซัวในแหล่งน้ำจืด และใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานด้านความหลากหลายของโปรโตซัวในแหล่งน้ำประเภทต่างๆ

วิธีดำเนินการ

กำหนดจุดเก็บตัวอย่างน้ำตามตำแหน่งต่างๆ ของบริเวณแม่น้ำพอง ซึ่งแต่ละจุดมีความแตกต่างกันในลักษณะของน้ำ (เริ่มจากบริเวณใต้เขื่อนอุบลรัตน์ไปจนถึงบริเวณฝายหนองหวาย) จังหวัดขอนแก่น 7 สถานี (รูปที่ 1) ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2544

ถึงเดือนมิถุนายน 2545 (เก็บสถานีละ 3 ซ้ำ จำนวน 2 เดือน/ครั้ง โดยเก็บทุกสัปดาห์ที่สองของเดือน ตั้งแต่เวลา 08.00-16.30 น. รวม 6 ครั้ง) เก็บตัวอย่างโปรโตซัวที่ระยะห่างจากฝั่ง 1, 5 และ 8 เมตร โดยใช้ถุงลากแพลงก์ตอนขนาดตาถี่ 20 ไมโครเมตร และใช้กระบอกตักน้ำบริเวณผิวน้ำที่อยู่ใกล้ฝั่งโดยไม่ต้องกวนให้ได้ฝ้าที่ลอยอยู่ รวมทั้งเก็บเศษอินทรีย์วัตถุเน่าเปื่อย และพืชน้ำในบริเวณสถานีที่เก็บตัวอย่าง ระยะกว้างของการเก็บในแต่ละสถานีประมาณ 25 เมตร ตรวจวัดคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพและเคมี โดยบันทึกสีและกลิ่นของน้ำ วัดค่าอุณหภูมิของอากาศและน้ำ พีเอช ความเค็มของน้ำ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ และค่าการนำไฟฟ้า ทุกสถานีที่เก็บตัวอย่าง

วิธีการศึกษาในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยดูดตัวอย่างน้ำที่ผิวน้ำภายใน ขอบภาชนะ รวมทั้งที่ผิวหน้าดิน นำไปตรวจหาโปรโตซัวด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาชนิดใช้แสง (compound microscope) ถ่ายรูป และวาดภาพออร์กาเนลล์ต่างๆ ของโปรโตซัวเพื่อจัดจำแนกชนิดโปรโตซัวอีก ส่วนหนึ่งนำไปเพาะเลี้ยงเพื่อตรวจหาชนิดที่อาจเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณในอาหารที่เพาะเลี้ยง เช่น น้ำต้มฟาง

เอกสารหลักที่ใช้ประกอบการจัดจำแนก คือ โอภาส ศรีนวลละออง (2523), เชิดพันธ์ มูรธานันท์ (2526), บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์ (2532 และ 2539), อินทิรา ปรุงเกียรติ (2540 และ 2542), Kudo (1966), Janh et al. (1979), Farmer (1980), Lee et al. (1985), Foissner and Berger (1996), และ Hausmann and Hulsmann (1996) สำหรับการจัดจำแนกหมวดหมู่ของโปรโตซัวยึดตามวิธีการของ Hausmann and Hulsmann (1996)

ผลการศึกษา

การสำรวจความหลากหลายของโปรโตซัว

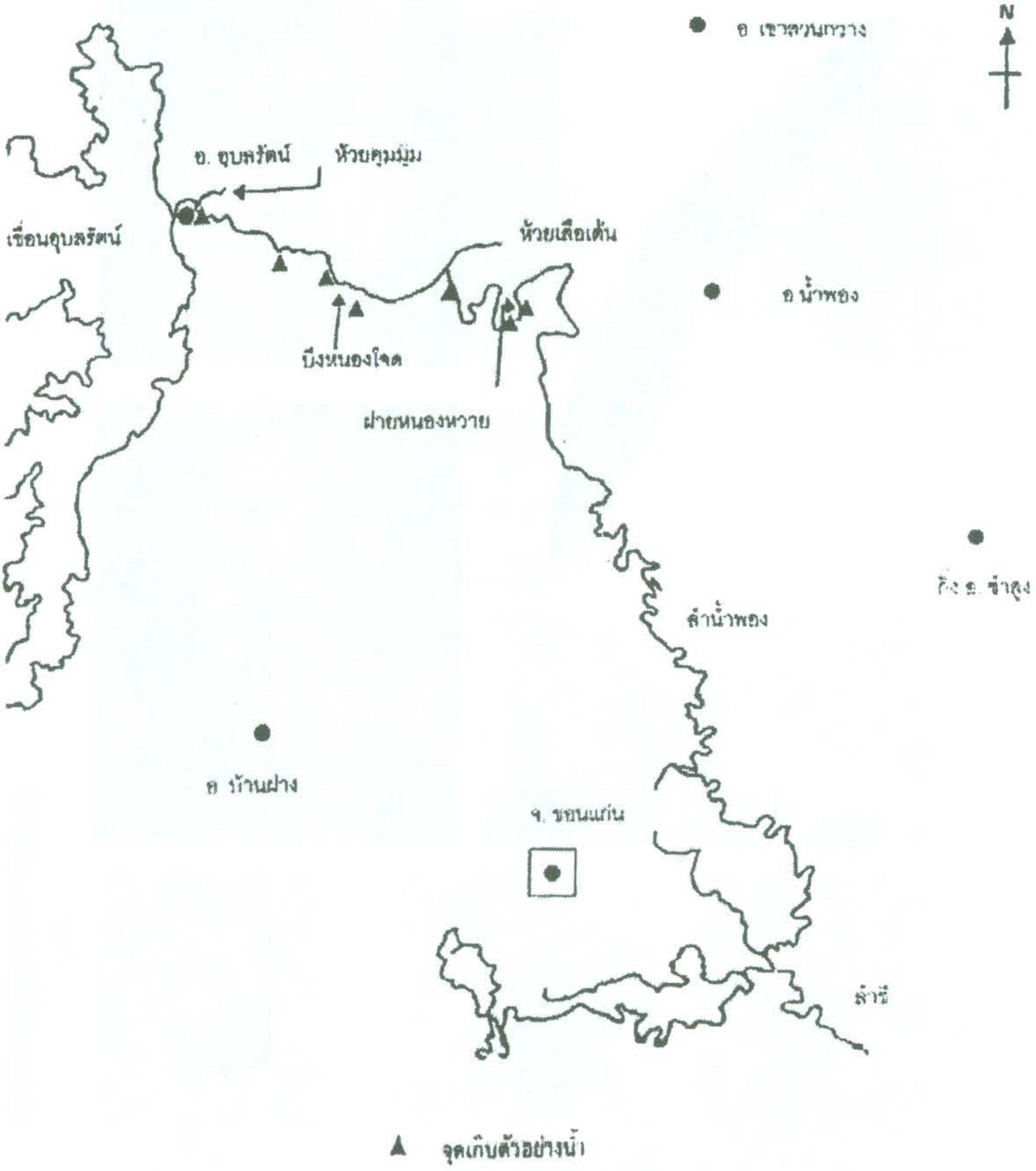
การสำรวจโปรโตซัวในแม่น้ำพองจากบริเวณใต้เขื่อนอุบลรัตน์ไปจนถึงฝายหนองหวาย พบโปรโตซัวรวมทั้งสิ้น 13 class จำนวน 78 ชนิด โดยแบ่งเป็น Subphylum Ciliophora ได้แก่ *Aspidisca costata, Chilodonella cucullulus, C. uncinata, Cinetochilum margaritacum, Coleps hirtus, Coleps octospinus, Cyclidium glaucoma, Didinium nasutum, Dileptus anser, Euplotes aediculatus, E. patella, Halteria grandinella, Lacrymaria olor, Loxocephalus plagius, Loxodes rostrum, Paramecium aurelia, P. caudatum, Podophrya fixa, Spirostomum* sp., *Stentor coeruleus, S. polymorphus, Stylonychia mytilus, Tetrahymena pyriformis, Trachelophyllum clavatum, Urocentrum turbo, Uronema* sp., *Vorticella campanula* และ *V. convallaria Subphylum Euglenida* ได้แก่ *Entosiphon sulcatum, Entosiphon* sp., *Euglena acus, E. caudata, E. deses, E. enrenbergii, E. polymorpha, E. poxima, E. oxyuris, E. spiroides, Euglena* sp.1, *Euglena* sp.2, *Euglena* sp.3, *Euglena* sp.4, *Peranema trichophorum, Phacus acuminata, P. alata, P. longicauda, P. pleuronectes, P. pyrum, P. torta, Phacus* sp.1, *Phacus* sp.2, *Trachelomonas armata, T. hispida, T. horida, T. urceolata, Trachelomonas* sp.1, *Trachelomonas* sp.2, *Trachelomonas* sp.3 และ *Trachelomonas* sp.4 *Phylum Chlorophyta* ได้แก่ *Chlamydomonas* sp., *Pandorina morum* และ *Synura uvella Subphylum Cryptomonada* ได้แก่ *Chilomonas paramecium Subphylum Dinoflagellata* ได้แก่ *Ceratium hirundinella* และ *Glenodinium* sp. กลุ่ม Amoebozoa ได้แก่ *Amoeba dubia, Amoeba gorgonia, A. proteus, A. radiosa, Mayorella* sp., *Pelomyxa carolinensis, P. palustris, Arcella dentata, A. discoides, A. vulgaris, Arcella* sp. และ Difflugia acuminata กลุ่ม Actinopoda ได้แก่ *Actinophrys sol* (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS พบว่าโปรโตซัวในบางสถานีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ สถานีที่พบจำนวนชนิดมาก มี 3 สถานี (สถานีที่ 1, 3 และ 4) กลุ่มที่ 2 สถานี

ที่พบปานกลาง มี 3 สถานี (สถานีที่ 2, 5 และ 6) และกลุ่มที่ 3 สถานีที่พบจำนวนชนิดน้อย มี 1 สถานี (สถานีที่ 7) ทั้งนี้ในแต่ละสถานีมีการกระจายตัวคล้ายกัน โปรโตซัวที่พบบ่อยและมีจำนวนมาก มี 5 ชนิด คือ *Aspidisca costata, Coleps hirtus, Cyclidium glaucoma, Peranema trichophorum* และ *Chilomonas paramecium* โปรโตซัวที่พบบ่อยแต่จำนวนไม่มาก มี 9 ชนิด คือ *Chilodonella cucullulus, Lacrymaria olor, Paramecium cuadatum, Euglena acus, Phacus longicuada, P. pleuronectes, P. torta, Chlamydomonas sp.* และ *Ceratium hirundinella* โปรโตซัวที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ 16 ชนิด ได้แก่ *Spirostomum* sp., *Uronema* sp., *Chlamydomonas* sp., *Entosiphon* sp., *Euglena* sp.1, *Euglena* sp.2, *Euglena* sp.3, *Euglena* sp.4, *Glenodinuim* sp., *Phacus* sp.1, *Phacus* sp.2, *Trachelomonas* sp.1, *Trachelomonas* sp.2, *Trachelomonas* sp.3, *Trachelomonas* sp.4 และ *Mayorella* sp. โปรโตซัวที่ยังไม่เคยมีรายงานว่าพบในประเทศไทย มีจำนวน 9 ชนิด คือ *Anisonema emerginatum, Entosiphon* sp., *Euglena* sp.1, *Euglena* sp.2, *Euglena* sp.3, *Euglena* sp.4, *Trachelomonas* sp.1, *Trachelomonas* sp.3 และ *Trachelomonas* sp.4 (ตารางที่ 1)

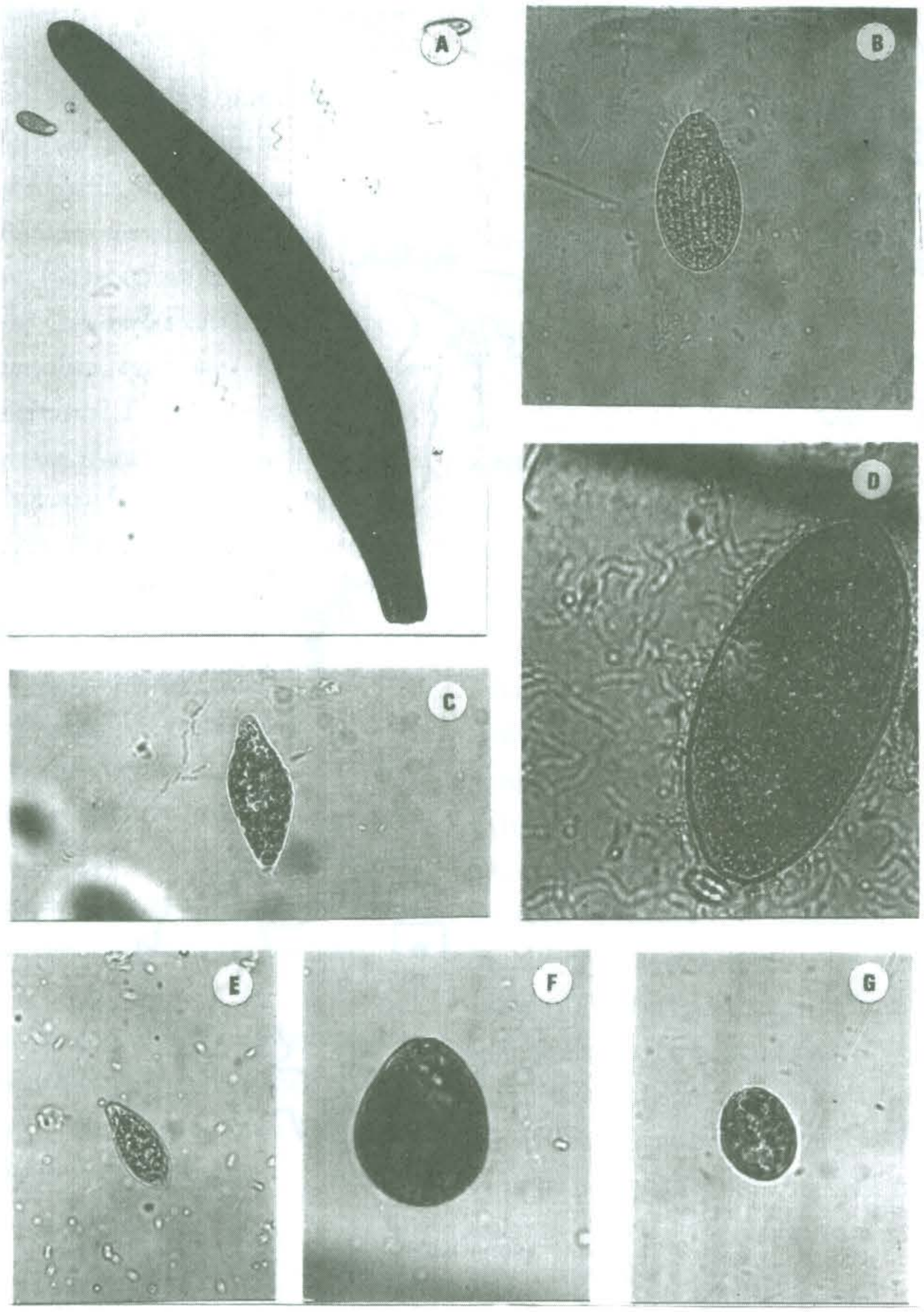
ในแต่ละฤดูกาลพบจำนวนชนิดแตกต่างกัน ฤดูที่พบชนิดโปรโตซัวมากที่สุดคือ ฤดูหนาว (73 ชนิด) ส่วนฤดูร้อน (57 ชนิด) และฤดูฝน (60 ชนิด) ไม่แตกต่างกันมากนัก (ตารางที่ 2)

การศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพและเคมีบางประการ

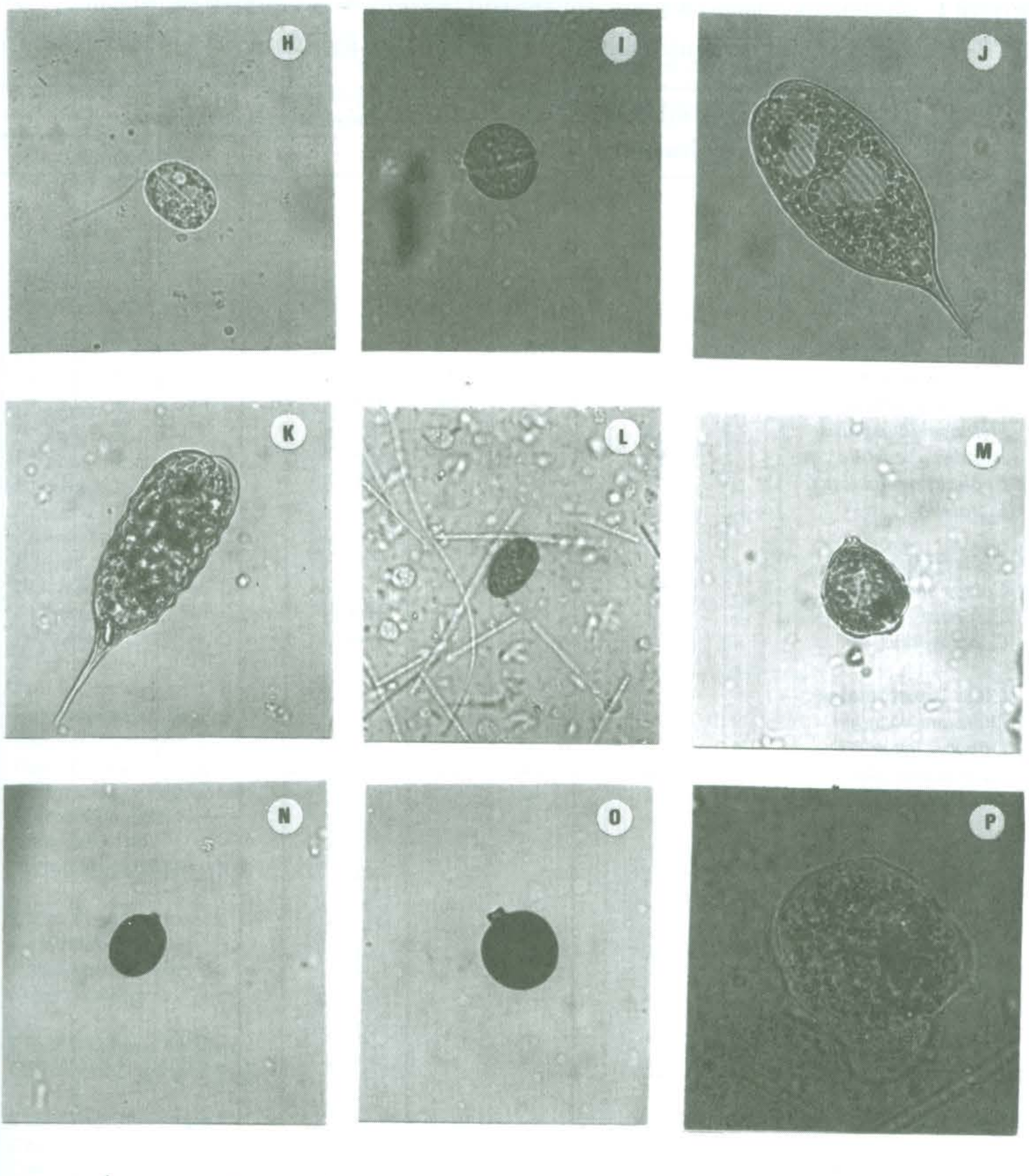
การศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพและเคมีบางประการ พบว่า อุณหภูมิของอากาศมีค่า 21.0-31.5 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของน้ำมีค่า 22.0-31.5 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่า 3.1-6.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าพีเอช 6.1-7.7 ค่าการนำไฟฟ้า 143.7-2,690 ไมโครซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ 100.8-1,788 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเค็มมีค่า 0.0-0.5 ส่วนในพัน (ตารางที่ 3) จากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อดูความสัมพันธ์ของคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพและเคมีบางประการของแม่น้ำพองในแต่ละสถานี พบว่าอุณหภูมิของน้ำ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และค่าพีเอช ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 7 สถานี ($p < 0.01$) ยกเว้นค่าการนำไฟฟ้าและปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) คุณภาพน้ำในแม่น้ำพองจัดออกได้เป็นหลายประเภท คือ เป็นแหล่งน้ำประเภทที่ 2 (สถานีที่ 1,6,7) แหล่งน้ำประเภทที่ 3 (สถานีที่ 2,5) แหล่งน้ำประเภทที่ 4 (สถานีที่ 3) และแหล่งน้ำประเภทที่ 5 (สถานีที่ 4) โดยเทียบตามมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำจืดผิวดินของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2537 ซึ่งใช้ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (ตารางที่ 3) และปริมาณความต้องการทางชีวเคมีโดยอ้างข้อมูลจากรายงานการตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำลำน้ำพองตอนล่าง (ท้ายเขื่อนอุบลรัตน์) ปี 2544 (วิรัช ว่องวัฒนากุล และคณะ, 2544)



รูปที่ 1 แผนที่เขื่อนอุบลรัตน์ แม่น้ำพอง และสถานีเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาโปรโตซัว



รูปที่ 2 ตัวอย่างโปรโตซัวที่จัดจำแนกชนิดไม่ได้: A. *Spirostomum* sp., B. *Uronema* sp., C. *Euglena* sp.1, D. *Euglena* sp.4, E. *Euglena* sp.2, F. *Euglena* sp.3 และ G. *Chlamydomonas* sp.



รูปที่ 2 ตัวอย่างโปรโตซัวที่จัดจำแนกชนิดไม่ได้ (ต่อ): H. *Entosiphon* sp., I. *Glenodinium* sp., J. *Phacus* sp.1, K. *Phacus* sp.2, L. *Trachelomonas* sp.1, M. *Trachelomonas* sp.2, N. *Trachelomonas* sp.3, O. *Trachelomonas* sp.4 และ P. *Mayorella* sp.

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบชนิดและความชุกชุมสัมพัทธ์ของโปรโตซัวที่พบในเขื่อนอุบลรัตน์ (พินิจและคณะ, 2545) กับชนิดของโปรโตซัวที่พบในแม่น้ำพอง (ใต้เขื่อนอุบลรัตน์-ฝายหนองหวาย) จังหวัดขอนแก่น

ชนิดของโปรโตซัว	โปรโตซัวใน เขื่อนอุบลรัตน์	สถานีที่เก็บตัวอย่างโปรโตซัวในแม่น้ำพอง						
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Class Karyorelictea								
Loxodes rostrum	+	+	+	+	+	+	-	-
Class Spirotrichea								
Spirostomum sp.	-	-	+	+	+	-	-	-
Stentor coeruleus	+	+	-	-	+	-	-	-
S. polymorphus	+	++	+	+	-	-	+	-
Halteria grandinella	-	-	++	+++	++	++	-	+
Stylonychia mytilus	+	+	+	+	+	+	+	-
Aspidisca costata	+++	-	-	+++	+++	-	-	-
Euplotes aediculatus	+	-	-	++	+	-	-	-
E. patella	+	+	-	-	+	+	-	-
Class Prostomatea								
Coleps elongatus	+++	-	-	-	-	-	-	-
C. hirtus	+	+++	+++	+++	+++	++	++	+
C. octospinus	-	+	-	+++	++	+	+	-
Class Litostomatea								
Didinium nasutum	-	+	-	+	+	+	-	-
Dileptus anser	-	-	+	-	+	+	-	-
Lacrymaria olor	+	++	++	++	++	++	++	-
Trachelophyllum clavatum	-	+	-	+	+	-	+	-
Class Phyllopharyngea								
Chilodonella cucullulus	-	-	-	++	++	-	-	-
C. uncinata	-	++	+	+	+	+	+	-
Cinetochilum argaritacum	+	++	-	+	+	-	-	-
Podophrya fixa	+	+	-	++	++	-	-	-
Class Nassophorea								
Paramecium aurelia	+	+	+	+	+	+	+	-
P. caudatum	+	++	++	++	++	++	++	++
Class Oligohymenophorea								
Cyclidium glaucoma	+++	-	-	+++	+++	-	-	-
Loxocephalus plagius	-	+	-	+	+	+	-	-
Tetrahymena pyriformis	+	+	+	+	-	-	+	-
Urocentrum turbo	+	+	-	+	+	-	+	-
Uronema sp.	+	+	+	+	+	+	-	-
Vorticella campanula	+	+	-	+	+	-	-	-
V. convallaria	+	+	+	++	-	-	-	-
Class Euglenoidea								
Euglena acus	+	++	++	++	++	++	+	++
E. caudata	-	-	-	+	+	-	-	-
E. deses	+	+	-	+	+	+	-	-
E. ehrenbergii	+	-	-	+	+	-	-	-

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบชนิดและความชุกชุมสัมพัทธ์ของโปรโตซัว (ต่อ)

ชนิดของโปรโตซัว	โปรโตซัวในเยื่อนอุบลรัตน์	สถานีที่เก็บตัวอย่างโปรโตซัวในแม่น้ำพอง						
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Class Euglenoidea								
Euglena polymorpha	-	+	-	-	+	+	-	-
E. poxima	-	+	-	+	-	-	-	-
E. oxyuris	+	+	+	+	+	+	+	+
E. spiroides	+	+	+	+	+	-	+	+
Euglena sp.1	-	-	-	-	+	-	+	-
Euglena sp.2	-	+	-	+	+	+	-	-
Euglena sp.3	-	-	+	+	-	-	+	-
Euglena sp.4	-	-	-	-	+	-	+	-
Phacus acuminata	-	-	+	+	+	+	-	-
P. alata	-	+	-	-	+	+	+	-
P. longicauda	+	++	-	++	++	-	++	+
P. pleuronectes	+	++	++	++	++	++	-	+
P. pyrum	-	-	-	-	+	+	+	-
P. torta	+	-	-	++	++	-	-	-
Phacus sp.1	+	+	-	+	-	-	+	+
Phacus sp.2	+	+	-	+	+	+	-	+
Trachelomonas armata	+	-	-	+	+	-	-	-
T. hispida	-	-	+	-	+	-	-	+
T. horida	-	+	+	+	+	-	+	-
T. urceolata	-	-	-	+	+	+	+	-
Trachelomonas sp.1	-	-	-	+	-	-	-	-
Trachelomonas sp.2	+	+	+	+	+	-	+	-
Trachelomonas sp.3	-	-	+	-	+	-	-	-
Trachelomonas sp.4	-	-	-	+	+	-	-	-
Anisonema emerginatum	-	-	+	+	+	-	-	-
Entosiphon sulcatum	-	+	-	+	+	-	-	-
Entosiphon sp.	-	-	-	+	+	-	-	-
Peranema trichophorum	++	+++	++	+++	+++	++	++	++
Class Phytomonadea								
Chlamydomonas sp.	-	-	-	+++	++	-	-	-
Pandorina morum	+	-	-	+	+	-	-	-
Synura uvella	++	+	-	+	-	+	+	+
Class Cryptomonadea								
Chilomonas paramecium	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
Class Dinoflagellata								
Ceratium hirundinella	+	+	++	++	++	+	+	+
Glenodinium sp.	+	-	-	+	+	-	-	-
Amoebozoa								
Class Lobosea								
Order Gymnamoebia								
Amoeba dubia	-	+	-	+	-	-	-	-
A. gorgonia	-	-	-	+	+	+	-	-
A. proteus	+	+	+	+	+	+	+	+
A. radiosa	+	+	+	+	+	-	-	-
Mayorella sp.	-	-	-	+	+	-	-	-
Pelomyxa carolinensis	-	-	-	-	+	-	-	-
P. palustris	+	+	-	-	+	-	-	-

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบชนิดและความชุกชุมสัมพัทธ์ของโปรโตซัว (ต่อ)

ชนิดของโปรโตซัว	โปรโตซัวในเยื่อนอุบลรัตน์	สถานีที่เก็บตัวอย่างโปรโตซัวในแม่น้ำพอง						
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Class Lobosea								
Order Testacealobosia								
Arcella dentata	-	+	+	+	-	-	+	-
A. discoides	+	-	-	+	+	+	-	+
A. vulgaris	+	+	+	+	+	+	-	+
Arcella sp.	+	-	-	-	-	-	-	-
Difflugia acuminata	-	+	-	+	-	-	-	-
Difflugia oblonga	+	-	-	-	-	-	-	-
Difflugia sp.	+	-	-	-	-	-	-	-
Actinopoda								
Class Heliozoea								
Actinophrys sol	++	+	-	-	+	+	-	-
	47	49	31	65	67	34	31	21

หมายเหตุ +++ พบชนิดของโปรโตซัวบ่อยและมีจำนวนมาก

++ พบชนิดของโปรโตซัวบ่อยแต่มีจำนวนไม่มาก

\+ พบชนิดของโปรโตซัวบ้างแต่ไม่พบบ่อย

\- ไม่พบชนิดของโปรโตซัวในสถานีสำรวจ

ตารางที่ 2 ชนิดของโปรโตซัวที่พบในแม่น้ำพอง (ใต้เขื่อนอุบลรัตน์-ฝายหนองหวาย) จังหวัดขอนแก่น ในแต่ละช่วงเดือนที่สำรวจ

ชนิดของโปรโตซัว	ช่วงเดือนที่สำรวจ					
	ก.ค.-ส.ค.44	ก.ย.-ต.ค.44	พ.ย.-ธ.ค.44	ม.ค.-กพ.45	มี.ค.-เม.ย.45	พ.ค.-มิย.45
Class Karyorelictea						
Loxodes rostrum	+	-	+	+	-	+
Class Spirotrichea						
Spirostomum sp.	+	-	+	+	-	-
Stentor coeruleus	++	++	++	+	+	+
S. polymorphus	+	+	+	+	+	++
Halteria grandinella	-	-	++	+	+	-
Stylonychia mytilus	++	++	++	+	+	+
Aspidisca costata	+++	++	+++	++	+	++
Euplotes aediculatus	++	++	++	++	++	++
E. patella	-	+	+	++	-	-
Class Prostomatea						
Coleps hirtus	+++	++	++	+++	++	+
C. octospinus	++	++	+	++	-	-
Class Litostomatea						
Didinium nasutum	-	+	+	+	+	-
Dileptus anser	+	-	-	-	+	-
Lacrymaria olor	++	++	++	++	+	++
Trachelophyllum clavatum	+	+	+	++	-	+
Class Phyllopharyngea						
Chilodonella cucullulus	++	-	+	++	+	++
C. uncinata	-	+	++	+	-	++
Cinetochilum margaritacum	-	+	++	+	+	-
Podophrya fixa	-	+	+	+	+	++
Class Nassophorea						
Paramecium aurelia	+	-	+	+	-	+
P. caudatum	+++	+++	++	++	++	+++
Class Oligohymenophorea						
Cyclidium glaucoma	+++	+++	+++	+++	++	+++
Loxocephalus plagius	-	+	+	-	-	-
Tetrahymena pyriformis	-	-	++	+	-	+
Urocentrum turbo	+	+	-	+	+	-
Uronema sp.	-	+	-	+	+	-
Vorticella campanula	-	+	+	+	-	-
V. convallaria	+	-	++	+	+	+
Class Euglenoidea						
Euglena acus	++	++	++	++	++	++
E. caudata	-	+	+	+	-	-

ตารางที่ 2 ชนิดของโปรโตซัวที่พบในแม่น้ำพอง ในแต่ละช่วงเดือนที่สำรวจ (ต่อ)

ชนิดของโปรโตซัว	ช่วงเดือนที่สำรวจ					
	ก.ค.-ส.ค.44	ก.ย.-ต.ค.44	พ.ย.-ธ.ค.44	ม.ค.-กพ.45	มี.ค.-เม.ย.45	พ.ค.-มิย.45
Class Euglenoidea						
Euglena deses	+	-	+	+	+	-
E. ehrenbergii	-	-	+	-	-	-
E. polymorpha	-	+	-	+	-	+
E. proxima	-	-	-	-	+	-
E. oxyuris	+	+	+	+	+	+
E. spiroides	+	+	+	+	+	+
Euglena sp.1	-	-	-	+	+	-
Euglena sp.2	-	-	+	-	-	-
Euglena sp.3	-	-	-	+	-	+
Euglena sp.4	-	+	-	-	+	+
Phacus acuminata	-	-	+	+	+	-
P. alata	-	+	+	-	++	-
P. longicauda	++	++	++	++	++	++
P. pleuronectes	++	++	++	++	-	++
P. pyrum	-	-	+	+	++	-
P. torta	++	++	++	++	+	++
Phacus sp.1	+	-	+	+	-	+
Phacus sp.2	+	+	+	+	+	+
Trachelomonas armata	+	+	-	+	+	+
T. hispida	-	-	+	-	-	-
T. horida	-	-	+	-	-	-
T. urceolata	-	+	+	+	+	-
Trachelomonas sp.1	+	+	-	+	+	+
Trachelomonas sp.2	-	+	+	+	+	-
Trachelomonas sp.3	+	-	-	-	+	-
Trachelomonas sp.4	+	-	+	+	-	+
Anisonema emerginatum	-	+	+	+	-	-
Entosiphon sulcatum	-	+	+	-	-	-
Entosiphon sp.	+	-	-	+	++	-
Peranema trichophorum	+++	+++	++	+++	++	+++
Class Phytomonadea						
Chlamydomonas sp.	++	-	+	++	++	++
Pandorina morum	+	-	+	+	+	+
Synura uvella	+	+	+	+		+
Class Cryptomonadea						
Chilomonas paramecium	++	++	++	+++	++	++
Class Dinoflagellata						
Ceratium hirundinella	-	-	++	++	-	-
Glenodinium sp.	-	-	++	+	+	-

ตารางที่ 2 ชนิดของโปรโตซัวที่พบในแม่น้ำพอง ในแต่ละช่วงเดือนที่สำรวจ (ต่อ)

ชนิดของโปรโตซัว	ช่วงเดือนที่สำรวจ					
	ก.ค.-ส.ค.44	ก.ย.-ต.ค.44	พ.ย.-ธ.ค.44	ม.ค.-กพ.45	มี.ค.-เม.ย.45	พ.ค.-มิย.45
Class Lobosea						
Amoeba dubia	-	-	+	+	+	+
A. gorgonia	-	-	-	+	-	+
A. proteus	+	+	-	+	+	+
A. radiosa	+	+	+	+	-	-
Mayorella sp.	-	+	+	-	+	-
Pelomyxa carolinensis	-	-	-	+	+	-
P.palustris	+	+	+	+	-	+
Arcella dentata	+	+	+	+	+	+
A. discoides	+	+	+	+	+	-
A. vulgaris	+	+	+	+	-	+
Difflugia acuminata	-	-	-	+	-	-
Class Heliozoea						
Actinophrys sol	+	+	+	+	+	+
	44	49	62	65	50	43
รวมโปรโตซัวที่พบทั้งสิ้น 78 ชนิด						

หมายเหตุ +++ พบชนิดของโปรโตซัวบ่อยและมีจำนวนมาก

++ พบชนิดของโปรโตซัวบ่อยแต่มีจำนวนไม่มาก

+ พบชนิดของโปรโตซัวบ้างแต่ไม่พบบ่อย

- ไม่พบชนิดของโปรโตซัวในสถานีสำรวจ

ตารางที่ 3 คุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีบางประการ

คุณภาพน้ำ	สถานีที่เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อศึกษาโปรโตซัว						
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	22.0-29.0	23.5-30.5	24.5-31.0	23.5-30.0	25.5-31.0	25.5-31.5	27.0-31.5
พีเอช	6.7-7.1	6.1-6.8	6.8-7.7	6.9-7.3	6.5-7.1	6.8-7.2	6.6-7.2
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	3.9-5.3	3.1-4.4	3.2-4.3	3.1-4.1	3.6-4.4	3.9-5.4	4.5-6.2
ค่าการนำไฟฟ้า (ไมโครซีเมนส์/เซนติเมตร)	151.8-190.5	143.7-189.4	865.0-1,343.5	1,535.4-2,690.0	157.6-194.3	151.4-197.4	144.2-201.5
ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	102.2-130.4	88.9-128.3	576.0-978.2	1,025.2-1,788.0	105.8-131.4	100.9-133.6	99.2-137.7
ความเค็ม (ส่วนในพัน)	0	0	0-0.5	0-0.5	0	0	0
ประเภทของแหล่งน้ำ	2	3	4	5	3	2	2

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษาความหลากหลายของโปรโตซัวในแม่น้ำพอง (จากใต้เขื่อนอุบลรัตน์ถึงฝายหนองหวาย) จังหวัดขอนแก่น ระหว่างเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2544 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2545 พบโปรโตซัว รวมทั้งสิ้น 13 class จำนวน 78 ชนิด ได้แก่ Class Karyorelictea 1 ชนิด Class Spirotrichea 8 ชนิด Class Prostomatea 2 ชนิด Class Litostomatea 4 ชนิด Class Phyllopharyngea 4 ชนิด Class Nassophorea 2 ชนิด Class Oligohymenophorea 7 ชนิด Class Euglenoidea 32 ชนิด Class Phytomonadea 3 ชนิด Class Cryptomonadea 1 ชนิด Class Dinoflagellata 2 ชนิด Class Lobosea 11 ชนิด และ Class Heliozoea 1 ชนิด โปรโตซัวส่วนใหญ่มีการกระจายตัวคล้ายกันในทุกสถานีที่เก็บตัวอย่าง ส่วน Class Phyllopharyngea พบการกระจายตัวค่อนข้างน้อยเฉพาะในบริเวณที่มีพืชน้ำขึ้นเป็นส่วนใหญ่

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเปรียบเทียบกับการสำรวจโปรโตซัวในเขื่อนอุบลรัตน์ (พินิจ หวังสมนึก และคณะ, 2545) พบว่ามีชนิดของโปรโตซัวที่เหมือนกัน 44 ชนิด (ตารางที่ 1) โปรโตซัวที่พบในแม่น้ำพองแต่ไม่พบในเขื่อนอุบลรัตน์มี 35 ชนิด คือ Subphylum Ciliophora ได้แก่ *Chilodonella cucullulus, C. uncinata, Coleps octospinus, Didinium nasutum, Dileptus anser, Halteria grandinella, Loxocephalus plagius, Spirostomum* sp. และ *Trachelophyllum clavatum* *Subphylum Euglenida* ได้แก่ *Anisonema emerginatum, Entosiphon sulcatum, Entosiphon* sp., *Euglena caudata, E. polymorpha, E. proxima, Euglena* sp.1, *Euglena* sp.2, *Euglena* sp.3, *Euglena* sp.4, *Phacus acuminata, P. alata, P. pyrum, Trachelomonas armata, T. horida, T. urceolata, Trachelomonas* sp.1, *Trachelomonas* sp.3 และ *Trachelomonas* sp.4 *Phylum Chlorophyta* ได้แก่ *Chlamydomonas* sp. กลุ่ม Amoebozoa ได้แก่ *Amoeba dubia, Amoeba gorgonia, Arcella dentata, Difflugia acuminata, Mayorella* sp. และ *Pelomyxa carolinensis* (ตารางที่ 1) โปรโตซัวที่ไม่พบในแม่น้ำพองแต่พบในเขื่อนอุบลรัตน์มี 4 ชนิด คือ *Coleps elongatus, Arcella* sp., *Difflugia oblonga* และ *Difflugia* sp. (ตารางที่ 1) จากการสำรวจพบว่าจำนวนชนิดของโปรโตซัวที่พบในแม่น้ำพองที่เหมือนกันกับในเขื่อนอุบลรัตน์มากที่สุดคือสถานีที่ 1 เนื่องจากเป็นจุดเก็บตัวอย่างที่อยู่ใกล้กับประตูระบายน้ำออกจากเขื่อนทำให้พบชนิดของโปรโตซัวเหมือนกันกับในเขื่อนอุบลรัตน์ นอกจากนี้มีโปรโตซัวบางชนิดที่สำรวจพบในเขื่อนแต่ไม่พบในแม่น้ำพองเพราะว่าลักษณะของคุณสมบัติอื่นๆ ทั้งทางชีวภาพ กายภาพ และเคมีที่ไม่แตกต่างมากนักน้ำในแม่น้ำพองบริเวณเหนือเขื่อนอุบลรัตน์มีปริมาณค่อนข้างคงที่ตลอดทั้งปีและเป็นแหล่งน้ำนิ่ง สภาพแหล่งน้ำบริเวณเก็บตัวอย่างมีลักษณะคล้ายกันและมีการสะสมของธาตุอาหารค่อนข้างมากเนื่องจากเป็นแหล่งรองรับน้ำจากพื้นที่ต่างๆ เป็นบริเวณกว้างในขณะที่น้ำในแม่น้ำพองเป็นน้ำไหลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำมากกว่าในเขื่อน บางบริเวณของแม่น้ำพองมีปริมาณน้ำมาก บางบริเวณมีปริมาณน้ำน้อย น้ำไหลตลอดปี มีสภาพของแหล่งน้ำที่หลากหลายกว่า และก็เป็นแหล่งรองรับน้ำจากกิจกรรมต่างๆ การสะสมธาตุอาหารจึงมีมากกว่าในเขื่อนอุบลรัตน์ เนื่องจากธาตุอาหารถูกปล่อยลงมาจากกิจกรรมต่างๆและจากชุมชนที่อาศัยอยู่บริเวณริมฝั่งแม่น้ำพองตลอดเวลา ทำให้มีธาตุอาหารละลายอยู่ในมวลของน้ำมากกว่าในเขื่อนอุบลรัตน์ (วิรัช ว่องพัฒนากุล และคณะ, 2544) นอกจากนี้ยังมีโปรโตซัวจากพื้นที่สองฝั่งแม่น้ำถูกพัดพามากับน้ำด้วย สาเหตุเหล่านี้ทำให้พบชนิดของโปรโตซัวแตกต่างกัน อีกทั้งโปรโตซัวหลายชนิดสามารถดำรงชีวิตได้ทั้งในน้ำและในดิน เช่น *Copoda* sp., *Dileptus* sp., *Trachelophyllum* sp. *Tetrahynema* sp. และ *Stylonychia* sp. เป็นต้น เหล่านี้เป็นปัจจัยที่ทำให้พบชนิดของโปรโตซัวเหมือนและแตกต่างกัน (พินิจ หวังสมนึก, 2544)

ในการสำรวจครั้งนี้พบว่าโปรโตซัวในแหล่งน้ำทุกประเภทมี 64 ชนิด แบ่งเป็น Subphylum Ciliophora 23 ชนิด ได้แก่ *Chilodonella uncinata, Cinetochilum margaritacum, Coleps hirtus, C. tospinus, Didinium nasutum, Dileptus anser, Euplotes patella, Halteria randinella, Lacrymaria olor, Loxocephalus plagius, Loxodes rostrum, Paramecium aurelia, P. caudatum, Spirostomum* sp., *Stentor coeruleus, S. polymorphus, Stylonychia mytilus, Tetrahymena pyriformis, Trachelophyllum clavatum, Urocentrum turbo, Uronema* sp., *Vorticella campanula* และ *V. convallaria* Subphylum Euglenida 26 ชนิด ได้แก่ *Anisonema emerginatum, Entosiphon sulcatum, Euglena acus, E. caudata, E. deses, E. oxyuris, E. polymorpha, E. proxima, E. spiroides, Euglena* sp.1, *Euglena* sp.2, *Euglena* sp.3, *Euglena* sp.4, *Peranema trichophorum, Phacus acuminata, P. alata, P. longicauda, P. pleuronectes, P. pyrum, Phacus* sp.1, *Phacus* sp.2, *Trachelomonas hispida, T. horida, T. urceolata, Trachelomonas* sp.1 และ *Trachelomonas* sp.2 *Phylum Chlorophyta* 1 ชนิด ได้แก่ *Synura uvella* Subphylum Cryptomonada 1 ชนิด ได้แก่ *Chilomonas paramecium Subphylum Dinoflagellata* 1 ชนิด ได้แก่ *Ceratium hirundinella* กลุ่ม Amoebozoa 11 ชนิด ได้แก่ *Amoeba dubia, A. gorgonia, A. proteus, A. radiosa, Arcella dentata, A. discoides, A. vulgaris, Difflugia acuminata, Mayorella* sp., *Pelomyxa carolinensis* และ *P. palustris* และกลุ่ม Actinopoda 1 ชนิด ได้แก่ *Actinophrys sol* มีรายงานเกี่ยวกับโปรโตซัว ดังกล่าวว่าพบทั้งในน้ำดีและน้ำเสีย เช่น โอภาส ศรีนวลละออง (2523), เชิดพันธ์ มูรธานันท์ (2526), บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์ (2532), มุกดา สุขสมาน (2536), สุดาพรรณ์ สัตย์พานิช (2539), อินทิรา ปรุงเกียรติ (2540, 2542) และพินิจ หวังสมนึก และคณะ (2545)

โปรโตซัวที่พบเฉพาะในน้ำดีมี 28 ชนิด แบ่งเป็น Subphylum Ciliophora 12 ชนิด ได้แก่ *Coleps hirtus, Didinium nasutum, Dileptus anser, Halteria randinella, Loxocephalus plagius, Loxodes rostrum, Stentor polymorphus, Stylonychia mytilus, Trachelophyllum clavatum, Urocentrum turbo, Uronema* sp. และ *Vorticella convallaria* Subphylum Euglenida *16 ชนิด ได้แก่ Anisonema emerginatum, Ceratium hirundinella, Entosiphon sulcatum, Euglena caudata, E. polymorpha, E. proxima, Euglena* sp.1, *Euglena* sp.2, *Euglena* sp.3, *Phacus acuminata, P. alata, P. pyrum, Phacus* sp.2, *Trachelomonas horida, T. urceolata* และ *Trachelomonas* sp.2 มีรายงานเกี่ยวกับโปรโตซัวดังกล่าวว่าพบเฉพาะในน้ำดี เช่น อำไพ อาภรณ์ชยานนท์ (2520), โอภาส ศรีนวลละออง (2523), เชิดพันธ์ มูรธานันท์ (2526), มุกดา สุขสมาน (2536), สุดาพรรณ์ สัตย์พานิช (2539), อินทิรา ปรุงเกียรติ (2540) และ พินิจ หวังสมนึก และคณะ (2545) ดังนั้นโปรโตซัว 28 ชนิดที่พบในน้ำดีดังกล่าวข้างต้นมีแนวโน้มว่าน่าจะใช้เป็นดัชนีชีวภาพบ่งบอกคุณภาพน้ำที่อยู่ในเกณฑ์ดีได้ หากมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในห้องปฏิบัติการและในภาคสนาม เพื่อให้ทราบความถี่ในการตรวจพบโปรโตซัวชนิดต่างๆ และจัดทำบัญชีรายชื่อโปรโตซัวโดยแยกเป็นกลุ่มโปรโตซัวที่พบตามแหล่งน้ำประเภทต่างๆ ตามมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำจืดผิวดินของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2537

ส่วนโปรโตซัวที่พบเฉพาะในน้ำเสียมี 15 ชนิด คือ Subphylum Ciliophora 5 ชนิด ได้แก่ *Aspidisca costata, Chilodonella cucullulus, Cyclidium glaucoma, Euplotes aediculatus* และ *Podophrya fixa* Subphylum Euglenida 7 ชนิด ได้แก่ *Entosiphon* sp., *Euglena caudata, E. ehrenbergii, Phacus torta, Trachelomonas armata, Trachelomonas* sp.3 และ *Trachelomonas* sp.4 Phylum Chlorophyta 2 ชนิด ได้แก่ *Chlamydomonas* sp. และ *Pandorina morum* และ Subphylum Dinoflagellata 1 ชนิด ได้แก่ *Glenodinium* sp. มีรายงานเกี่ยวกับโปรโตซัว

ดังกล่าวว่าพบในน้ำเสีย เช่น อำไพ อาภรณ์ชยานนท์ (2520), โอภาส ศรีนวลละออง (2523), เชิดพันธ์ มูรธานันท์ (2526), มุกดา สุขสมาน (2536), บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์ (2532), สุดาพรรณ์ สัตย์พานิช (2539) และอินทิรา ปรุงเกียรติ (2540, 2542) ดังนั้นโปรโตซัว 15 ชนิดที่พบในน้ำเสียดังกล่าวข้างต้นมีแนวโน้มว่าสามารถใช้เป็นดัชนีชีวภาพบ่งบอกคุณภาพน้ำได้ หากมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในห้องปฏิบัติการและในภาคสนาม และจัดทำบัญชีรายชื่อกลุ่มโปรโตซัวเช่นเดียวกับการจัดทำบัญชีรายชื่อกลุ่มโปรโตซัวที่พบในน้ำดี

ผลการศึกษาความหลากหลายของโปรโตซัวในแม่น้ำพองที่บริเวณต่างๆตั้งแต่ใต้เขื่อนคือสถานีที่ 1 ถึงสถานีที่ 7 ครั้งนี้ ทำให้ทราบความหลากหลายของโปรโตซัว ข้อมูลทางนิเวศวิทยาบางประการของแม่น้ำพองในบริเวณที่ศึกษา (ตารางที่ 3) รวมทั้งข้อมูลทางด้านชีววิทยาของโปรโตซัวบางชนิดในแม่น้ำพอง และยังใช้ชนิดของโปรโตซัวเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของคุณภาพน้ำได้ เพราะว่ามีโปรโตซัวหลายชนิดที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพน้ำแบบต่างๆ กัน เช่น *Coleps* sp., *Paramecium* sp., *Stentor* sp., *Euglena* sp. และ *Amoeba* sp. เป็นต้น บางชนิดก็สามารถดำรงชีวิตได้เฉพาะในน้ำคุณภาพดี (แหล่งน้ำประเภทที่ 2) เช่น *Dileptus* sp., *Frontonia* sp. และ *Urocentrum terbo* บางชนิดก็ดำรงชีวิตได้ดีในสภาพน้ำเสีย (แหล่งน้ำประเภทที่ 4) เช่น *Naegleria* sp. และ *Tokophrya* sp. ตามรายงานของ Farmer (1980), Foissner and Berger (1996), Hausmann and Hulsmann (1996), อำไพ อาภรณ์ชยานนท์ (2520), บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์ (2532) และอินทิรา ปรุงเกียรติ (2542) เนื่องจากเป็นการสำรวจครั้งแรกและเป็นเพียงพื้นฐานขั้นต้นเท่านั้น ดังนั้นถ้าหากจะใช้ชนิดของโปรโตซัวเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพน้ำได้อย่างแม่นยำหรือใกล้เคียงควรมีการสำรวจหลายๆ ครั้ง เพื่อที่จะทราบจำนวนชนิดและปริมาณของโปรโตซัว รวมทั้งข้อมูลด้านชีววิทยาของโปรโตซัวเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะเมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปรวมทั้งต้องมีการศึกษาในแหล่งน้ำแห่งอื่นๆ ด้วยเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ อย่างไรก็ตามมีโปรโตซัวหลายชนิดสามารถดำรงชีพในน้ำหลายรูปแบบและบางชนิดสามารถดำรงชีพและสืบพันธุ์ได้เป็นอย่างดีในน้ำที่มีมลพิษดังกล่าวมาแล้วข้างต้น หากสามารถใช้โปรโตซัวเป็นดัชนีในการบ่งชี้คุณภาพน้ำก็จะทำให้ลดค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมากในการตรวจสอบและการปรับปรุงคุณภาพน้ำได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. (2537). เรื่องการกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำจืดผิวดิน. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 4/2537 เล่ม 111 ตอนที่ 162 ลงวันที่ 24 กุมภาพันธ์ 2537.

เชิดพันธ์ มูรธานันท์. (2526). การสำรวจโปรโตซัวในคูเมืองเชียงใหม่. การวิจัยวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การสอนชีววิทยา) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ธนู มะระยงค์, อำนาจ โรจนไพบูลย์ และสบชัย สุวัฒนคุปต์. (2540). การสำรวจโปรโตซัวบางบริเวณของแม่น้ำแม่ปิง อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน. รายงานการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 23. หน้า 111.

บพิธ จารุพันธ์ และนันทพร จารุพันธ์. (2532). การศึกษาชนิดของโปรโตซัวเพื่อใช้เป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพน้ำ. รายงานการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

บพิธ จารุพันธ์ และนันทพร จารุพันธ์. (2539). โปรโตซัวในแหล่งน้ำจืด. ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

พินิจ หวังสมนึก. (2544). รายงานการไปฝึกงานและทำวิจัย ณ ประเทศออสเตรีย ระหว่างวันที่ 1-31 พฤษภาคม พ.ศ. 2544. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พินิจ หวังสมนึก, ภูวฎณ กรพันธุ์ และอินทิรา ปรุงเกียรติ. (2545). ความหลากหลายของโปรโตซัวในเขื่อนอุบลรัตน์ จังหวัดขอนแก่น. ว. วิทย. มข. 30(4):240-252.

มุกดา สุขสมาน. (2536). การศึกษานิเวศวิทยาและการแพร่กระจายของโปรโตซัวในมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต. สถาบันไทยคดีศึกษา มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

วิรัช ว่องพัฒนากุล, สุนันทา เฮงรัศมี และรัตนา มหาชัย. (2544). การตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำลำน้ำพองตอนล่าง (ท้ายเขื่อนอุบลรัตน์) ปี 2542. รายงานวิจัย. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุดาพรรณ์ สัตย์พานิช. (2539). การศึกษาชนิดและปริมาณของโปรโตซัวจากแหล่งรองรับน้ำทิ้งจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สบชัย สุวัฒนคุปต์, ธนู มะระยงค์, อำนาจ โรจนไพบูลย์ และปิยะ ทัศนศรี. (2540). การสำรวจโปรโตซัวบางบริเวณแม่น้ำลี้ อำเภอลี้ จังหวัดลำพูน. รายงานการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 23. หน้า 112.

สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6. (2542). แผนการจัดการสิ่งแวดล้อมแม่น้ำพอง. เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการ. 2 มิถุนายน 2542. โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิด จังหวัดขอนแก่น.

อินทิรา ปรุงเกียรติ. (2540). การสำรวจโปรโตซัวในอ่างเก็บน้ำ สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดเชียงใหม่. การค้นคว้าอิสระเชิงวิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อินทิรา ปรุงเกียรติ. (2542). การสำรวจโปรโตซัวในคลองแม่ข่าจังหวัดเชียงใหม่. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อำไพ อาภรณ์ชยานนท์. (2520). โปรโตซัวในน้ำเสียเนื่องจากสารอินทรีย์. การวิจัยวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การสอนชีววิทยา) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โอภาส ศรีนวลละออง. (2523). การสำรวจโปรโตซัวในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. การวิจัยวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การสอนชีววิทยา) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Farmer, J. N. (1980). The Protozoa: Introduction to Protozoology. London: The C.V. Mosby Company.

Foissner, W. and Berger, H. (1996). A user's friendly guides to the Ciliates (Protozoa, Ciliophora). Freshwater Biology. 35:375-482.

Hausmann, K. and Hulsmann, N. (1996). Protozoology. 2nd ed. New York: Thieme Medical Publishers.

Jahn, T. L., Bovee, E. E and Jahn, F. F. (1979). How to Know the Protozoa. Dubuque,: William C. Brown Company.

Kudo, R. R. (1966). Protozoology. 5th ed. Illinois: Charles C. Thomas Publishing.

Lee, J. J., Hunter, S. H. and Bovee, E. C. (1985). Illustrated Guide to the Protozoa. Lawrence: Allen Press.

❑❑❑❑❑❑

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน

2. บทความปริทัศน์ ได้แก่งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ

3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการ ย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ **ต้องเป็นตัวพิมพ์ปกติ** มีช่วงห่างระหว่างบรรทัดตามมาตรฐาน พิมพ์ลงในกระดาษขาว A 4 (โรเนียวสั้น) โดยใช้กระดาษหน้าเดียว **ความยาวไม่เกิน 10 หน้า ส่งต้นฉบับ 2 ชุด**

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 การทับศัพท์ภาษาอังกฤษ ตลอดทั้งการเขียนตัวสะกด การันต์ ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน

7. ในกรณีของบทความวิจัย **ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ** และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์

8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็นเพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความเฉพาะตอนในบทความ

9. ตารางและภาพประกอบ คำบรรยายประกอบตารางหรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าเป็นภาพถ่ายให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสการ์ด ภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจนและมีขนาดที่เหมาะสม

10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม แนะนำให้เขียนตามแบบที่ทางวารสารกำหนด

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

อภินันทนาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 2 เล่ม และสำเนาพิมพ์อีก 15 ชุด

การเขียนเอกสารอ้างอิงในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เอกสารอ้างอิง (Reference) หมายถึง เอกสารหรือส่วนหนึ่งของเอกสารที่อ้างอิงถึงหรือแปลมาโดยตรง การเขียนเอกสารอ้างอิงในเนื้อหานั้น ให้ใช้ระบบชื่อและปี เช่น Williams (2001) รายงานว่า... หรือ... (Williams, 2001) การเขียนเอกสารอ้างอิงในตอนท้ายบทความนั้น ให้ใส่เฉพาะเล่มที่มีการอ้างไว้แล้วในเนื้อหาเท่านั้น

บรรณานุกรม (Bibliography) หมายถึง เอกสารที่ใช้อ้างถึงในลักษณะที่สรุปเป็นหลักการหรือทฤษฎีโดยมิได้อ้างอิงหรือแปลมาโดยตรง

การเขียนเอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม มีแนวทางการเขียนดังนี้

1. หนังสือ

ก. ภาษาไทย

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

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

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

ใบสั่งลงโฆษณา
ในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....

วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ข้าพเจ้า.....เป็นตัวแทนของ (บริษัท, ห้างร้าน, องค์การ).....ที่อยู่.....

.....โทรศัพท์.....โทรสาร.....

มีความประสงค์จะลงโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข. ดังรายการต่อไปนี้

☐ ปกหลังด้านใน ☐ เต็มหน้า ☐ ครึ่งหน้า

☐ ในฉบับ ☐ เต็มหน้า ☐ ครึ่งหน้า

โดยข้าพเจ้าขอให้ลงโฆษณา จำนวน.....ฉบับ นับตั้งแต่ฉบับแรก ที่จะพิมพ์ในครั้งต่อไปหลังจากที่ท่านได้รับหนังสือนี้แล้ว

พร้อมกับจดหมายฉบับนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งต้นฉบับเพื่อลงโฆษณาและเงินค่าโฆษณา จำนวน.....บาท (.....)

เป็น ☐ ธนาณัติ หรือ ☐ เช็คไปรษณีย์ ในนามของนางบุญคุ้ม เหลือล้น

สั่งจ่าย ป.ท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ลงนาม.....

ตำแหน่ง.....

อัตราค่าโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

		ลง 1 ฉบับ		ลง 4 ฉบับ	
ปกหลัง	ด้านในเต็มหน้า	1,000	บาท	3,600	บาท
	ด้านในครึ่งหน้า	500	บาท	1,800	บาท
ในฉบับ	เต็มหน้า	500	บาท	1,600	บาท
	ครึ่งหน้า	250	บาท	800	บาท

หมายเหตุ ถ้าทางวารสารฯ ไม่สามารถลงตีพิมพ์บนปกหลังได้ วารสารฯ จะตีพิมพ์ลงในฉบับแทนในวงเงินเท่ากัน

วารสาร
วิทยาศาสตร์ มข.
KKU SCIENCE JOURNAL

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่วิทยาการในสาขาวิชาต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์
2. เพื่อเผยแพร่ผลงานด้านวิจัย และการศึกษา ค้นคว้าของอาจารย์และนักศึกษา
3. เพื่อเป็นสื่อกลางการแลกเปลี่ยนความรู้และแนวความคิดทางวิชาการ ระหว่างอาจารย์ นักศึกษาและผู้สนใจ ทั้งภายในและภายนอกสถาบัน

กำหนดออก ปีละ 4 ฉบับ

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

ใบสมัครเป็นสมาชิก
"วารสารวิทยาศาสตร์ มข."

☐ สมาชิกใหม่
☐ ต่ออายุ

ชื่อ-สกุล.....
ที่อยู่.....
รหัสไปรษณีย์.....หมายเลขสมาชิก.....
ตั้งแต่ฉบับที่.....ปีที่.....ถึงฉบับที่.....ปีที่.....รวม.....ฉบับ
พร้อมนี้ได้ส่งเงินจำนวน.....บาท มาทาง

อัตราค่าบำรุง

☐ ธนาณัติสั่งจ่าย ป.ท.มข.	1 ปี	4 เล่ม	75	บาท
☐ เช็คไปรษณีย์	2 ปี	8 เล่ม	150	บาท
☐ เงินสด	3 ปี	12 เล่ม	200	บาท

ลายเซ็นผู้สมัคร.....

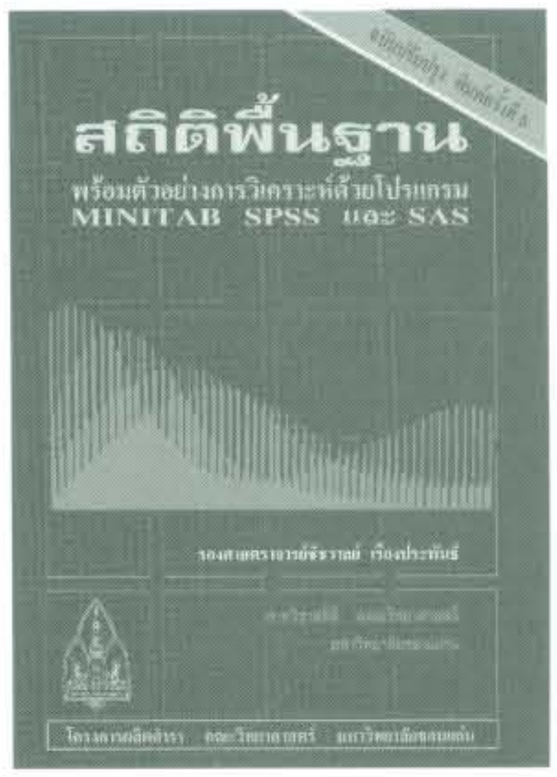
หมายเหตุ 1. ส่งเงินทางธนาณัติหรือเช็คไปรษณีย์ ในนามของ นางบุญคุ้ม เหลือล้น คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สั่งจ่าย ป.ท.มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
2. กรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงที่อยู่ กรุณาแจ้งให้ทราบล่วงหน้า ไม่น้อยกว่า 1 เดือน ก่อนเดือนสุดท้ายของกำหนดวารสารออก เพื่อความสะดวกในการส่งวารสารให้แก่ท่าน

พิมพ์ที่ **หจก. ขอนแก่นการพิมพ์** โทร. (043) 221938, 220128
64 - 66 ถนนรื่นรมย์ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น **2547**
E-mail : KK_P902@hotmail.com

หนังสือในโครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สถิติพื้นฐาน

พร้อมตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MINITAB SPSS และ SAS

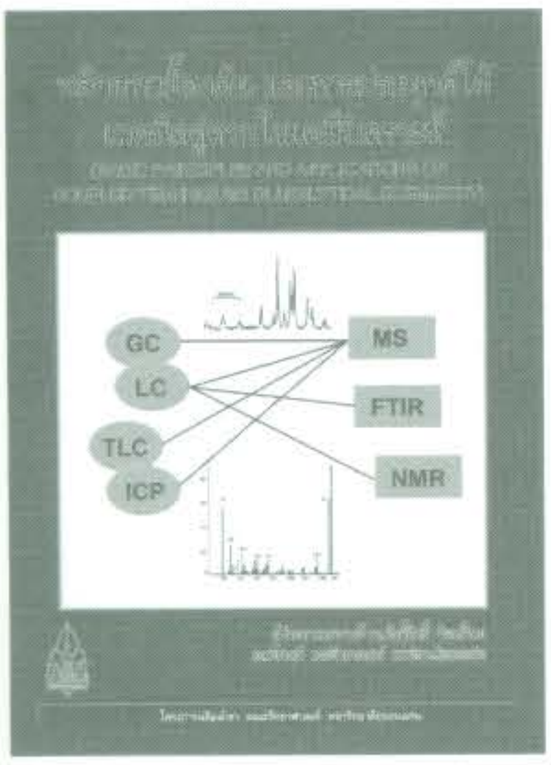


รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์

พิมพ์ครั้งที่ 5 • 2543 • 510 หน้า

ISBN 974-675-666-4

ราคา 180 บาท



หลักการเบื้องต้นและการประยุกต์ใช้เทคนิคคู่ควบในเคมีวิเคราะห์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย

2543 • 202 หน้า

ISBN 974-678-333-2

ราคา 150 บาท

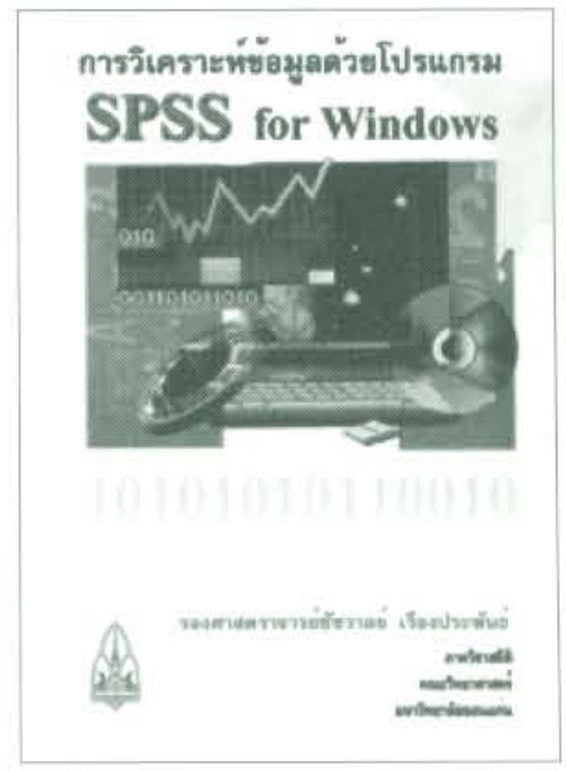
การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS for Windows

รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์

2544 • 620 หน้า

ISBN 974-654-608-2

ราคา 300 บาท



การวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลขั้นแนะนำ

รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ไวท์ยางกูร

2547 • 344 หน้า

ISBN 974-367-958-8

ราคา 200 บาท