วารสารวิจัย มข. 14 (6) : มิถุนายน 2552

การใช้สารละลายใบยาสูบเพื่อควบคุมเห็บปลา (*Argulus spp.*) ในปลาทองหัวสิงห์

The Use of Tobacco (*Nicotiana tabacum* Linn.) to Control Fish Louse (*Argulus spp.*) in Lionhead Goldfish (*Carassius auratus* Linn.)

สมฤดี ศิลาฤดี (Somrudee Silarudee)[1*]
จักรกฤษ วราเอกศิริ (Chakkit Waraeksiri)[2]
สุชาติ เรืองภาณุพันธ์ (Suchat Ruangpanupan)[2]

บทคัดย่อ

การใช้สารละลายใบยาสูบระดับความเข้มข้น 200, 300, 400 และ 500 ppm ควบคุมเห็บปลาในปลาทองหัวสิงห์ ใช้ปลาทองทั้งหมด 80 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 200, 300, 400 และ 500 ppm มีค่าระยะเวลาเฉลี่ยที่ทำให้เห็บปลาหลุดออกหมดเท่ากับ 20.49 ± 3.19, 17.48± 1.86, 7.87 ± 1.71 และ 6.94 ± 1.87 นาที ตามลำดับ โดยระยะเวลาเฉลี่ยที่ทำให้เห็บปลาหลุดจากตัวปลาจนหมดที่ความเข้มข้น 200 ppm มีค่ามากกว่าการใช้สารละลายใบยาสูบที่ความเข้มข้น 300, 400 และ 500 ppm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลข้างเคียงของสารละลายใบยาสูบที่เกิดขึ้นกับปลาทองพบว่าที่ความเข้มข้น 200 ppm ไม่มีผลข้างเคียงเกิดขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าที่ทำให้ปลาสูญเสียการทรงตัว การหายใจผิดปกติ ดังนั้นการใช้สารละลายใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm น่าจะมีผลดีที่สุดในการรักษาเนื่องจากสามารถทำให้เห็บปลาหลุดได้หมดและมีความปลอดภัยต่อตัวปลา

Abstract

Experiments were conducted to study the effect of various levels of tobacco extract (200, 300, 400, and 500 ppm) for the control of the external parasite, fish louse (*Argulus spp.*) in Lionhead Goldfish (*Carassius auratus*). A total of 80 fishes were randomly allocated into 4 groups (20 fish in each group). The results showed that the mean release times of *Argulus spp.* attached to fish which were subjected to different tobacco concentrations of 200, 300, 400 and 500 ppm were 20.49±3.19, 17.48±1.86, 7.87 ±1.71 and 6.94 ±1.87 minutes, respectively. The mean release time at the concentration of 200 ppm was highly significantly longer than that of 300, 400 and 500 ppm ($P<0.01$). Despite its longer release-time, the use of tobacco at 200 ppm seems to be the best and safest concentration for the control of *Argulus* spp. in Goldfish.

[1]*อาจารย์ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี*
[2]*นักศึกษาคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี*
[*]*Corresponding author, e-mail address. ssomrudee@yahoo.com*

คำสำคัญ: ยาสูบ, ปลาทอง, เห็บปลา
Keywords: Tobacco, goldfish, *Argulus spp.*

บทนำ

ปลาทอง (Goldfish, *Carassius auratus* Linn.) อยู่ใน Family Cyprinidae มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางเอเชียตะวันออก ตั้งแต่ไซบีเรียจนถึงประเทศจีน ต่อมาปลาประเภทนี้ได้มีการแพร่กระจายไปทั่วอเมริกาและยุโรป และมีการนำเข้ามาเพาะขยายพันธุ์ในประเทศไทย จนได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ปลาทองเป็นปลาที่เป็นที่ต้องการของตลาดสามารถขายได้ราคาดีตลอดปี แต่ปัจจุบันปลาทองคุณภาพดีที่ผลิตได้ในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดทั้งภายในและภายนอกประเทศซึ่งมีแนวโน้มจะได้รับความนิยมเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ และมีราคาค่อนข้างสูง (วันเพ็ญ และ นงนุช, 2530) แต่การเลี้ยงปลาทองมักมีปัญหาสำคัญคือปัญหาพยาธิภายนอกที่พบได้ทั่วไปในปลาทองได้แก่ เห็บระฆัง หนอนสมอ หมัดปลา เห็บปลา

เห็บปลา (fish louse) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Argulus spp.* จัดอยู่ใน Family Argulidae มีขนาดความยาวตั้งแต่ 6 - 22 มิลลิเมตร เห็บปลาเป็นปรสิตภายนอกพบมากในปลาเศรษฐกิจจำพวก cyprinid โดยเฉพาะในปลาทอง ปลาคาร์พ ปลาไน โดยจะเกาะตามตัวและกินเลือด ของเหลวจากเนื้อเยื่อและเมือกจากตัวปลา (Joel and George, 2001) การกำจัดปรสิตชนิดนี้ให้ได้ผลคือการใช้สารเคมีหลายชนิดคือ Dipterex, Masoten, Dylox หรือ Nequvon Margaret (2004) รายงานว่าการใช้สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่ม Organophosphate เช่น Dimethyl phosphate, Trichlofon และ Dimilin กำจัดปรสิตในกลุ่ม Crustacea ทั้งระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย โดยการแช่ปลาที่เป็นโรคในน้ำผสม Dimilin เข้มข้น 0.01 ppm นาน 48 ชั่วโมงติดต่อกัน 3 ครั้ง สำหรับ Trichlofon แช่ปลาที่ความเข้มข้น 0.25 ppm ถึง 1.0 ppm นาน 1 ชั่วโมง วันละครั้งติดต่อกัน 3 วันจะสามารถกำจัดปรสิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่การใช้สารเคมีดังกล่าวในการกำจัดเห็บปลาอาจส่งผลเสียต่อปลาที่เลี้ยงและอาหารตามธรรมชาติของปลา ปัจจุบันมีการให้ความสำคัญกับสารที่สกัดจากธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชและปรสิต เพื่อนำมาใช้ประโยชน์แทนสารเคมี ซึ่งจากงานวิจัยได้มีการนำใบยาสูบ ซึ่งเป็นพืชใน Family Solanaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nicotiana tabacum* Linn มาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิดเนื่องจากในใบยาสูบมีสารสำคัญคือนิโคติน ซึ่งเป็นสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) ประเภทสารประกอบเฮทเทอโรไซคลิก (Herterocyclic compound) ออกฤทธิ์โดยโครงสร้างโมเลกุลของสารนิโคตินซึ่งมีรูปร่างคล้ายกับสารอะซิติลโคลิน (Acetylcholin) ซึ่งเป็นสารสื่อกระแสประสาท มีตำแหน่งการออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทของกล้ามเนื้อในสัตว์เลือดอุ่น ส่งผลให้กล้ามเนื้อสั่นชักกระตุก และตายในที่สุด ส่วนการออกฤทธิ์ในแมลงมีลักษณะเช่นเดียวกันแต่ตำแหน่งการออกฤทธิ์เกิดขึ้นที่บริเวณปมประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง (Bloomquist, 1999) ดังนั้นการใช้ใบยาสูบซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนน่าจะใช้ควบคุมเห็บปลาซึ่งอยู่ใน Phylum เดียวกับแมลงได้ เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีที่มีราคาสูงและอาจส่งผลตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สัตว์ทดลอง

ใช้ปลาทองพันธุ์หัวสิงห์ขนาด 3 นิ้วที่เป็นโรคเห็บปลา จำนวน 100 ตัว เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ที่มีระบบให้อากาศ จำนวน 2 บ่อ บ่อละ 50 ตัว เลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลอง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 2 ครั้ง เวลา 8.00 น. และ

16.00 น. ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง โดยเปลี่ยนถ่ายน้ำครั้งละ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำทั้งบ่อ

2. วิธีการทดลอง

เตรียมสารละลายใบยาสูบโดยใช้ใบยาสูบอบแห้งจำนวน 50 กรัมแช่ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ทิ้งไว้นาน 1 ชั่วโมง คั้นเอาเฉพาะสารละลายที่ได้ไปใช้ จะได้สารละลายใบยาสูบความเข้มข้นเทียบเท่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดสอบก่อนการทดลองพบว่าสารละลายใบยาสูบที่ความความเข้มข้น 200 ppm เป็นสารละลายเริ่มต้นที่สามารถทำให้เห็บปลาหลุดออกจากตัวปลาได้ จึงใช้สารละลายใบยาสูบที่ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 200 ppm เป็นต้นไป เพื่อทำการทดลองควบคุมเห็บปลา ทำการแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้

1. แช่ด้วยสารละลายใบยาสูบ 200 ppm
2. แช่ด้วยสารละลายใบยาสูบ 300 ppm
3. แช่ด้วยสารละลายใบยาสูบ 400 ppm
4. แช่ด้วยสารละลายใบยาสูบ 500 ppm

ในแต่ละกลุ่มทำการทดลองกับปลา 20 ตัว โดยปลาแต่ละตัวถือเป็น 1 ซ้ำ โดยใช้โหลขนาด 2000 มิลลิลิตร จำนวน 20 ใบ แต่ละใบใส่ปลา จำนวน 1 ตัว

ก่อนเริ่มการทดลองทำการนับจำนวนเห็บปลาที่พบในแต่ละกลุ่มการทดลองและหาค่าเฉลี่ยเห็บปลาภายในแต่ละกลุ่มการทดลอง (ตารางที่ 1) จำนวนเห็บปลาที่พบบนตัวปลาในแต่ละโหลถือเป็นระดับเริ่มต้นในปลาแต่ละตัว ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนเห็บปลาเมื่อครบกำหนดระยะเวลาที่ 5, 10, 15, 20, 30, 45 และ 60 นาที ตามลำดับ หลังจากครบกำหนดระยะเวลาแล้วนำปลาออกมาใส่ในตู้ปลาที่ใส่น้ำปราศจากสารละลายยาสูบ มีการให้อากาศ และสังเกตพฤติกรรมเป็นเวลา 2 วัน

3. การบันทึกและวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาช่วงระยะเวลาที่เห็บปลาแต่ละตัวหลุดออกจากตัวปลาที่ 5, 10, 15, 20, 30, 45 และ 60 นาที ตามลำดับ โดยเริ่มจับเวลาตั้งแต่ใส่สารละลายใบยาสูบลงไป จากนั้นนำค่าช่วงระยะเวลาที่เห็บปลาแต่ละตัวหลุดออกจากตัวปลามาหาค่าเวลาเฉลี่ยดังนี้

ค่าระยะเวลาเฉลี่ยที่เห็บปลาหลุดในปลาแต่ละตัว

$$= \frac{(5x) + (10x) + (15x) + (20x) + (30x) + (45x)+(60x)}{\text{จำนวนเห็บปลาทั้งหมด(ตัว)}}$$

หมายเหตุ: x คือจำนวนเห็บปลาที่หลุดในช่วงเวลาต่างๆ

นำข้อมูลค่าระยะเวลาเฉลี่ยของเห็บปลาในแต่ละกลุ่มการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนและทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference Test (LSD)

ผลการศึกษา

1. ผลของสารละลายใบยาสูบต่อปลาทอง

ผลการศึกษาพบว่า เมื่อนำปลาที่มีเห็บปลาเกาะอยู่มาแช่ในสารละลายใบยาสูบ ในระยะแรกปลายังคงว่ายน้ำปกติ เห็บปลาเริ่มหลุดออกจากตัวปลา ต่อมาความสามารถในการว่ายน้ำของปลาจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด โดยปลาจะเริ่มนิ่งเมื่อมีสิ่งมากระตุ้น ยกเว้นการกระตุ้นอย่างรุนแรงมาก แต่สมดุลการทรงตัวยังคงเป็นปกติ เห็บปลาเริ่มหลุดออกจากตัวปลาจนหมด หลังจากนั้นปลาเริ่มว่ายน้ำผิดปกติ การทรงตัวและสมดุลของร่างกายเสียไป การขยับกระดูกปิดเหงือกเร็วและแรงขึ้นเรื่อยๆจนหยุด ในที่สุดปลาปากอ้าค้างและนิ่งไม่ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นใดๆ แต่เมื่อทำการเคลื่อนย้ายปลามาในตู้ปลาที่ไม่มีสารละลายใบยาสูบ ช่วงระยะเวลาหนึ่งปลาสามารถกลับมาหายใจ เริ่มตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นและสามารถว่ายน้ำได้ตามปกติ

2. ผลของสารละลายใบยาสูบต่อการกำจัดเห็บปลาและระยะเวลาในการกำจัดเห็บปลา

จากผลการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยของเวลาที่เห็บปลาหลุดออกจากกลุ่มปลาทดลองที่ใช้สารละลายใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm มีค่าการ

ใช้เวลาเฉลี่ยนานที่สุด (20.49±3.19 นาที) โดยใช้ระยะเวลามากกว่ากลุ่มการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 300, 400 และ 500 ppm อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) และที่ระดับความเข้มข้น 300 ppm ค่าเฉลี่ยของเวลาที่ทำให้เห็บหลุด (17.48±1.86 นาที) มากกว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 500 ppm อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) สำหรับที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 500 ppm มีค่าเฉลี่ยของเวลาเท่ากับ 7.87 ±1.71 นาที และ 6.94 ±1.87 นาที ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 2)

3. ผลข้างเคียงของสารละลายใบยาสูบที่เกิดกับปลาทอง

หลังจากย้ายปลาในแต่ละกลุ่มการทดลองลงในบ่อปลาที่มีน้ำปราศจากสารละลายใบยาสูบเป็นเวลา 2 วัน พบว่าปลาทองกลุ่มที่แช่ด้วยสารละลายใบยาสูบความเข้มข้น 200 และ 300 ppm มีลักษณะการทรงตัวขณะว่ายน้ำ อัตราการกินอาหารและอัตราการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นเป็นไปตามปกติ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 500 ppm สังเกตได้ว่าปลาทองมีอาการเซื่องซึม กินอาหารลดลง การว่ายน้ำยังไม่ปกติในช่วงวันที่ 1 จากนั้นจึงเริ่มดีขึ้นจนเป็นปกติ

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาผลของสารละลายใบยาสูบเพื่อควบคุมโรคเห็บปลาที่ระดับความเข้มข้น 200, 300, 400 และ 500 ppm พบว่าระยะเวลาเฉลี่ยที่เห็บปลาหลุดออกจากตัวปลาจนหมดคือ 20.49 ± 3.19, 17.48 ± 1.86, 7.87 ± 1.71 และ 6.94 ± 1.87 ตามลำดับ ซึ่งหากคำนึงถึงความปลอดภัยต่อตัวปลาเป็นหลัก จะพบว่าสารละลายใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการใช้กำจัดเห็บปลา ถึงแม้จะใช้เวลานานที่สุด (20.49 นาที) ซึ่งนานกว่าที่ระดับความเข้มข้น 300, 400 และ 500 ppm อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) แต่ไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อตัวปลา

ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายใบยาสูบ 300 ppm พบว่าเห็บปลาหลุดออกจากตัวปลาที่เวลาเฉลี่ย 17.48 นาที ใช้เวลานานกว่าที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 500 ppm อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) แต่ปลาจะสูญเสียการทรงตัว ว่ายน้ำผิดปกติและหายใจถี่ขึ้นอย่างมากในช่วง 15 นาทีสุดท้ายของการทดลอง สารละลายใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 500 ppm สามารถทำให้เห็บปลาหลุดออกจากตัวปลาได้ภายในเวลา 7.87 และ 6.94 นาทีตามลำดับ ซึ่งใช้ระยะเวลาน้อยที่สุดแต่เมื่อสังเกตอาการของปลาหลังจากแช่สารละลายยาสูบเป็นระยะเวลา 2 วัน พบว่าปลาทองมีอาการเซื่องซึม อัตรากินอาหารลดลง และการว่ายน้ำยังไม่ปกติในช่วงแรก ดังนั้นการใช้สารละลายที่ความเข้มข้น 400 และ 500 ppm ให้ผลในการทำให้เห็บหลุดในระยะเวลาสั้นแต่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อตัวปลาได้ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากนิโคตินในสารละลายใบยาสูบ ซึ่ง Edward et al. (2007) ทำการศึกษาผลกระทบของนิโคตินในด้านพฤติกรรมและกายวิภาคของปลาม้าลาย (*Danio rerio*) โดยทดลองแช่ในสารละลายนิโคตินความเข้มข้น 50 ppm และ 100 ppm ในตู้ปลา พบว่าทำให้ปลามีอัตราการว่ายน้ำลดลงในนาทีแรก และมีอัตราการว่ายน้ำสูงขึ้นใน 5 นาทีต่อมา เมื่อระยะเวลาผ่านไป 40 นาทีจะไม่มีผลต่อปลา แสดงว่านิโคตินมีผลไปกระตุ้นการทำงานของระบบประสาททำให้ปลามีอัตราการว่ายน้ำสูงขึ้น ตื่นเต้น กระวนกระวาย และมีผลต่อระบบหายใจ และ Omoniyi et al. (2002) ศึกษาผลกระทบของใบยาสูบที่ความเข้มข้นต่ำและสูงต่อน้ำหนักและเลือดของปลาดุกพันธุ์อาฟริกัน (*Clarias gariepinus*) พบว่าเมื่อแช่ปลาในสารละลายยาสูบ ความเข้มข้น 0.30, 0.15, 0.10 และ 0.05 กรัมต่อลิตร นาน 21 วัน ปลาจะมีน้ำหนักลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นตามลำดับและมีอาการโลหิตจาง

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้สารละลายใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm จะมี

ประสิทธิภาพดีที่สุดแม้ว่าจะใช้ระยะเวลาที่ทำให้เห็บหลุดจากตัวปลานานกว่าความเข้มข้นที่สูงกว่า การใช้สารละลายใบยาสูบระดับความเข้มข้น 400 และ 500 ppm ใช้ระยะเวลาในการกำจัดเห็บปลาน้อยที่สุด (7.87 ± 1.71 นาที และ 6.94 ± 1.87 นาที) แต่มีผลข้างเคียงต่อปลา หากมีการนำมาใช้จะต้องลดระยะเวลาในการแช่ให้สั้นลงไม่เกิน 5 นาที แล้วจึงย้ายปลาลงในบ่อที่มีน้ำสะอาดและมีระบบการให้อากาศ และควรทำซ้ำในวันถัดไป เพื่อให้การกำจัดเห็บปลามีประสิทธิภาพและไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อตัวปลา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี การเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากรวิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรีที่ให้การสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และ นงนุช อ๋องสุวรรณ. 2530. การเพาะพันธุ์ปลาทอง. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, บางเขน กรุงเทพ. 8 หน้า

Bloomquist, J. R. 1999. Insecticides: Chemistries and Characteristics. Department of Entomology, Verginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia.

Edward, D., Levin. Z. B. and Daniel, T. C. 2007. Anxiolytic effects of nicotine in Zebrafish. **Physiology and Behavior.** 90: 54 - 58.

Joel, W. M. and George, D. E. 2001. An updated classification of the recent crustacean. No. 39 Sciences series. Natural History Museum of Angeles County, California, U.S.A.

Margaret, A.W. 2004. Freshwater Parasites: Ichy and Indigestible, Part Two. **Aquarium Fish International.** 16: 1.

Omoniyi, I. Agbon, A. O. and Sodunke, S. A. 2002 Effect of lethal and sub-lethal concentrations of tobacco (*Nicotiana tobacum*) leaf dust extract on weight and hematological changes in *Clarias gariepinus*(Burchell). **Journal of Applied Sciences and Environmental Management.** 6: 37 - 41

ตารางที่ 1. จำนวนเห็บปลาเฉลี่ยก่อนเริ่มทำการทดลอง (ตัว/ปลา 1 ตัว)

ความเข้มข้นของสารละลายใบยาสูบ (ppm)	จำนวนเห็บปลาเฉลี่ยก่อนเริ่มทำการทดลอง (ตัว/ปลา 1 ตัว)
200	6.25 ± 2.49
300	6.20 ± 1.77
400	6.70 ± 2.54
500	6.20 ± 2.26

ตารางที่ 2. ระยะเวลาเฉลี่ยที่เห็บปลาหลุดออกจากปลากลุ่มทดลอง (นาที)

ความเข้มข้นของสารละลายใบยาสูบ (ppm)	ระยะเวลาเฉลี่ยที่เห็บปลาหลุดออกจากตัวปลา (นาที)
200	20.49 ± 3.19 a
300	17.48 ± 1.86 b
400	7.87 ± 1.71 c
500	6.94 ± 1.87 c
$LSD_{0.01}$	1.8725

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.01) เมื่อใช้ค่า least significant differenence (LSD)