

พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์และวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว  
*Meretrix casta* Gmelin, 1791 บริเวณหาดแหลมกลัด จังหวัดตราด

**GAMETOGENESIS AND REPRODUCTIVE CYCLE OF  
*MERETRIX CASTA* GMELIN, 1791 AT LEAMKLAD BEACH,  
TRAT PROVINCE**

สุขใจ รัตนยวกร

Sukjai Rattanayuvakorn

คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์  
Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology, Isan,  
Surin Campus

ศิริวรรณ แวงสวัสดิ์

Siriwan Waewsawad

บัญชา นิลเกิด

Buncha Nilkerd

คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา  
Faculty of Marine Technology, Burapha University

คชนทร เฉลิมวัฒน์

Kashne Chalermwat

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา  
Faculty of Science, Burapha University

---

## บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างหอยตลับขาว *Meretrix casta* (*M. casta*) บริเวณหาดแหลมกลัด จังหวัดตราด ทุก ๆ เดือน เดือนละ 30 ตัวตลอดทั้งปี และทำการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคโดยกระบวนการทางพาราฟิน เทคนิค ย้อมสี hematoxylin และ eosin และวิเคราะห์ผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า หอยตลับขาวมีความยาวเปลือกเฉลี่ย  $39.93 \pm 1.12$  มิลลิเมตร ( $n=360$ ) เป็นเพศผู้ 143 ตัว (ร้อยละ 39.72) เพศเมีย 217 ตัว (ร้อยละ 60.28) หอยตลับขาวมีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ สเปอร์มาโตโกเนีย, สเปอร์มาโตไซต์, สเปอร์มาติด และสเปอร์มาโตซัว การพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมียแบ่งออกเป็น 6 ระยะ ได้แก่ ระยะโอโอโกเนีย โอโอไซต์ระยะหนึ่ง, โอโอไซต์

ระยะสอง, โอโอไซต์ระยะสาม, โอโอไซต์ระยะสี่ และโอโอไซต์ระยะห้า ส่วนการพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยตลับแบ่งออกเป็น 6 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 ระยะก่อนการพัฒนา ระยะที่ 2 ระยะเริ่มพัฒนา ระยะที่ 3 ระยะกำลังพัฒนา ระยะที่ 4 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก ระยะที่ 5 ระยะวางเซลล์สืบพันธุ์ และระยะที่ 6 ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ พบฤดูกาลการวางเซลล์สืบพันธุ์ของหอยตลับขาวอยู่ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนพฤศจิกายน

## ABSTRACT

Thirty Clams, *Meretrix casta* (*M. casta*) Gmelin, 1791 were collected from Laemklaed Beach, Trat every month all-year-round and examined using histological analysis through a paraffin technique in conjunction with hematoxylin and eosin staining for the study of gametogenesis, gonadal development and the spawning cycle. Clams in this study had an average maximum shell length of  $39.93 \pm 1.12$  millimeter ( $n=360$ ) Spermatocyte was divided into four stage: spermatogonium, spermatocyte, spermatid and spermatozoa, whereas oogonium, and oocytes stages 1-5, primary young oocyte, secondary young oocyte, previttalogenic young oocyte, vitellogenic oocyte and mature oocyte. The reproductive cycle was classified into six stages: prefollicular development, initial development, developing, mature, partially spawned and spent. There were spawning from April to November.

## คำนำ

หอยตลับขาว *M. casta* Gmelin, 1791 เป็นหอยสองฝาในวงศ์ Veneridae รูปร่างรีคล้ายรูปไข่ เปลือกหนา ผิวเปลือกเป็นมันเงา มีสีขาวเรียบ สีครีม สีน้ำตาลเป็นลายหรือสีน้ำตาลเข้มแพร่กระจายทั่วไปในอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน หอยตลับขาว *M. casta* มีชื่อท้องถิ่นว่าหอยตลับลาย หอยลูกไก่หรือหอยขาว (จินตนา และคณะ, 2547) หอยตลับนิยมบริโภคกันทั่วโลก เนื่องจากราคาไม่สูงมากและมีรสชาติดี ในประเทศสหรัฐอเมริกาและแคนาดานิยมบริโภคหอยตลับ *M. mercenaria* Linnaeus, 1758 ส่วนในกลุ่มประเทศเอเชีย เช่น เกาหลี ญี่ปุ่น อินเดีย ศรีลังกา และไต้หวัน นิยมบริโภคหอยตลับ *M. meretrix* Linnaeus, 1758 และมีหอยตลับบางชนิด เช่น *M. lamarckii* Deshayes, 1853 นิยมมากในญี่ปุ่น หอยตลับ *M. lusoria* นิยมมากในเกาหลีและไต้หวัน (Manzi and Castagna, 1989) ในประเทศไทยนิยมบริโภคและเก็บไปจำหน่ายทั้งเปลือก หรือต้มแกะเฉพาะเนื้อเพื่อส่งโรงงานบรรจุกระป๋องส่งออกจำหน่ายต่างประเทศ (สุนันท์, 2530)

ชายฝั่งทะเลตำบลแหลมกลัด จังหวัดตราด ลักษณะของหาดเป็นลานกว้างพื้นทรายปนโคลน มีความยาวประมาณ 1.5 กิโลเมตร ในอดีตเป็นบริเวณที่มีความอุดมสมบูรณ์ของหอยตลับขาว และ

พบเห็นสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นอีกเป็นจำนวนมากอยู่ร่วมกัน แต่ในปัจจุบันมีการเก็บหอยตลับขาวเป็นจำนวนมากไปบริโภคและเข้าสู่โรงงานอุตสาหกรรมทำหอยกระป๋อง เก็บได้เฉลี่ยประมาณ 700 - 1,000 ตัน/ปี (องค์การบริหารส่วนตำบลแหลมกลัด, 2547) ส่งผลกระทบกับปริมาณสิ่งมีชีวิตบริเวณนั้นลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว จึงจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์และฤดูกาลสืบพันธุ์เพื่อประโยชน์ในการอนุรักษ์ และการเพาะขยายพันธุ์หรือศึกษาเพื่อขยายผลในเชิงพาณิชย์ต่อไป

### ชีววิทยาของหอยตลับ

ลักษณะทางอนุกรมวิธานของหอยตลับขาว อยู่ใน Phylum Mollusca, Class Bivalvia, Family Veneridae, Genus *Meretrix*, Species *Meretrix casta* (Gmelin, 1791)

หอยตลับเป็นหอยสองฝาที่มีฝาเท่ากัน เป็นรูปสามเหลี่ยม ตรงกลางตัวนูนออก เปลือกหนา ผิวเปลือกมันวาวและมีลายเล็กน้อย มีสีน้ำตาลอ่อน บางชนิดเป็นสีน้ำตาลแดงและบางชนิดเปลือกเป็นสีขาวไม่มีลาย ส่วนด้านในของเปลือกจะมีสีขาวงาช้าง หอยตลับมีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Hard shell หรือ Venns shell มีชื่อสามัญไทยแตกต่างกันไปตามท้องถิ่น เช่น หอยตลับ หอยตลับด้าน หอยกระปุก (ชาวบ้านจังหวัดตราดใช้เรียก) และหอยหวาน เป็นต้น (สุนันท์ ทวยเจริญ และประนอม พรหมฉาย, 2534) หอยตลับมีฟันยึดที่แข็งแรงมาก มีลักษณะฟันเป็นแบบ heterodont ฝาทั้งสองข้างของหอยมีเอ็นยึดติดกันอยู่ทางด้านในใกล้กับ umbo กล้ามเนื้อยึดเปลือกของหอยตลับเป็นแบบ isomyarian ส่วนที่เป็นตัวหอยมีแผ่นบางที่เรียกว่าแมนเทิลคลุมอยู่สองด้าน แมนเทิลที่อยู่ด้านท้ายของตัวจะเชื่อมกันเป็นตอน ๆ ทำให้เกิดช่องแบ่งเป็นท่อทางน้ำไหลเข้า และท่อทางน้ำไหลออก (คเชนทร เฉลิมวัฒน์ และวรรณภา กสิฤกษ์, 2543) หอยตลับชอบอาศัยในดินทรายละเอียดปนโคลนในเขตน้ำขึ้น- น้ำลง โดยฝังตัวใต้ทรายลึกประมาณ 5-10 เซนติเมตร (Poutiers, 1998) ความเค็มเฉลี่ย 24-32 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิเฉลี่ย 18-24 องศาเซลเซียส (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544)

หอยตลับใน Genus *Meretrix* พบมากบริเวณทะเลจีนใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้หลายประเทศ เช่น ประเทศอินโดนีเซีย พม่า อินเดีย ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และไต้หวัน (Manzi and Castagna, 1989) *M. meretrix* พบได้ทั่วไปในบริเวณตะวันตกอินโด - แปซิฟิก จากแอฟริกาตะวันออกถึงฟิลิปปินส์ ทางตะวันออกของญี่ปุ่นและทางตอนใต้ของอินโดนีเซีย ได้แก่ ประเทศเกาหลี ญี่ปุ่น อินเดีย ศรีลังกา ไต้หวัน และประเทศไทย (Poutiers, 1998) พบหอยตลับในสกุล *Meretrix* 4 ชนิดด้วยกันคือ *M. meretrix* พบมากที่ศรีราชา จังหวัดชลบุรี บ้านแพ้ว จังหวัดระยอง และบริเวณอ่าวมะนาว จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ *M. casta* พบมากบริเวณจังหวัดสุราษฎร์ธานี พังงา และตราด *M. planisulcata* พบมากบริเวณจังหวัดสงขลาและภูเก็ต *M. ovum* พบมากบริเวณจังหวัดสมุทรสงคราม (Yoosukh and Matsukuma, 2001)

## อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างหอยตลับขาวจากชายหาดแหลมกลัด จังหวัดตราด ซึ่งมีลักษณะเป็นดินทรายละเอียดปนโคลนโดยใช้คราด (เครื่องมือที่ชาวบ้านใช้ในการลากหอยตลับ) โดยเก็บหอยตลับขาวที่คาดว่าเป็นตัวเต็มวัย (เหตุผลที่ต้องเลือกเก็บขนาดที่คาดว่าเป็นตัวเต็มวัยเนื่องจากเราต้องการศึกษาหอยตลับที่สมบูรณ์เพศ) จำนวน 30 ตัว/เดือน ทุก ๆ เดือน วัดขนาดและชั่งน้ำหนักเปลือกและน้ำหนักเนื้อ แกะเนื้อแล้วแช่น้ำยาคงสภาพ 10 เปอร์เซ็นต์ neutral buffered formalin solution เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปผ่านขั้นตอนทางพาราฟินเทคนิคด้วยเครื่อง automatic tissue proccesser แล้วตัดด้วยเครื่อง Microtome นำสไลด์มาย้อมสี Hematoxylin and Eosin (Howard *et al.*, 2004) แล้วนำไปวิเคราะห์ผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงถ่ายภาพ

## ผลการศึกษา

หอยตลับขาวตัวเต็มวัยที่เก็บได้จากหาดแหลมกลัด จังหวัดตราด เป็นหอยที่ได้จากธรรมชาติ ทำให้ไม่สามารถทราบอายุหอยที่เก็บได้ หอยขนาดเล็กสุดที่สุ่มเก็บมีขนาด 23.50 มิลลิเมตร และขนาดใหญ่สุด 49.99 มิลลิเมตร ซึ่งเมื่อนำมาศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์พบว่ามีความสมบูรณ์เพศแล้ว การเก็บตัวอย่างหอยตลับขาวในการศึกษาวิจัย เลือกเก็บหอยที่มีขนาดที่คาดว่าเป็นตัวเต็มวัยเพื่อต้องการทราบถึงวงจรการสืบพันธุ์ในรอบปี หอยตลับขาวที่ใช้ทำการศึกษาทั้งหมดมีความยาวเปลือกเฉลี่ย  $39.93 \pm 1.12$  มิลลิเมตร ( $n=360$ ) แยกเป็นเพศผู้ 143 ตัว (ร้อยละ 39.72) และเพศเมีย 217 ตัว (ร้อยละ 60.28) หอยตลับขาวไม่สามารถแยกเพศได้เมื่อดูจากลักษณะภายนอกเมื่อแกะเปลือกดูลักษณะภายในก็ไม่สามารถแยกเพศได้เช่นกัน จะแยกเพศได้เมื่อศึกษาจากลักษณะทางจุลกายวิภาค จากการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคพบว่าอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยตลับขาวมีตำแหน่งอยู่ล้อมรอบต่อมย่อยอาหาร

### ฤดูกาลสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว

การศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว (ตารางที่ 1) ทำให้ทราบถึงฤดูกาลสืบพันธุ์ในรอบปี โดยพบว่าหอยตลับขาวมีฤดูกาลสืบพันธุ์จะเริ่มตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนพฤศจิกายน เนื่องจากเป็นช่วงที่พบหอยตลับขาวมีพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์อยู่ในระยะวางที่ 5 ระยะวางเซลล์สืบพันธุ์

จากผลการศึกษาพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ สามารถแบ่งพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ได้เป็น 6 ระยะ ดังนี้ ระยะที่ 1 ระยะก่อนการพัฒนา (prefollicular development) พบตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ และพบมากที่สุดร้อยละ 70 ในเดือนพฤศจิกายน ระยะที่ 2 คือ ระยะเริ่มพัฒนา

(initial development) พบตั้งแต่เดือนธันวาคมจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ และพบมากในเดือนมกราคมถึง ร้อยละ 60 ระยะที่ 3 คือ ระยะกำลังพัฒนา (developing) เริ่มพบตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม แต่พบมากที่เดือนมีนาคม ร้อยละ 50 ระยะที่ 4 คือ ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (mature) เริ่มตั้งแต่เดือน มีนาคมถึงเดือนกันยายน แต่พบมากเดือนเมษายนถึงร้อยละ 80 ในระยะนี้เพศผู้พบเซลล์สืบพันธุ์ใน ระยะสเปอร์มาโตซัวเต็มช่องว่างกลางฟอลลิเคิล และพบโอโอไซต์ในระยะ 5 ซึ่งเป็นระยะที่สมบูรณ์ ที่สุดของไข่ พบบรรจุเต็มในอวัยวะสืบพันธุ์ ถือว่าเป็นระยะที่มีความสมบูรณ์เพศมากที่สุด ระยะที่ 5 คือระยะวางเซลล์สืบพันธุ์ (spawning) พบตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนพฤศจิกายน แต่พบมากที่เดือน พฤษภาคม ร้อยละ 90 ระยะนี้พบเนื้อเยื่อประสานภายในอวัยวะสืบพันธุ์มีลักษณะฉีกขาด เนื่องจาก มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกไปพร้อม ๆ กัน นักวิชาการส่วนใหญ่จัดให้ระยะนี้เป็นระยะที่ควร แนะนำและป้องกันไม่ให้เกิดการจับ เนื่องจากควรแนะนำในเรื่องการอนุรักษ์เพื่อให้หอยตลับวางไข่ ได้เต็มที่ ระยะที่ 6 คือ ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent) เริ่มตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงเดือนธันวาคม แต่พบมากที่เดือนกรกฎาคม ร้อยละ 70 ในช่วงนี้อาจทำให้พบลูกหอยขนาดเล็ก ๆ จำนวนมาก

ตารางที่ 1. ระยะการพัฒนของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว

เดือน	ความยาวเฉลี่ย (มม.) $\bar{X} \pm SD (n=30)$	ระยะพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยตลับขาว (เปอร์เซ็นต์)					
		ระยะที่ 1	ระยะที่ 2	ระยะที่ 3	ระยะที่ 4	ระยะที่ 5	ระยะที่ 6
มกราคม	41.67 ± 1.67	30	60	10	0	0	0
กุมภาพันธ์	40.90 ± 2.90	20	40	40	0	0	0
มีนาคม	41.57 ± 4.12	0	0	50	50	0	0
เมษายน	37.10 ± 3.49	0	0	0	80	20	0
พฤษภาคม	42.23 ± 4.77	0	0	10	0	90	0
มิถุนายน	26.67 ± 3.17	0	0	0	20	30	50
กรกฎาคม	42.60 ± 2.84	0	0	0	10	20	70
สิงหาคม	37.10 ± 3.17	0	0	0	70	30	0
กันยายน	39.53 ± 5.41	0	0	0	20	60	20
ตุลาคม	40.13 ± 5.65	20	0	0	0	30	50
พฤศจิกายน	43.37 ± 4.94	70	0	0	0	10	20
ธันวาคม	46.33 ± 3.66	30	20	0	0	0	50



ภาพที่ 1. ลักษณะของหอยตลับขาวจากธรรมชาติที่พบเป็นจำนวนมากบริเวณชายฝั่งทะเลแหลมกลัด จังหวัดตราด

ตารางที่ 2. ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศผู้ แบ่งออกเป็น 4 ระยะ

ระยะ	ขนาด (μ) ยาว x กว้าง	ลักษณะเซลล์
สเปออร์มาโตโกเนีย (spermatogonia, sg)	3.52±0.05 x 3.51±0.07	เซลล์รูปร่างกลม มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ขยายเกือบเต็มเซลล์ ภายในนิวเคลียสพบเส้นโครมาตินมีสีน้ำตาลเข้มกระจายอยู่ทั่วไป ไซโทพลาซึมบางใสหุ้มนิวเคลียส เซลล์สเปออร์มาโตโกเนียจะเรียงตัวกันอยู่บริเวณขอบ ๆ ของผนังฟอลลิเคิลด้านใน
สเปออร์มาโตไซต์ (spermatocyte, sc)	3.13±0.01 x 3.11±0.04	เซลล์รูปร่างกลม นิวเคลียสยังคงมีขนาดใหญ่ แต่จะเล็กกว่าเซลล์ในระยะสเปออร์มาโตโกเนีย ภายในนิวเคลียสพบเส้นโครมาตินจำนวนมากขึ้นและกระจายอยู่ทั่วไป ไซโทพลาซึมมีขนาดใหญ่ขึ้นและมองเห็นชัดเจนขึ้น เนื่องจากนิวเคลียสมีขนาดเล็กลงเล็กน้อย ตำแหน่งของเซลล์สเปออร์มาโตไซต์ยังคงเรียงตัวอยู่ที่บริเวณขอบผนังฟอลลิเคิลด้านใน

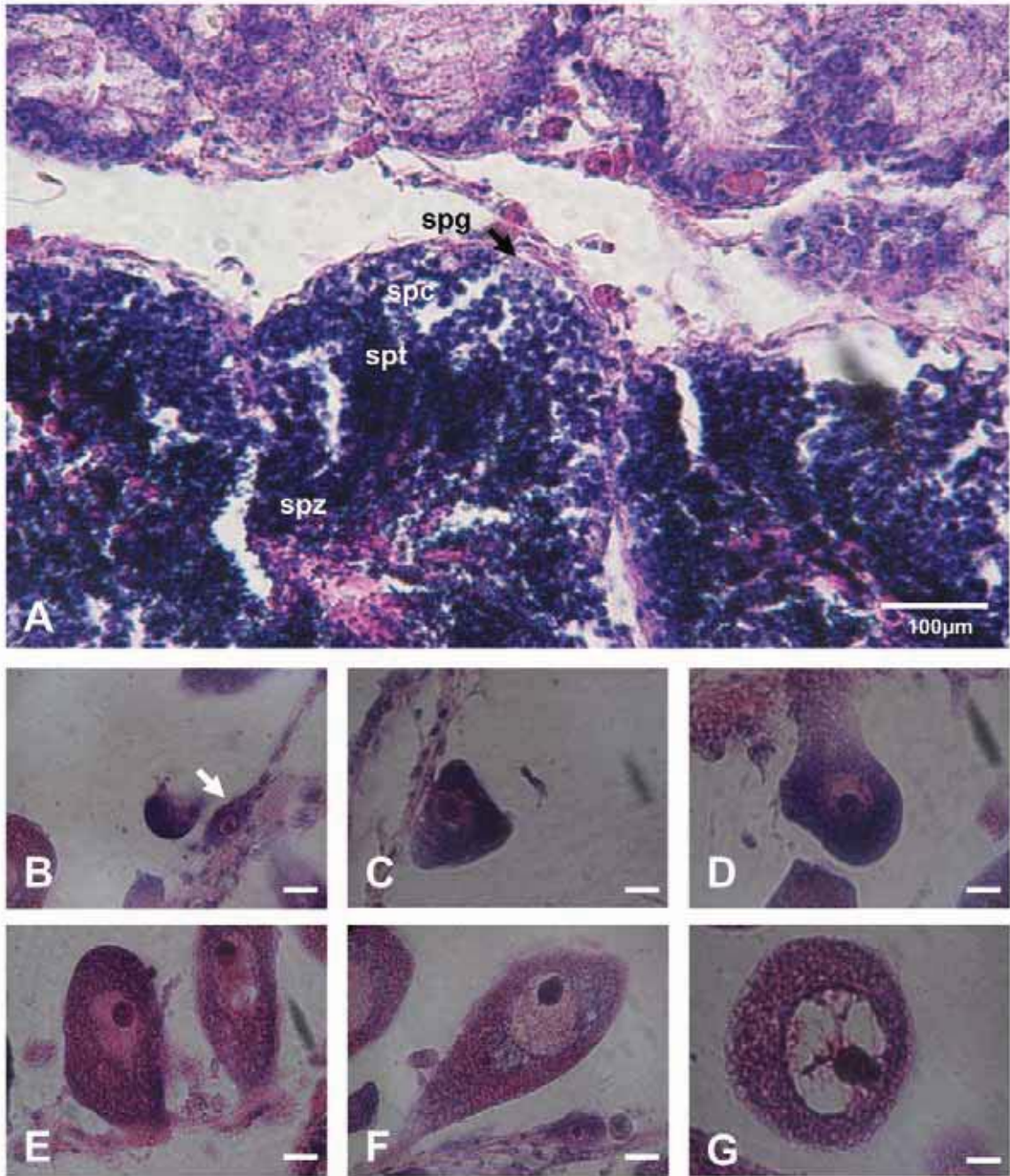
ตารางที่ 2. ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศผู้ แบ่งออกเป็น 4 ระยะ (ต่อ)

ระยะ	ขนาด ( $\mu$ ) ยาว x กว้าง	ลักษณะเซลล์
สเปออร์มาติด (spermatid, st)	2.53 $\pm$ 0.02 x 2.50 $\pm$ 0.02	เซลล์รูปร่างกลม แต่มีขนาดเล็กลงครึ่งหนึ่งของเซลล์สเปออร์มาโตไซต์ นิวเคลียสมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์และติดสีน้ำเงินเข้ม เนื่องจากเส้นโครมาตินมีการรวมตัวกันอย่างหนาแน่น ไซโทพลาซึมบางใส หุ้มนิวเคลียส พบสเปออร์มาติดเซลล์อยู่รวมกันเป็นกลุ่มและอยู่ถัดเข้ามาด้านในของฟอลลิเคิลมากขึ้น
สเปออร์มาโตซัว (spermatozoa, sz)	1.32 $\pm$ 0.01 x 1.29 $\pm$ 0.06	เป็นเซลล์มีขนาดเล็ก นิวเคลียสรูปร่างกลมและติดสีน้ำเงินเข้ม เห็นไซโทพลาซึมไม่ชัดเจนนัก พบส่วนหางของสเปออร์มาโตซัวติดสีชมพูกระจายอยู่เต็มช่องว่างกลางฟอลลิเคิล

ตารางที่ 3. ลักษณะของเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมีย แบ่งออกเป็น 6 ระยะ

ระยะ	ขนาด ( $\mu$ )	ลักษณะของเซลล์
โอโอโกเนีย (oogonium, og)	18.27 $\pm$ 1.55 x 4.53 $\pm$ 0.78	เซลล์รูปรีหรือรูปไข่ขนาดเล็ก ไม่ใหญ่นัก เซลล์ติดสีน้ำเงินเกาะติดที่ผนังฟอลลิเคิล ภายในนิวเคลียสพบยูโครมาตินค่อนข้างมากกระจายทั่วไป ไซโทพลาซึมมีขนาดเล็กหุ้มนิวเคลียสไว้
โอโอไซต์ระยะ 1 (oocyte 1, oc1)	18.87 $\pm$ 1.28 x 14.70 $\pm$ 0.84	เซลล์เป็นรูปสามเหลี่ยมหรือรูปรี แต่มีขนาดใหญ่ขึ้น เซลล์ยังคงติดสีน้ำเงินเข้มและเกาะติดที่ผนังฟอลลิเคิล นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ ยังพบยูโครมาตินกระจายอยู่ทั่วไป ไซโทพลาซึมขนาดใหญ่ขึ้น
โอโอไซต์ระยะ 2 (oocyte 2, oc2)	18.60 $\pm$ 1.10 x 17.37 $\pm$ 0.98	เซลล์มีรูปร่างกลมมากขึ้น แต่ยังคงเกาะติดกับผนังฟอลลิเคิล เซลล์มีขนาดใหญ่ นิวเคลียสใหญ่ขึ้นและพบยูโครมาตินกระจายอยู่ ไซโทพลาซึมใหญ่ขึ้น แต่ยังไม่พบ yolk granule
โอโอไซต์ระยะ 3 (previtellogenic oocyte, oc3)	36.87 $\pm$ 2.83 x 22.77 $\pm$ 3.09	เซลล์รูปรีขนาดใหญ่และมีบางส่วนของผนังเซลล์เกาะติดกับผนังฟอลลิเคิล นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ขึ้น เริ่มพบ yolk granule กระจายในไซโทพลาซึม ทำให้เซลล์เริ่มติดสีม่วงแดงมากขึ้น
โอโอไซต์ระยะ 4 (vitellgenic oocyte, oc4)	41.17 $\pm$ 3.37 x 35.77 $\pm$ 1.50	เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นมากและเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องว่างกลางฟอลลิเคิล พบบางส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ยังคงติดกับผนังฟอลลิเคิลจึงทำให้เซลล์มีรูปร่างรีคล้ายหยดน้ำ พบเฮเทอโรโครมาตินบริเวณรอบเยื่อหุ้มนิวเคลียส พบ yolk granule ขนาดเล็กติดสีชมพูกระจายอยู่ทั่วไปในไซโทพลาซึม
โอโอไซต์ระยะ 5 (mature oocyte, oc5)	45.23 $\pm$ 2.61 x 45.00 $\pm$ 2.15	เซลล์รูปทรงกลมขนาดใหญ่อยู่กลางฟอลลิเคิล นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ พบเฮเทอโรโครมาตินกระจายทั่วไปที่เยื่อหุ้มนิวเคลียส พบ yolk granule จำนวนมากกระจายทั่วไปในไซโทพลาซึม

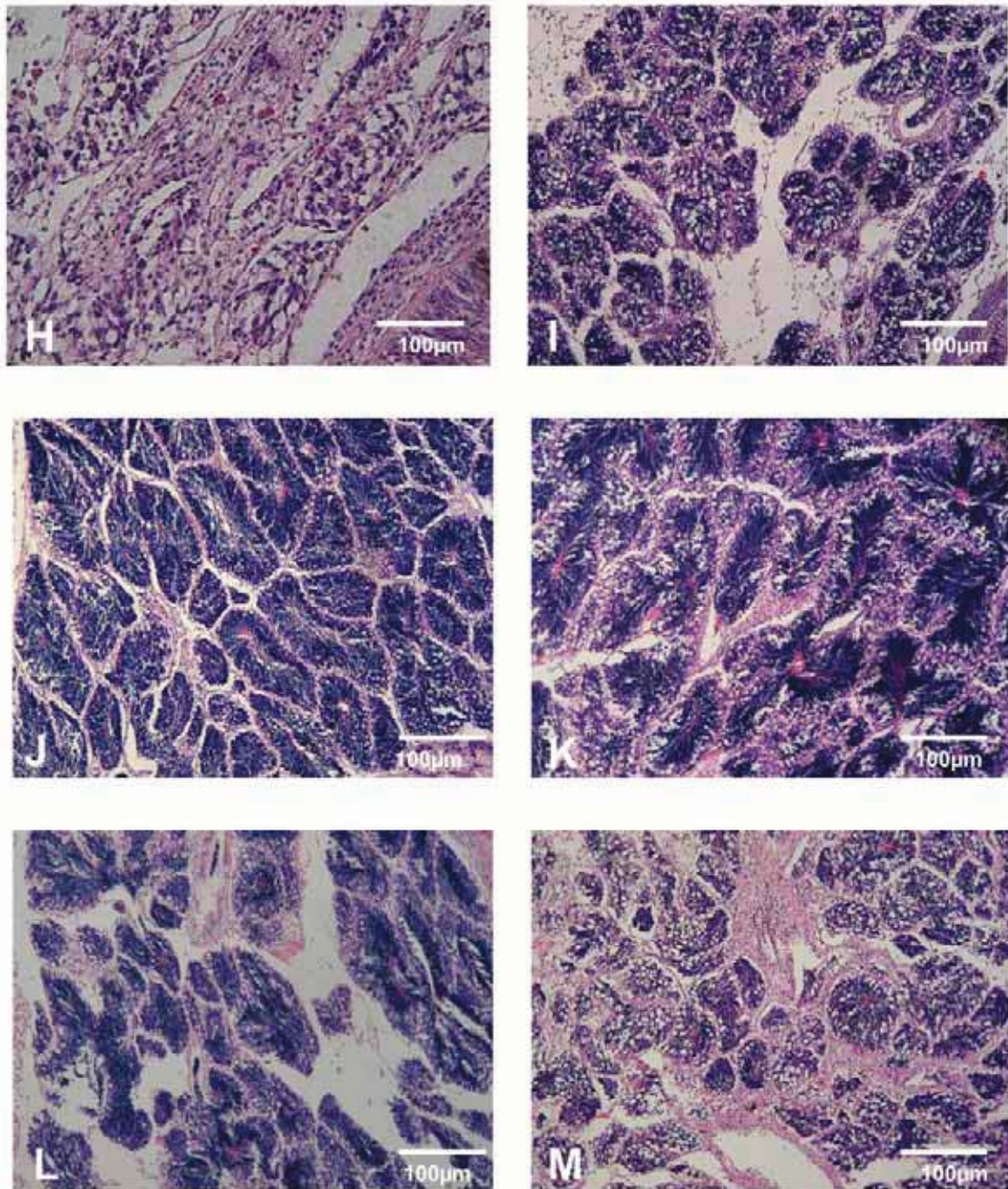




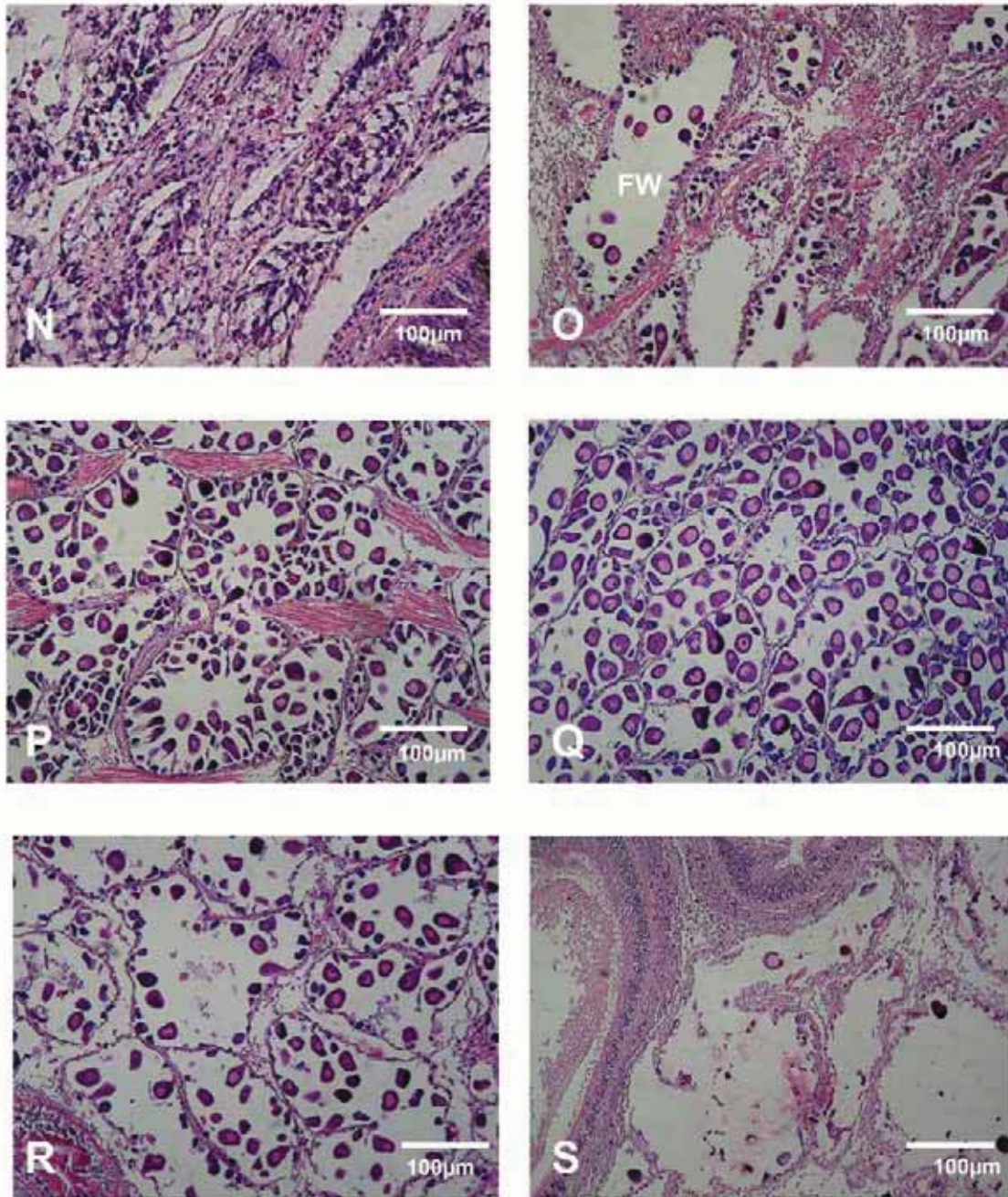
ภาพที่ 2. แสดงพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียของหอยตลับขาว A: พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ พบเซลล์ระยะสเปอร์มาโทโกเนีย (spg), สเปอร์มาโตไซต์ (spc), สเปอร์มาติด (spt) และสเปอร์มาโตซัว (spz) B-G : พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (ขนาด bar = 100  $\mu$ m) ประกอบด้วย B: โอโอโกเนีย (ลูกศร) C: โอโอไซต์ระยะที่ 1 D: โอโอไซต์ระยะที่ 2 E: โอโอไซต์ระยะที่ 3 F: โอโอไซต์ระยะที่ 4 G: โอโอไซต์ระยะที่ 5 (ใช้สีย้อมอีมาท็อกซาลินและอีโอซิน)

ตารางที่ 4. พัฒนาการอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยคลับขาวทั้งเพศผู้และเพศเมีย แบ่งออกเป็น 6 ระยะ

ระยะ	เพศผู้	เพศเมีย
1.ระยะก่อนการพัฒนา (prefollicular development)	พบอวัยวะสืบพันธุ์อยู่รอบ ๆ ทางอาหาร มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน จำนวนกระจายอยู่ทั่วไป มีการรวมกลุ่มเซลล์แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน แต่ไม่สามารถ แยกเพศได้ชัดเจน	พบอวัยวะสืบพันธุ์อยู่รอบ ๆ ทางอาหาร มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจำนวนกระจายอยู่ทั่วไป มี การรวมกลุ่มเซลล์แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน แต่ไม่สามารถ แยกเพศได้ชัดเจน
2.ระยะเริ่มพัฒนา (initial development)	พบฟอลลิเคิลร่วมกันเป็นกลุ่ม มีขนาดใหญ่ บริเวณผนังฟอลลิเคิลพบสเปอร์มาโตโกเนียและสเปอร์มาโตไซต์ ภายในฟอลลิเคิลพบช่องว่าง	พบฟอลลิเคิลเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีผนังค่อนข้างหนา บริเวณผนังฟอลลิเคิลพบโอโอโกเนีย, โอโอระยะ 1 และโอโอไซต์ ระยะ 2 กระจายทั่วไปจำนวนมาก
3.ระยะกำลังพัฒนา (developing)	รอบๆ ผนังฟอลลิเคิลพบสเปอร์มาโตโกเนียถัดมาพบสเปอร์มาโต เป็นสเปอร์ติคมา บางฟอลลิเคิลเริ่มพบสเปอร์มาโตซัว	ผนังฟอลลิเคิลหนาขึ้น พบโอโอโอโอไซต์ระยะ 1, โอโอไซต์ระยะ 2, โอโอไซต์ระยะ 3, โอโอไซต์ระยะ 4, เป็นจำนวนมาก
4.ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (mature)	พบเซลล์ทุกระยะภายใน ฟอลลิเคิล และพบสเปอร์มาโตซัวจำนวนมาก เต็มช่องว่างของฟอลลิเคิล สังเกตได้จากหางของสเปิร์มซึ่งติดสีชมพู	ผนังฟอลลิเคิลบาง พบ โอโอไซต์ทุกระยะจำนวนไม่มาก แต่พบโอโอไซต์ระยะ 5 จำนวนมากอยู่กลางฟอลลิเคิลพร้อมที่จะปล่อย
5.ระยะวางเซลล์สืบพันธุ์ (spawning)	พบสเปอร์มาโตซัวถูกปล่อยออกไปเป็นจำนวนมาก จึงพบว่าฟอลลิเคิลบางส่วนหายไป และมีการฉีกขาดของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันค่อนข้างมาก	เมื่อไข่ถูกปล่อยออกไปเป็น จำนวนมาก พบผนังฟอลลิเคิล เริ่มมีความหนาขึ้นและฉีกขาด ช่องว่างกลางฟอลลิเคิลมากขึ้น แต่ยังพบโอโออยู่บ้าง
6.ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent)	พบสเปอร์มาโตซัวถูกปล่อยออกไปจนหมด จึงเกิดช่องว่างในฟอลลิเคิลเป็นจำนวนมาก เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเริ่มประสานกันมากขึ้น เพื่อเตรียมเข้าระยะกำลังพัฒนา ต่อไป	ฟอลลิเคิลฉีกขาดและว่างเปล่า เนื่องจากมีการปล่อยไข่ออกไปจนเกือบหมด บางครั้งพบผนังเริ่มหนาขึ้นเนื่องจากมีการซ่อมแซม



ภาพที่ 3. ระยะพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยตลับขาวเพศผู้ ประกอบด้วย  
**H:** ระยะก่อนการพัฒนา (prefollicular development) **I:** ระยะเริ่มพัฒนา  
 (initial development) **J:** ระยะกำลังพัฒนา (developing) **K:** ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก  
 (mature) **L:** ระยะวางเซลล์สืบพันธุ์ (spawning) **M:** ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent)  
 (ใช้สีย้อมฮีมาทอกซาลินและอีโอซิน)



ภาพที่ 4. ระยะพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยตลับขาวเทศเมีย ประกอบด้วย  
 N: ระยะก่อนการพัฒนา (prefollicular development) O: ระยะเริ่มพัฒนา (initial development), FW: ฟอลลิเคิล P: ระยะกำลังพัฒนา (developing)  
 Q: ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก (mature) R: ระยะวางเซลล์สืบพันธุ์ (spawning),  
 S: ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ (spent) (ใช้สีย้อมฮีมาทอกซาลินและอีโอซิน)

## สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

หอยตลับขาวเป็นหอยสองฝา Family Vaneridae หอยตลับพบมากบริเวณทะเลจีนใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้หลายประเทศ เช่น ประเทศอินโดนีเซีย พม่า อินเดีย ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และไต้หวัน (Manzi and Castagna, 1989) ศรีลังกาและไทย (Poutiers, 1998) ในประเทศไทยพบหอยตลับ 4 ชนิด ได้แก่ *M. meretrix*, *M. casta*, *M. planisulcata* และ *M. ovum* ชนิดที่มีการนำมาใช้ประโยชน์มีเพียง 2 ชนิด คือ *M. meretrix* และ *M. casta* หอยตลับ *M. meretrix* พบที่จังหวัดชลบุรี ระยอง และอ่าวมะนาว จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ *M. casta* พบที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี พังงา และตราด *M. planisulcata* พบบริเวณจังหวัดสงขลาและภูเก็ต *M. ovum* พบที่จังหวัดสมุทรสงคราม (Yoosukh and Matsukuma, 2001) หอยตลับอาศัยบริเวณดินทรายละเอียดปนโคลนในเขตน้ำขึ้น-น้ำลง ฝังตัวใต้พื้นทรายลึกประมาณ 5-10 เซนติเมตร (Poutiers, 1998) ซอบอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีกระแสน้ำไม่แรงมาก น้ำมีความเค็มอยู่ระหว่าง 24-32 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิประมาณ 18-24 องศาเซลเซียส (คเชนทร, 2544) การดำรงชีวิตหอยตลับจะกินอาหารโดยการกรอง ดังนั้น ตลอดวงจรชีวิตของหอยตลับจึงกินอาหารแขวนลอย ส่วนใหญ่สิ่งที่กรองกิน ได้แก่ แพลงก์ตอนพืช รวมทั้งอินทรีย์วัตถุที่เน่าเปื่อย และสัตว์ขนาดเล็กด้วย

จากการศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับขาวบริเวณชายหาดแหลมกลัด จังหวัดตราด จำนวน 360 ตัว แยกเป็นเพศผู้ 143 ตัว (ร้อยละ 39.72) และเพศเมีย 217 ตัว (ร้อยละ 60.28) อัตราส่วนเพศของเพศผู้ : เพศเมีย เท่ากับ 1 : 1 ในหอยตลับขาวไม่สามารถบอกเพศได้เมื่อศึกษาจากลักษณะภายนอก แต่สังเกตได้จากการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคเท่านั้นที่พบว่าตำแหน่งของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยตลับขาวอยู่ล้อมรอบท่อทางเดินอาหารคล้ายกับหอยสองฝาทั่วไป (Hesselman *et al.*, 1989; Eversole, 1989; Garcia *et al.*, 1989; สุนันท์ และคณะ, 2526; วรธนา, 2543; ชูตินันท์, 2544) พบพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ แบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะสเปอร์มาโตโกเนีย สเปอร์มาโตไซต์ สเปอร์มาติด และสเปอร์มาโตซัว และพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียแบ่งออกเป็น 6 ระยะ ได้แก่ ระยะโอโอโกเนีย และโอโอไซต์ 5 ระยะ เมื่อศึกษาวงจรการสืบพันธุ์ของหอยตลับขาวทั้งเพศผู้และเพศเมียโดยทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ เดือนตลอดทั้งปี พบว่าสามารถจัดแบ่งได้เป็น 6 ระยะ คือ ระยะที่ 1 ระยะก่อนการพัฒนา ระยะที่ 2 ระยะเริ่มพัฒนา ระยะที่ 3 ระยะกำลังพัฒนา ระยะที่ 4 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก ระยะที่ 5 ระยะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์ และระยะที่ 6 ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์และวงจรสืบพันธุ์ของหอยตลับ *M. meretrix* Linnaeus, 1758 จากบริเวณหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี (วรธนา, 2543) ศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ของหอยตลับ *Meretrix* sp. บริเวณปลายแหลมกลัด ตำบลแหลมกลัด จังหวัดตราด (สุนันท์และปรานอม, 2529) ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ในหอย hard clams, *Mercenaria* spp.

(Hesselman *et al.*, 1989) มีบางรายงานจัดแบ่งวงจรการสืบพันธุ์ออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 ระยะเริ่มพัฒนา ระยะที่ 2 ระยะกำลังพัฒนา ระยะที่ 3 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก ระยะที่ 4 ระยะวางเซลล์สืบพันธุ์ และระยะสุดท้ายระยะที่ 5 ระยะหลังวางเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งพบในการศึกษาพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในหอยแครงที่จังหวัดสมุทรสงครามและเพชรบุรี (สุนันท์ และคณะ, 2526) การศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยแครง *Anadara granosa* Linnaeus, 1758 จากบริเวณเมืองใหม่ จังหวัดชลบุรี (ชุตินันท์, 2544) และ Eversole (1989) ศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของ *M. mercenaria*. และ Garcia *et al.*, (1989) ได้ศึกษาวงจรการสืบพันธุ์ของหอยมุก *Pinctada mazatlanii* และพบบางรายงานจัดแบ่งวงจรการสืบพันธุ์เป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 ระยะก่อนพัฒนา ระยะที่ 2 ระยะพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ ระยะที่ 3 ระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก และระยะที่ 4 ระยะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งพบในหอย *Venerupis decussate* (Breber, 1980) การจัดแบ่งวงจรการสืบพันธุ์ของหอยสองฝาชนิดต่าง ๆ ที่มีความแตกต่างกันนั้น ไม่ว่าจะแบ่งเป็น 4 ระยะ, 5 ระยะ หรือ 6 ระยะ นั้นขึ้นอยู่กับผู้วิจัยว่าสามารถอ่านผลให้เห็นความแตกต่างของแต่ละระยะได้ชัดเจน ผลจากการศึกษาสามารถบอกฤดูกาลการวางไข่ของหอยตลับขาว *M. casta* พบว่า ในเดือนมีนาคมถึงเดือนกันยายนอวัยวะสืบพันธุ์อยู่ในระยะเซลล์สืบพันธุ์สุก และในเดือนเมษายนถึงเดือนพฤศจิกายนเป็นระยะที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งพบว่าช่วงเวลาดังกล่าวเป็นช่วงเวลาที่ควรจะมีการอนุรักษ์หรือจัดการไม่ให้เกิดการจับหอยตลับขาวจากธรรมชาติบริเวณชายฝั่งแหลมกลัด จังหวัดตราด มีรายงานการศึกษาแล้วว่า ช่วงปลายฤดูร้อนถึงปลายฤดูฝนเป็นช่วงที่น้ำมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความเค็มค่อนข้างมาก การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีส่วนกระตุ้นให้หอยสองฝาส่วนใหญ่มีการปล่อยไข่และปล่อยสเปิร์ม (คเชนทร, 2544) และสอดคล้องกับรายงานการวิจัยการเหนี่ยวนำหรือการกระตุ้นให้หอยนางรม หอยตะโกรม หอยแมลงภู่ และหอยแครงปล่อยไข่และสเปิร์ม โดยใช้วิธีเพิ่มลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว (temperature shock) (คเชนทร, 2544) และ Eversole (1989) รายงานว่าความเค็มก็เป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดการวางเซลล์สืบพันธุ์ โดยศึกษาพบในหอย *Rangia cuneata* ว่าเมื่อทำการทดลองโดยการเพิ่มหรือลดความเค็มลง 5 ppt หอยก็จะเริ่มวางเซลล์สืบพันธุ์เช่นกัน ในการศึกษาของ ทรงชัย และคณะ (2530) ได้ทำการทดลองกระตุ้นให้หอยตลับปล่อยไข่และสเปิร์มโดยวิธีเพิ่มลดอุณหภูมิ ซึ่งเคยใช้ได้ผลดีกับหอยนางรม หอยตะโกรม หอยแมลงภู่ และหอยแครง แต่ใช้ไม่ได้ผลกับหอยตลับ อย่างไรก็ตามยังคงต้องให้ความสำคัญกับการอนุรักษ์หรือการเร่งเพาะขยายพันธุ์หอยตลับขาวให้กลับคืนสู่หาดแหลมกลัด จังหวัดตราด และคงอยู่คู่กันตลอดไป

## คำขอขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.วรเทพ มุฑุวรรณ ผู้อำนวยการ ดร.เสาวภา สวัสดิ์พีระ รองผู้อำนวยการ ฝ่ายวิชาการ ดร.แววตา ทองระอา หัวหน้าฝ่ายวิจัย และบุคลากรภายในหน่วยงานสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นหน่วยงานต้นสังกัดเดิมของข้าพเจ้าที่ให้การสนับสนุนให้การทำงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## บรรณานุกรม

1. จินตนา นักระนาด, รัตเกล้า เรืองขนาบ, กัญจณี พรหมจินดา และคณะ. 2547. การพัฒนาเทคนิคการผลิตลูกพันธุ์หอยตลับ *Meretrix meretrix*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 48. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง.
2. กเชนทร เฉลิมวัฒน์. 2544. การเพาะเลี้ยงหอย. ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี.
3. กเชนทร เฉลิมวัฒน์ และวรรณภา กสิฤกษ์. 2543. การศึกษาวงจรสืบพันธุ์ของหอยสองฝาบางชนิดที่พบมากบริเวณชายหาดบางแสนและอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี. มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี.
4. ชูตินันท์ ศรีสัมพันธ์. 2544. วงสืบพันธุ์ของหอยแครง *Anadara granosa* L. จากบริเวณเมืองใหม่ จังหวัดชลบุรี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี.
5. ทรงชัย สหวัชรินทร์, คมนันท์ ศิลปาจารย์, สุทธิไธ ลิมสุรัตน์ และคณะ. 2530. การเพาะพันธุ์หอยตลับ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 47/2530. สถานีประมงน้ำกร่อย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์.
6. วรรณภา กสิฤกษ์. 2543. การพัฒนาของเซลล์เพศและวงสืบพันธุ์ของหอยตลับ *Meretrix meretrix* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia : Veneridae) จากบริเวณหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี.
7. สุนันท์ ทวยเจริญ. 2530. ดัชนีความสมบูรณ์ของหอยตลับ (*Meretrix* sp.). เอกสารวิชาการฉบับที่ 19. ฝ่ายสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.
8. สุนันท์ ทวยเจริญ และประนอม พรหมผาย. 2534. สภาวะแวดล้อมบางประการที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของหอยตลับ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 11. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.
9. สุนันท์ ทวยเจริญ, วัฒนา ภูเจริญ และปรานอม เบ็ญจมาลย์. 2526. ศึกษาพัฒนาการของอวัยวะเพศหอยแครงเต็มวัยและสภาพแวดล้อม ที่จังหวัดสมุทรสงครามและเพชรบุรี. เอกสารวิชาการฉบับที่ 26. กรุงเทพฯ ฯ ฝ่ายสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

10. สุนันท์ ทวยเจริญ และปรานอม เบ็ญจมาลัย. 2529. ชีววิทยาการสืบพันธุ์ของหอยตลับ (*Meretrix* sp.) บริเวณปลายแหลมกลัด ตำบลแหลมกลัด อำเภอเมือง จังหวัดตราด. เอกสารวิชาการฉบับที่ 42. ฝ่ายสำรวจแหล่งเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.
11. องค์การบริหารส่วนตำบลแหลมกลัด. 2547. รายงานการประชุมโครงการการศึกษาสถานการณ์หอยขาว. องค์การบริหารส่วนตำบลแหลมกลัด.
12. Breber, P. 1980. Annual Gonadal Cycle in the Carpet Shell Clams *Venerupis decussatea* in Venice Lagoon, Italy. Proc. Nat' Shellf. Assoc. 70(3) : 31-35.
13. Eversole, A.G. 1989. Gametogenesis and Spawning in North American Clam Population: Implication For Culture in Calm Mariculture in North America. pp. 75-103. Netherlands: Elsevier Science Publishers.
14. Garcia-Dominguez, F., Ceballos-Vazquez, B.P. and Quezada, A.T. 1989. "Spawning Cycle of the Pearl Oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), (Pteriidae) at Isla Espiritu Santo, Baja California Sur, Mexico "J. Shellfish. Res. 15(2): 297-303
15. Hesselman, D.M., Barber, B.J. and Blake, N.J. 1989. The Reproductive Cycle of Adult Hard Clam, *Mercenaria* spp. In The India River Lagoon, Florida J. Shellfish Res. 8(1): 43-49
16. Howard, D.W., Lewis, E.J. Keller, B.J. et al. 2004. Histological techniques for marine bivalve mollusks and crustaceans. NOAA Technical Memorandum NOS. NCCOS 5, 218 pp.
17. Mekee, J.E. and Wolf, H.W. 1969. *Water Quality Criteria*. California State Water Resources Control Board Publishers.
18. Manzi, J.J. and Castagana, M. 1989. Clam Mariculture in North America. Netherlands : Elsevier Science Publishers.
19. Poutiers, J.M. 1998. "Bivalves (Acephala, Lamellibrachia, Polecypoda)" in The Living Marine Resources of the Westem Central Pacific Vol. 1 Seaweed, Corals, Bivalve and Gastropod. Kent E. Carpenter, editor. Rome: Food and Agriculture Organization of The United Nation.
20. Yoosukh, W. and Matsukuma, A. 2001. Taxonomic study on *Meretrix* (Mollusca : Bivalvia) From Thailand. Phuket Marine Biological Center Special Publication. 25(2).



# DEVELOPMENT OF THE DATABASE SYSTEM OF SAKON NAKHON'S INDIGENOUS FABRIC STRIPES

## การพัฒนาระบบฐานข้อมูลลายผ้าพื้นเมืองจังหวัดสกลนคร

Kannikar Kamolrat

กรรณิการ์ กมลรัตน์

Faculty of Science and Technology, Sakon Nakhon Rajabhat University

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร

---

### ABSTRACT

The development of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes is a research developed by using a technique of relational database design so that the system is able to store data efficiently and causes the least repetition of data. In this article stages of the system development have been utilized, consisting of preliminary data survey, system requirements determination, system design, program development, system test and improvement, as well as system installation and dissemination. The result of the system development is the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes, which stores indigenous fabric stripes data in relational database through a web application. This aims to benefit interested people who need to study it while enabling an easy and swift access to indigenous fabric stripes data.

### บทคัดย่อ

การพัฒนาระบบฐานข้อมูลลายผ้าพื้นเมืองจังหวัดสกลนคร เป็นงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นโดยใช้เทคนิคการออกแบบฐานข้อมูลแบบเชิงสัมพันธ์ เพื่อให้ระบบเก็บข้อมูลได้อย่างมีประสิทธิภาพเกิดความซ้ำซ้อนของข้อมูลน้อยที่สุด และในบทความนี้ได้ประยุกต์ใช้ขั้นตอนวิธีการในการพัฒนาระบบ อันประกอบไปด้วยการสำรวจข้อมูลเบื้องต้น การกำหนดความต้องการของระบบ การออกแบบระบบ การพัฒนาโปรแกรม การทดสอบและแก้ไขระบบ และสุดท้ายคือการติดตั้งและเผยแพร่ระบบที่พัฒนาขึ้นมา ผลลัพธ์ที่ได้คือ จากเดิมยังไม่มีเก็บรวบรวมข้อมูลลายผ้าอย่างเป็นระบบ จึงทำให้ได้ระบบฐานข้อมูลลายผ้าพื้นเมืองจังหวัดสกลนครที่เก็บรวบรวมข้อมูลลายผ้าในรูปแบบฐานข้อมูลที่มีความสัมพันธ์ผ่านเว็บแอปพลิเคชัน เพื่อเป็นประโยชน์ให้ผู้สนใจได้ศึกษา ค้นคว้า และง่ายต่อการเข้าถึงข้อมูลลายผ้าพื้นเมืองได้สะดวกและรวดเร็ว

## INTRODUCTION

Currently, there is an application of information technology (IT) on computers in the development of database in order to disseminate, store and search data. In Thailand numerous ideas have been proposed for the country development research, using IT in a new era of global economy to develop the country for the sake of its advancement.<sup>1</sup> Virtually, local communities are fraught with researchers who are determined to conduct research on local IT development, for instance, a project on IT for rural areas<sup>2</sup>, agricultural IT network system<sup>3</sup>, and research related to weaving invention for fabric stripe design.<sup>4</sup>

Sakon Nakhon is a Thai northeastern province fraught with indigenous groups of people, for instance, Taiso, Kalerng, Yor, Phutai, Yoy, etc. These people have been engaged in weaving indigenous cloth, both silk and cotton, for a long time. They are also quite knowledgeable to devise styles and stripes, with a distinct characteristic for a particular nature group. In fact, stripes and colors appearing on fabrics are considered a delicate artistic process of indigenous fabric weaving, with a unique technique of dyeing, coloring and weaving with threads of different colors, generating different stripes in different positions on fabrics, which is regarded as the art of indigenous fabric weaving<sup>5</sup>. Currently, these fabric stripes have been applied as Thai stripes, crescent moon stripe, water bug wing stripe and streak. For Sakon Nakhon's stripes, they are silk with Nang Aikum stripe and cotton cloth of indigo color and with Sakeddhamma stripe<sup>6</sup>. There is a myriad number of Sakon Nakhon's fabric stripes but there is no complete and systematic storage of them in the database system.

Based on the afore-mentioned reasons, the researcher has therefore had an idea to develop the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes. For this proposed system development, the relational database design technique is used and stages of the system development approach are applied<sup>7</sup>. It aims to store indigenous fabric stripes data via a web application and disseminate them to interested people so that they appreciate indigenous fabrics of E-sarn or Northeastern region of the country, while promoting production for a commercial purpose. In addition, the data stored may be used as preliminary data for a creation of new fabric stripes to suit time and fashion.

## Materials and Methods

The following are the details of the data of sample group and stages of an approach of developing the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes.

### 1. Sample group data

For the data of sample group used in this research, an interview of fabric stripe producers was done through a purposive sampling<sup>8</sup>, consisting of 17 districts, 166 groups of fabric stripe producers and 696 fabric stripe producers.

### 2. Stages of the system development approach

They consist of the following stages.

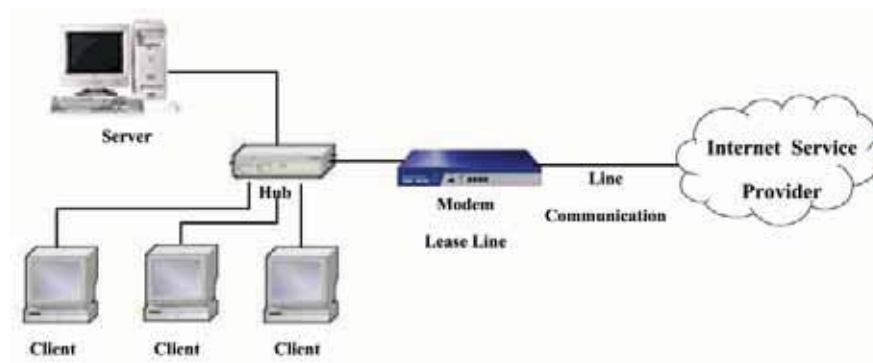
#### 2.1 Preliminary data survey

Based on a survey of preliminary data of fabric stripe producers from textbooks, research works, and workshops conducted in collaboration with development officers of each district, groups of fabric stripe producers were revealed. We were then encouraged to make a field trip in order to interview these groups of producers and collect fabric stripes data in detail, as well as to survey the requirements of the system to be developed, so as to be used for the system development in the next section.

#### 2.2 System requirements determination

##### 1) Hardware

The system hardware is such computer materials as client server, and network equipment as hub, cable, card LAN, etc, as illustrated in Figure 1. In this research, the hardware system of Sakon Nakhon Rajabhat University was used.



**Figure 1. Architecture of network system for database system of Sakon Nakhon's Indigenous Fabric Stripes.**

2) Software

It is an application on the program writing to develop the system as designed. The program language used to develop the system is Personal Home Page (PHP) while the database management system is MySQL.

2.3 System design

The design of the proposed system consists of 2 parts : database design and user interface design. Details are described below.

1) Database design

For database design, the relational database design technique was used. The detail of database design includes the following.

(1) Design of system structure chart

The design of the system structure chart of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes is displayed in Figure 2.

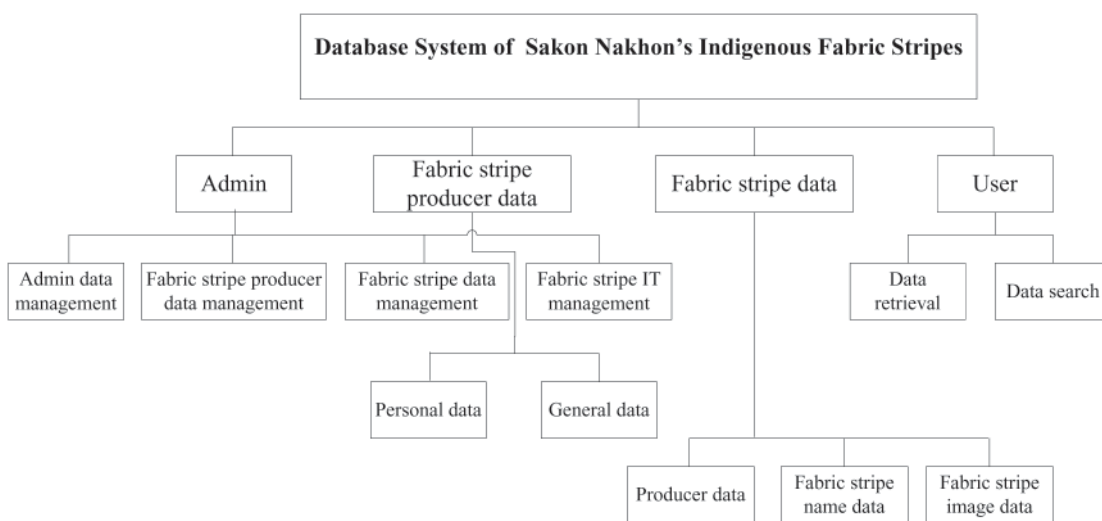


Figure 2. Structure chart of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes

(2) Context diagram

The design of context diagram of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes is shown in Figure 3.

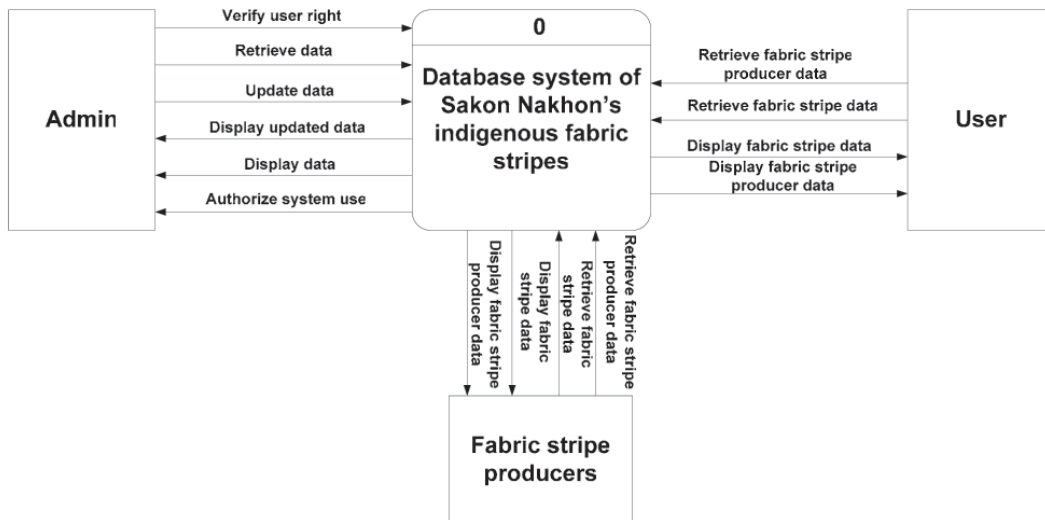


Figure 3. Context diagram of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes.

(3) E-R diagram

The design of an E-R diagram of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes is revealed in Figure 4.

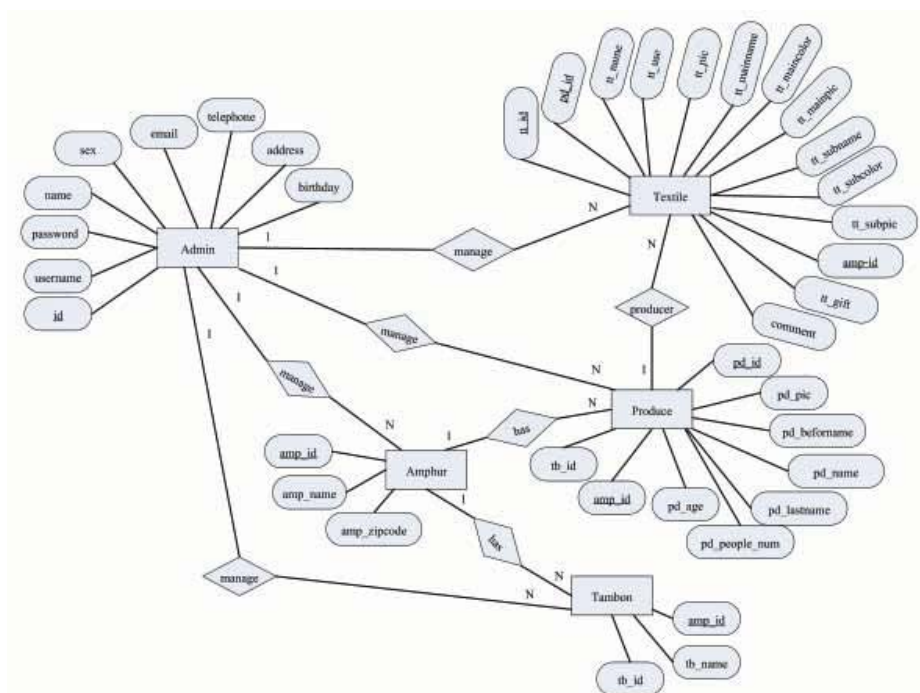


Figure 4. An E-R diagram of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes.

(4) Database schema

The database schema of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes consists of the following details.

**Table 1. Details of Admin data.**

<b>Table name</b>	: db_Admin		
<b>Primary key</b>	: id		
<b>Description</b>	: Table used to store details of Admin		
<b>Field name</b>	<b>Type</b>	<b>Size</b>	<b>Description</b>
id	int	9	Admin identification number
username	vchar	10	Name of system user
password	vchar	9	Password for system use
name	vchar	50	Name-surname
sex	vchar	5	Gender
Email	int	20	Electronic mail
Telephone	vchar	15	Phone number
address	vchar	-	User address
birthday		-	Date/month/year of user's birth

**Table 2. Details of district.**

<b>Table name</b>	: db_amphur		
<b>Primary key</b>	: amp_id		
<b>Description</b>	: Table used to store details of district		
<b>Field name</b>	<b>Type</b>	<b>Size</b>	<b>Description</b>
amp_id	int	9	Identification number of district
amp_name	vchar	50	District name
amp_zipcode	vchar	5	District zip code

**Table 3. Details of sub-district.**

<b>Table name</b> : tb_tambon			
<b>Primary key</b> : tb_id			
<b>Description</b> : Table used to store details of sub-district			
<b>Field name</b>	<b>Type</b>	<b>Size</b>	<b>Description</b>
amp_id	int	9	Identification number of district
amp_name	varchar	50	District name
amp_zipcode	varchar	5	District zip code

**Table 4. Details of fabric stripe producers data.**

<b>Table name</b> : db_produce			
<b>Primary key</b> : pd_id			
<b>Description</b> : Table used to store details of fabric stripe producers data			
<b>Field name</b>	<b>Type</b>	<b>Size</b>	<b>Description</b>
pd_id	int	11	ID of fabric stripe producer
pd_pic	varchar	255	Fabric stripe image
pd_beforname	varchar	6	Producer's title
pd_name	varchar	32	Name
pd_lastname	varchar	32	Surname
pd_people_num	varchar	13	ID card number
pd_age	varchar	5	Age
amp_id	int	9	District ID of fabric stripe producer (foreign key)
tb_id	int	9	Sub-district ID of fabric stripe producer (foreign key)
pd_ban	varchar	32	Name of home of fabric stripe producer
pd_idhome	varchar	15	Home registration number of fabric stripe producer

**Table 4. Details of fabric stripe producers data. (Continue)**

<b>Table name</b> : db_produce			
<b>Primary key</b> : pd_id			
<b>Description</b> : Table used to store details of fabric stripe producers data			
<b>Field name</b>	<b>Type</b>	<b>Size</b>	<b>Description</b>
pd_m	varchar	5	Moo
pd_road	varchar	50	Road
pd_zipcode	varchar	5	Zip code (Area code)
pd_tel	varchar	15	Home phone number
pd_mobile	varchar	10	Mobile phone number
pd_occ	varchar	32	Occupation
pd_edu	varchar	32	Education
pd_rel	varchar	32	Religion
pd_posi	varchar	255	Social status
pd_pro	varchar	255	Expertise (Skill)
pd_group	varchar	255	Name of group to which producer belongs



**Table 5. Details of fabric stripe data**

<b>Table name</b>	: db_textile		
<b>Primary key</b>	: tt_id		
<b>Description</b>	: Table used to store details of fabric stripe data		
<b>Field name</b>	<b>Type</b>	<b>Size</b>	<b>Description</b>
tt_id	int	11	ID of fabric stripe
pd_id	int	11	ID of fabric stripe producer (foreign key)
tt_name	varchar	32	Name of fabric stripe
tt_use	varchar	32	Fabric used for
tt_pic	varchar	255	Fabric stripe image
tt_mainname	varchar	32	Name of key stripe
tt_maincolor	varchar	32	Color of key stripe
tt_mainpic	varchar	255	Image of key stripe
tt_subname	varchar	32	Name of constituent stripe
tt_subcolor	varchar	32	Color of constituent stripe
tt_subpic	varchar	255	Image of constituent stripe
amp-id	int	9	District ID (foreign key)
tt_gift	varchar	150	Award received
comment	text	-	Additional suggestion

2) User interface design

The user interface design is for users to communicate with the system. The main system interfaces designed consist of the following.

(1) Main interface of website

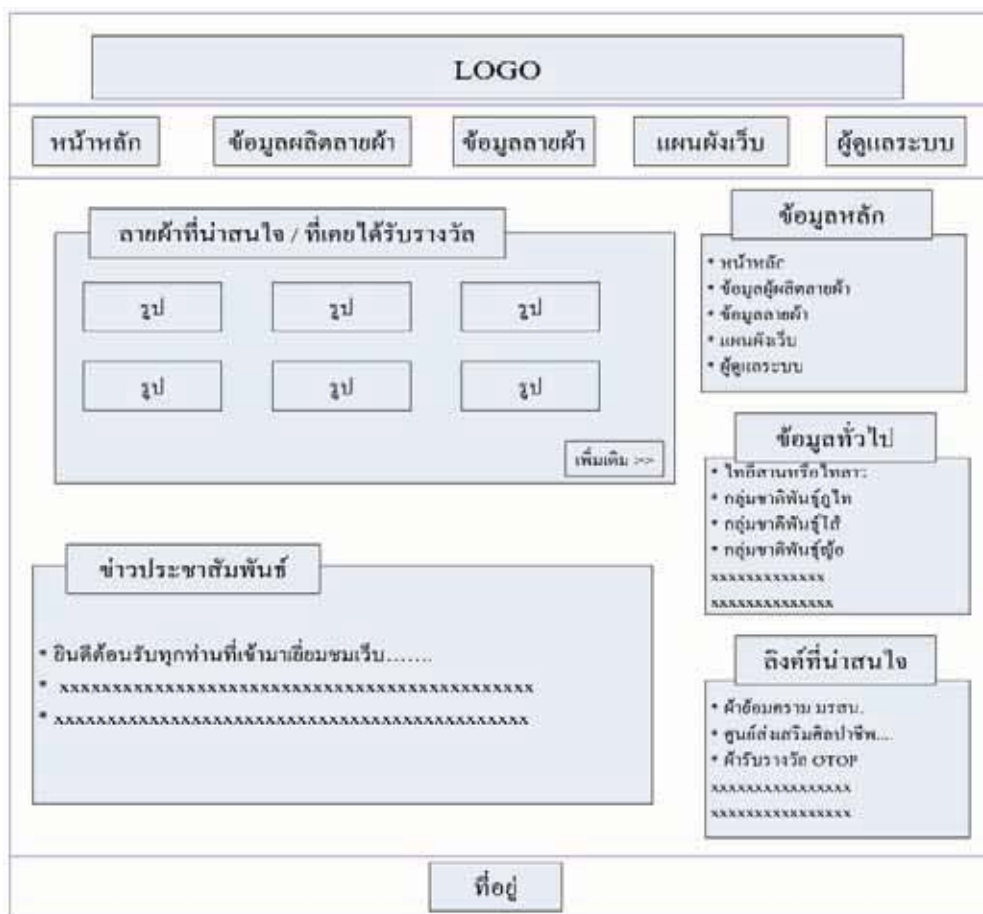


Figure 5. Design of main interface of website.

Table 6. Details of design of main interface of website.

Name	Description
Performance	Main interface of website
User	General user and Admin
Usage attribute	Be the system's first interface. It is for general users to view all data, and for Admin to use to manage data of the entire system.

(2) Interface displaying fabric stripe producer data

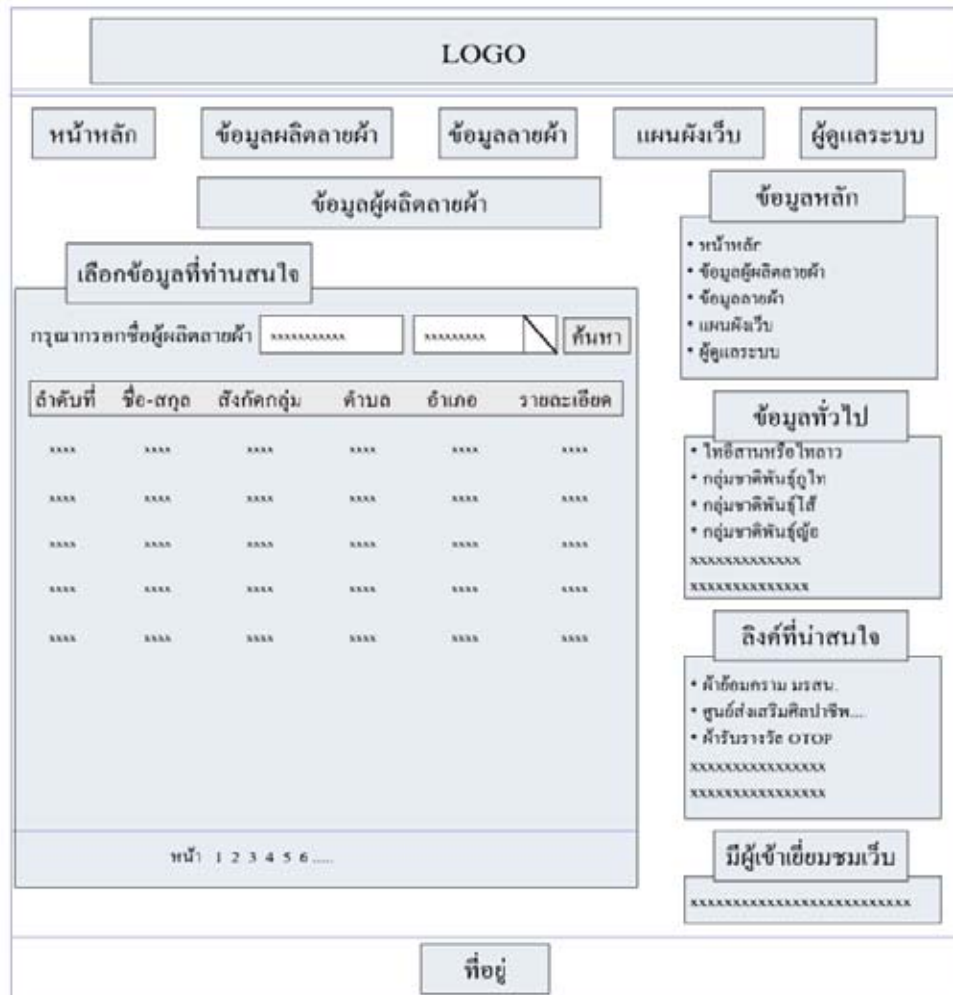


Figure 6. Design of interface for fabric stripe producer data.

Table 7. Details of design of interface for fabric stripe producers data.

Name	Description
Performance	Display fabric stripe producers data and more detail can also be viewed.
User	General users
Usage attribute	Interface displaying fabric stripe producers data. Users may select to search for fabric stripe producers data of each district.

(3) Interface displaying fabric stripes data

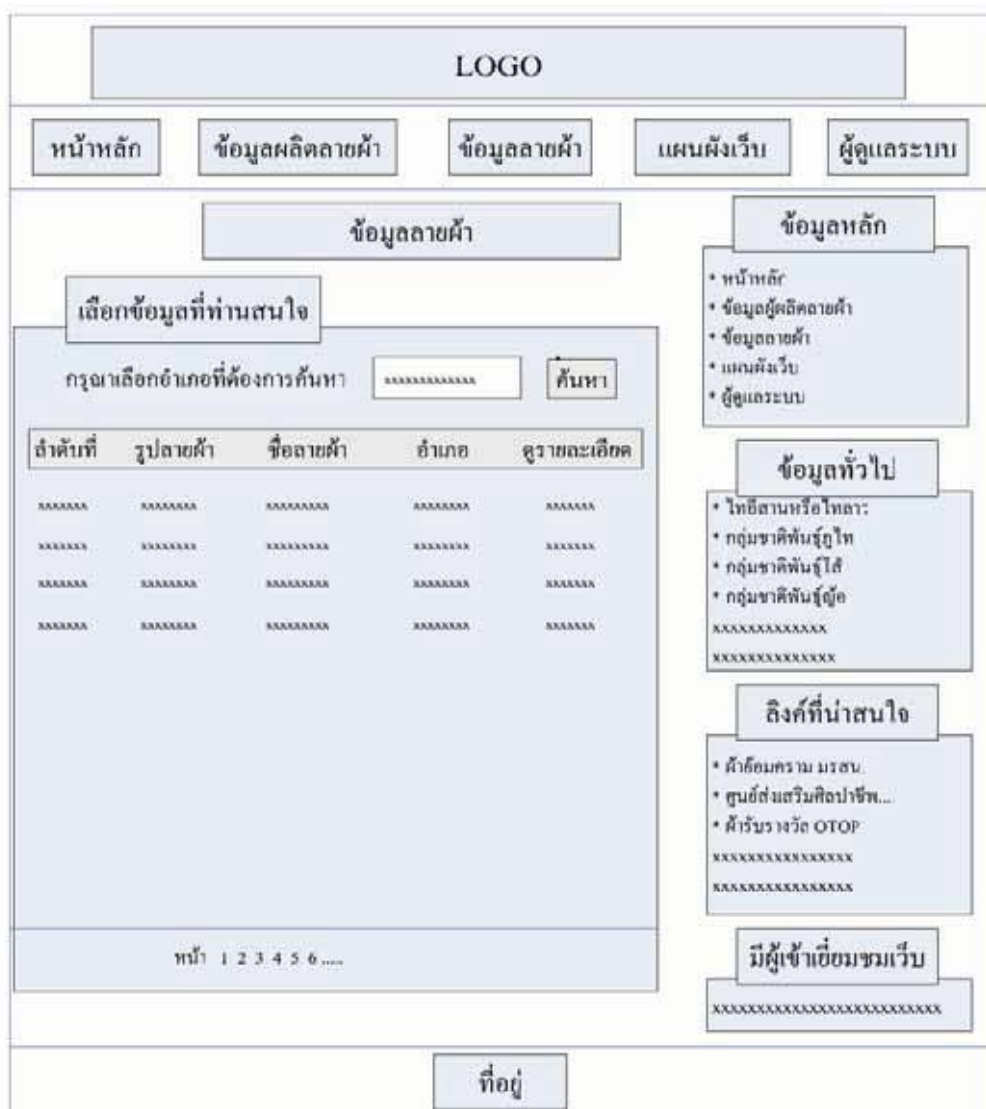


Figure 7. Design of interface for fabric stripes data.

Table 8. Details of design of interface for fabric stripes data.

Name	Description
Performance	Display fabric stripe data and more detail can also be viewed.
User	General users
Usage attribute	Interface displaying fabric stripes data. Users may select to search for fabric stripes data of each district.

(4) Interface for Admin's access to system

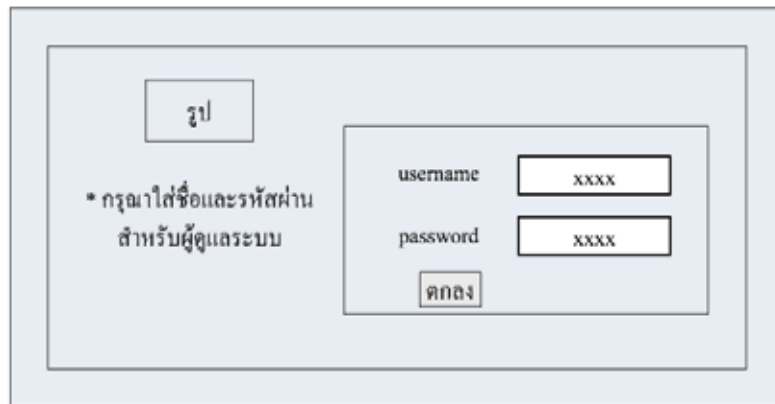


Figure 8. Design of interface for Admin's access to system.

Table 9. Details of design of interface for Admin's access to system.

Name	Description
Performance	Display interface for Admin to access the system.
User	Admin
Usage attribute	Interface for Admin to fill in his name and password to access and use the system.

(5) Main interface of Admin

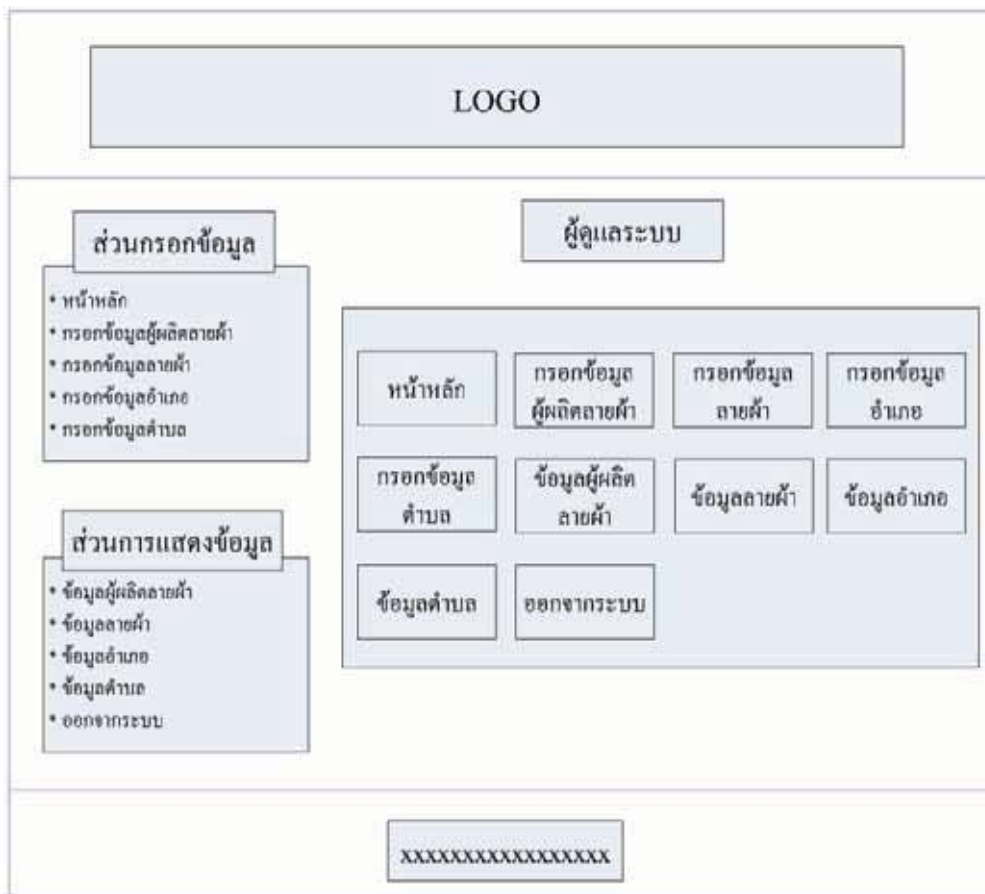


Figure 9. Design of main interface of Admin.

Table 10. Details of design of main interface of Admin.

Name	Description
Performance	Display all items for Admin to manage them.
User	Admin
Usage attribute	Interface for Admin to manage all data of the system.

(6) Interface for filling in fabric stripe producers data

The interface is designed for entering fabric producer data. It features a header with a 'LOGO' box and a navigation bar with ten 'รูป' (Image) buttons. The main content area is divided into several sections:

- กรอกข้อมูลผู้ผลิตลายผ้า** (Fabric Producer Data Entry): This section contains a 'ข้อมูลทั่วไป' (General Information) form with fields for:
  - อำเภอ (District): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - ตำบล (Sub-district): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - บ้าน (Village): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - บ้านเลขที่ (House No.): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - หมู่ที่ (Moo): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX] \* XXXXXXXXXXXXXXX
  - รหัสไปรษณีย์ (Postal Code): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - เบอร์โทรบ้าน (Home Phone): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX] \* XXXXXXXXXXXXXXX
  - เบอร์มือถือ (Mobile Phone): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX] \* XXXXXXXXXXXXXXX
  - อาชีพ (Occupation): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - xxxx: [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
- ข้อมูลส่วนบุคคล** (Personal Information): This section contains a form with:
  - คำนำหน้าชื่อ (Prefix):  นาย  นาง  นางสาว
  - ชื่อ (Name): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - นามสกุล (Surname): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - รหัสบัตรประชาชน (ID Card No.): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX] \* XXXXXXXXXXXXXXX
  - อายุ (Age): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - รูปผู้ผลิตลายผ้า (Producer Photo): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX] Browse... \* XXXXXX
  - อาชีพ (Occupation): [XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX]
  - Buttons: บันทึกข้อมูล (Save), รีเซ็ต (Reset)
- ส่วนกรอกข้อมูล** (Data Entry Section): A list of items:
  - \* หน้าหลัก (Home)
  - \* กรอกข้อมูลผู้ผลิตลายผ้า (Fabric Producer Data Entry)
  - \* กรอกข้อมูลลายผ้า (Fabric Pattern Data Entry)
  - \* กรอกข้อมูลอำเภอ (District Data Entry)
  - \* กรอกข้อมูลตำบล (Sub-district Data Entry)
- ส่วนการแสดงผลข้อมูล** (Data Display Section): A list of items:
  - \* ข้อมูลผู้ผลิตลายผ้า (Fabric Producer Data)
  - \* ข้อมูลลายผ้า (Fabric Pattern Data)
  - \* ข้อมูลอำเภอ (District Data)
  - \* ข้อมูลตำบล (Sub-district Data)
  - \* ออกจากระบบ (Logout)

At the bottom of the interface, there is a large box containing the text 'XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX'.

Figure 10. Design of interface for filling in fabric stripe producers data.

Table 11. Details of design of interface for filling in fabric stripe producers data.

Name	Description
Performance	Display interface for Admin to fill in fabric stripe producers data.
User	Admin
Usage attribute	Interface for Admin to fill in the detail of fabric stripe producers data.

(7) Interface for filling in fabric stripes data

Figure 11. Design of interface for filling in fabric stripes data.

Table 12. Details of design of interface for filling in fabric stripes data.

Name	Description
Performance	Display interface for Admin to fill in fabric stripes data.
User	Admin
Usage attribute	Interface for Admin to fill in the detail of fabric stripes data.



#### 2.4 Program development

The program development is a stage of program writing in order to obtain all working functions of the system as designed, including producing all documents related to program writing. This aims to explain the detail of how to write the program in order that the documents produced can be used as a reference in the stage of program testing and monitoring after the system has already been installed.

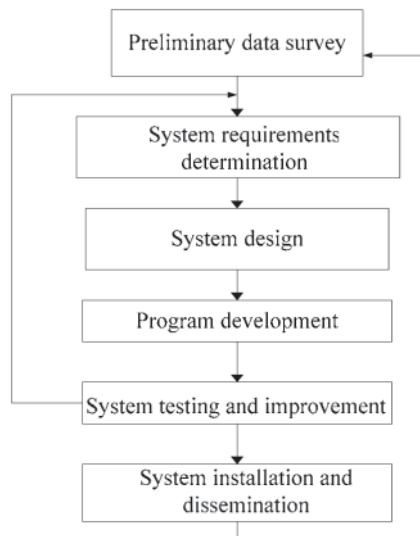
#### 2.5 System testing and improvement

After the database system has been developed, there is a need to test all functions of the working system so that it is accurate and ready to be used. In case errors are found, they will have to be corrected for the system's perfection and practicality. In this research, the system testers included the research team, community representatives, development officers and research assistants. They all took part in verifying such data as those on fabric stripe producers and fabric stripes to find out whether they were correct or which part (of data) should not be disseminated to the general public, etc. Similarly, they also maintenance of the program so that it was usable or the working system might be improved in the future.

#### 2.6 System installation and dissemination

When the database system developed had been found to be accurate and complete, it was installed by uploading its working system on the server of Sakon Nakhon Rajabhat University. The website address is <http://www.snru.ac.th/dbsp/index.php>. It is aimed at disseminating the information on the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes in order for interested people to conduct a study.

Based on the stages of system development discussed earlier, they may be summarized as the following.



**Figure 12. Stages of development of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes.**

## RESULTS

Based on the results of the development of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes, it is found that the system can perform in accordance with what has been designed and developed, and with the stages of system development. In this regard, it can manage the data on fabric stripe producers and fabric stripes as well as general data on Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes, through the storage and dissemination at the website <http://www.snru.ac.th/dbsp/index.php>. The results of development of the main interfaces of the system that have been developed include the following.

1. The result of development of main interface of website



Figure 13. The result of development of main interface of website.

2. The result of development of interface displaying fabric stripe producers data



Figure 14. The result of development of interface displaying fabric stripe producers data.

3. The result of development of interface displaying fabric stripes data



Figure 15. The result of development of interface displaying fabric stripes data.

4. The result of development of interface for Admin's access to system



Figure 16. The result of development of interface for Admin's access to system.

5. The result of development of main interface



Figure 17. The result of development of main interface

6. The result of development of interface for filling in fabric stripe producers data

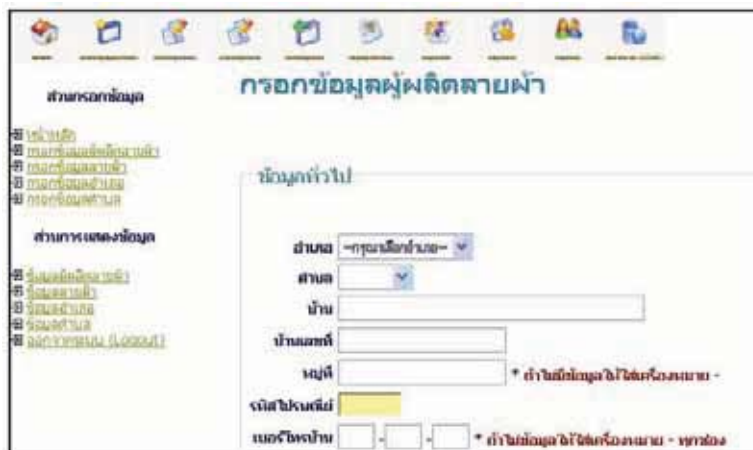


Figure 18. The result of development of interface for filling in fabric stripe producers data.

7. The result of development of interface for filling in fabric stripes data.

Figure 19. The result of development of interface for filling in fabric stripes data.

## Conclusion

Based on the development of the database system of Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes, it is found that the system, which has been developed based on the stages defined, can manage the data on fabric stripe producers and fabric stripes, as well as general data on Sakon Nakhon's indigenous fabric stripes. Previously, there was no systematic collection of these data. Above all, the system developed is beneficial to interested people to conduct a study of the data stored in it and helps make an easy and quick access to the information on indigenous fabric stripes.

## ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to express her sincere thanks to the National Research Council for its research funding.

## REFERENCES

1. Taweesak Kor-Anantakul and Pensri Kuntasopat. 2001. “The concept of Thailand’s development through the use of IT in a new era of global economy”. NECTEC, Year 8 (Copy 40) : May-June. pp.6-16.
2. Chadamas Thuvasethakul. 2003. The project on IT for countryside. NECTEC, Bangkok.
3. Roryol Chitdon and Pisuth Paibulrat. 2003. Agricultural information network system. NECTEC, Bangkok.
4. Sathit Buddhachaiyong. 1999. Weaving invention for fabric stripes design. NECTEC, Bangkok.
5. Rumpaipun Kaewsuriya. 1992. “Local textile, art on fabric, a web of Asian culture”. TAT Journal. Year 32 (Copy 9) : April.
6. Thitirut Vanruengrong. 2005. E-sarn indigenous fabrics and dress making. Faculty of Agricultural Technology, Sakon Nakhon Rajabhat University, Sakon Nakhon.
7. Jeffrey L. Whitten, Lonnie D. Bentley and Kevin C. Dittman. 2002. Systems analysis and design methods. 5<sup>th</sup> Edition. McGraw –Hill, New York.
8. Bunchum Srisa-ard. 2002. Fundamental research. Seventh edition, Sureeviyasart, Bangkok.





การเกิดการกลายพันธุ์ของยีนอะซิโตนแลคเตทซินเทส  
ในพันธุ์อ้อยทนทานสารอิมาซาเพอร์  
ACETOLACTATE SYNTHASE GENE MUTATION CONFERRING  
IMAZAPYR TOLERANCE IN SUGARCANE CLONE

นิสาชล เครื่องจันทร์

Nisachol Khruangchan

ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน  
Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus

อรวรรณ ชัชวาลการพานิชย์

Orawan Chatchawankanphanich

หน่วยปฏิบัติการวิจัยกลางไบโอเทค ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ  
BIOTEC Central Lab Unit, National Center of Genetic Engineering and Biotechnology

ทศพล พรพรหม

Tosapon Pornprom

คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University

---

## บทคัดย่อ

การศึกษาการเกิดการกลายพันธุ์ของยีนอะซิโตนแลคเตทซินเทส (*ALS*) ในพันธุ์อ้อย K97-32 ซึ่งทนทานสารอิมาซาเพอร์ เพื่อพิจารณากลไกของความทนทานสารในระดับชีวเคมีและชีวโมเลกุล โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ *ALS* ในพันธุ์อ้อยทนทานและพันธุ์อ้อยอ่อนแอ เมื่อพิจารณาจากค่า  $I_{50}$  พบว่า พันธุ์อ้อยทนทานมีกิจกรรมของเอนไซม์ *ALS* สูงกว่าพันธุ์อ้อยอ่อนแอ 16.67 เท่า จากการโคลนยีนและหาลำดับเบสในส่วนที่ครอบคลุมบริเวณ (domain) B และ E ของยีน *ALS* ขนาด 455 คู่เบส จากพันธุ์อ้อยทนทานและพันธุ์อ้อยอ่อนแอต่อสารอิมาซาเพอร์ เมื่อตรวจสอบลำดับเบสของยีน *ALS* ในพันธุ์อ้อยทนทาน พบว่า มีการกลายพันธุ์เฉพาะจุดเกิดขึ้นที่เป็นแบบการแทนที่ลำดับเบส (base-pair substitution) ของกรดอะมิโน alanine (A) ไปเป็น threonine (T)

ที่ตำแหน่ง 559 เมื่อเปรียบเทียบกับตำแหน่งลำดับกรดอะมิโนของ *Arabidopsis thaliana* (GenBank accession number X51514) จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ในพันธุ์อ้อยทนทานจะมีการกลายพันธุ์เฉพาะจุดที่เป็นแบบการแทนที่ลำดับเบสในบางส่วนของยีน *ALS* ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายที่สารแสดงปฏิกิริยาในการยับยั้งเอนไซม์ *ALS* ที่เป็นแบบการตอบสนองน้อย (less sensitivity) ต่อสารอิมาซาเพอร์ จึงทำให้พันธุ์อ้อยทนทานไม่ถูกยับยั้งโดยสารกำจัดวัชพืช

**คำสำคัญ:** เอนไซม์อะซีโตแลคเตทซินเทส, การแทนที่ลำดับเบส, อ้อยทนทานสารอิมาซาเพอร์, การตอบสนองน้อย, การกลายพันธุ์เฉพาะจุด

## ABSTRACT

A study on acetolactate synthase (*ALS*) gene mutation conferring imazapyr tolerance in sugarcane clone K97-32 was conducted to determine the biochemical and molecular basis of imazapyr tolerance in sugarcane. Change in *ALS* activity was compared between the tolerant and susceptible clones. Based on the  $I_{50}$  values, *ALS* activity of the tolerant clone was 16.67 fold higher than that of the susceptible one. The target sites of the *ALS* gene covering 455 bp of domain B and E from the tolerant and susceptible clones were amplified and sequenced. The tolerant clone showed a point mutation where there was a substitution of alanine (A) to threonine (T) at 559 position, numbering based on *Arabidopsis thaliana* (GenBank accession number X51514). This result suggested that the partial of *ALS* gene in imazapyr-tolerant sugarcane clone had a base substitution, resulting in the alteration of the gene at the target site, and making it less sensitive to inhibitory effect of imazapyr. Thus the imazapyr-tolerant sugarcane clone was not inhibited by the herbicide.

**Key words :** Acetolactate synthase, Base-pair substitution, Imazapyr-tolerance sugarcane, Less sensitivity, Point mutation.

## คำนำ

อ้อยเป็นพืชที่มีจีโนม (genome) สลับซับซ้อนและมีจำนวนชุดของโครโมโซมพื้นฐานมากกว่า 2 เท่าของสภาพ haploid หรือเรียกว่าเป็นพืชพวก polyploid อ้อยส่วนใหญ่ที่ปลูกในปัจจุบันเป็นลูกผสมระหว่าง *Saccharum officinarum* L. และอ้อยชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ใน species เดียวกัน<sup>10</sup> ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมมากกว่าพืชชนิดอื่น ๆ ซึ่งเป็นข้อจำกัดที่ทำให้การปรับปรุง

พันธุ์อ้อยยังไม่ค่อยก้าวหน้าเท่าที่ควร<sup>2</sup> อันเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตของอ้อยค่อนข้างต่ำ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีก ได้แก่ การเขตกรรม การชลประทาน และการจัดการดินยังไม่เหมาะสม รวมทั้งปัญหาศัตรูพืช ได้แก่ โรคพืช แมลงศัตรูพืช และวัชพืช เป็นต้น โดยเฉพาะปัญหาทางด้านวัชพืช ซึ่งทำให้ผลผลิตตกต่ำ เกษตรกรจึงนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชในการป้องกันและกำจัดวัชพืช แต่ถ้าใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย (non-selective) บางครั้งจะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อพืชปลูกได้ ดังนั้น การป้องกันไม่ให้พืชปลูกได้รับพิษจากสารกำจัดวัชพืชประเภทนี้ สามารถทำได้โดยการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทเลือกทำลาย (selective) หรือพันธุ์พืชที่มีความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช (herbicide-resistant crops) ซึ่งทำให้สามารถใช้สารกำจัดวัชพืชได้อย่างปลอดภัยต่อพืชปลูก

อิมาซาเพอร์ (imazapyr) เป็นสารกำจัดวัชพืชที่อยู่ในกลุ่ม imidazolinone ที่ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน (amino acid synthesis inhibitors) หรือเรียกว่ากลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ acetolactate synthase (ALS) (ALS-inhibiting herbicides) อิมาซาเพอร์เป็นสารประเภทไม่เลือกทำลาย สามารถเคลื่อนย้ายได้ทั้งภายในท่อลำเลียงน้ำและท่อลำเลียงอาหารของพืช สารจะเข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิโตแลคเตทซินเทส ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาในการยับยั้งภายในพืช (target site-based) ในการเข้าทำลายของสารกำจัดวัชพืชที่เกิดขึ้นภายในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ของเซลล์พืช โดยที่เอนไซม์ภายในพืชสังเคราะห์ขึ้นโดยการลอกรหัสพันธุกรรมจากยีนในนิวเคลียส และแปลรหัสยีนดังกล่าวบริเวณไซโทพลาซึม (cytoplasm) แล้วจะถูกส่งไปยังคลอโรพลาสต์เพื่อทำหน้าที่ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนต่อไป โดยจะมี pyruvate เป็นสารตั้งต้น และมีเอนไซม์ ALS เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งตัวกลาง (intermediates) ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่เป็นลูกโซ่ (branched chain amino acids) จะเกิดขึ้น 2 ปฏิกิริยา โดยที่ปฏิกิริยาแรกจะเกิดการรวมตัวของ 2 โมเลกุลของ pyruvate กลายเป็น 2-acetolactate ซึ่งเป็นตัวกลางในการสังเคราะห์กรดอะมิโน valine และ leucine ส่วนอีกหนึ่งปฏิกิริยาจะเกิดการรวมตัวของ pyruvate และ  $\alpha$ -keto-butyrate แล้วเปลี่ยนไปเป็น 2-aceto-2-hydroxybutyrate ซึ่งเป็นตัวกลางนำไปสร้างกรดอะมิโน isoleucine ต่อไป โดยกรดอะมิโนเหล่านี้จำเป็นในการเจริญเติบโตของพืช<sup>15</sup> การพิจารณากลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ALS พบว่ามี 2 รูปแบบ คือ การตอบสนองน้อย (less sensitivity) ต่อสารกำจัดวัชพืช<sup>6, 7, 11, 14</sup> และมีการสร้างเอนไซม์ที่มากกว่าปกติ (overproduction)<sup>6</sup> ซึ่งส่วนใหญ่กลไกของความต้านทานสารจะเป็นแบบการตอบสนองน้อยต่อสารกำจัดวัชพืช ส่วนกรณีที่เป็นแบบไม่ใช่ตำแหน่งเป้าหมายนั้นจะเกี่ยวข้องกับการดูดซึม (absorption) การเคลื่อนย้าย (translocation) และกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์พืชเพื่อที่จะทำให้สารกำจัดวัชพืชเข้าสู่ตำแหน่งเป้าหมายให้น้อยลงหรือช้าลง เป็นต้น<sup>6</sup>

ในการสร้างสายพันธุ์พืชต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชในระดับพืชทั้งต้น สามารถทำการคัดเลือกได้ในสภาพแปลงทดลอง โดยคัดเลือกต้นที่ไม่ถูกทำลายหรือถูกทำลายน้อยเมื่อได้รับสารกำจัดวัชพืช Punyadee และคณะ (2007) ได้คัดเลือกพันธุ์อ้อยทนทานต่อสารกำจัดวัชพืชอิมาซาเพอร์ โดยพันธุ์อ้อยทนทานจะมีการได้รับของพิษของสารน้อยเมื่อเทียบกับพันธุ์อ้อยอ่อนแอ สำหรับพืชที่ทนทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ALS นั้น ส่วนใหญ่จะพบการเกิดการกลายพันธุ์เป็นแบบ single amino acid ในตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยายับยั้งภายในพืช<sup>6, 17, 18</sup> จะเกิดที่บริเวณอนุรักษ์ (conserve domain) ที่อยู่ภายในยีน ALS 5 บริเวณ ได้แก่ บริเวณ A, B, C, D และ E โดยที่ Devine และ Shukla (2000) ได้รายงานว่า ส่วนใหญ่ความต้านทานสารในกลุ่ม Imidazolinone นั้นมีระดับความต้านทานที่สูงเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณตำแหน่ง B, C และ E อย่างไรก็ตาม กลไกของความทนทานที่เกิดขึ้นในพันธุ์อ้อยทนทาน สารอิมาซาเพอร์ ยังไม่ชัดเจน ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงได้ทำการพิจารณาเฉพาะส่วนที่เป็นตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืชเท่านั้น โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะซิโตแลคเตทซินเทส (ALS) รวมทั้งพิจารณาการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสบางส่วนของยีน ALS เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์อ้อยทนทานกับพันธุ์อ้อยอ่อนแอต่อสารอิมาซาเพอร์ เพื่อนำไปใช้เป็นดัชนีในการอธิบายเกี่ยวกับกลไกทางชีวเคมีและชีวโมเลกุลของความทนทานสารอิมาซาเพอร์ในระดับพืชทั้งต้น ตลอดจนนำไปใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์อ้อยให้ทนทานต่อสารกำจัดวัชพืชในอนาคตต่อไป

## ระเบียบวิธีวิจัย

### 1. พันธุ์อ้อย

ใช้พันธุ์อ้อย 2 พันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกในสภาพแปลงทดลอง<sup>12</sup> ประกอบด้วย พันธุ์ K97-32 ที่เป็นตัวแทนพันธุ์อ้อยในกลุ่มที่ทนทาน ซึ่งจะเรียกว่า พันธุ์อ้อยทนทาน (tolerant clone) และพันธุ์ K99-85 ที่เป็นตัวแทนพันธุ์อ้อยในกลุ่มที่อ่อนแอต่อสารอิมาซาเพอร์ ซึ่งจะเรียกว่า พันธุ์อ้อยอ่อนแอ (susceptible clone) ทำการปลูกอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ในกระถาง เมื่อดันอ้อยมีอายุ 30 วันหลังปลูกจึงนำไปทำการทดลองต่อไป

### 2. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะซิโตแลคเตทซินเทส

การสกัดเอนไซม์: นำใบพันธุ์อ้อยทนทานและพันธุ์อ้อยอ่อนแอที่อายุ 30 วันหลังจากปลูกตัวอย่างละ 2 กรัม บดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วนำมาสกัดเอนไซม์ ALS โดยประยุกต์จากวิธีการของ Osuna และคณะ (2003) ด้วย extraction buffer [ประกอบด้วย potassium phosphate ( $K_2HPO_4$ ) เข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.5 sodium pyruvate เข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์  $MgCl_2$  เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ thiamine pyrophosphate (TPP) เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ flavin adenine dinucleotide

(FAD) เข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ dithiothreitol (DTT) เข้มข้น 12 มิลลิโมลาร์ และ glycerol 10 เปอร์เซ็นต์ (1:9 V/V) 3 มิลลิกรัม/ตัวอย่างเซลล์ 1 กรัม แล้วเติม polyvinylpyrrolidone (PVPP) 0.5 กรัม ผสมให้เข้ากัน แล้วกรองด้วยผ้ากรอง 4 ชั้น จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 27,000 x g เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำการตกตะกอนโปรตีนโดยดูดสารละลายใส่ส่วนบนมาเติมด้วยสารละลาย  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ที่อิ่มตัว 50 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาตร 3 เท่าของปริมาตรสารละลายใส่ส่วนบน จากนั้นแช่ในน้ำแข็งนาน 60 นาที เพื่อให้การตกตะกอนของ crude enzyme เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 x g เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายใส่ส่วนบนทิ้ง นำตะกอนโปรตีนที่ได้ละลายด้วย extraction buffer ปริมาตร 0.3 มิลลิกรัม แล้วทำ desalting โดยใช้ Sephadex G-25 PD-10 คอลัมน์ ซึ่งผ่านการ equilibrate ด้วย elution buffer pH 7.5 [ประกอบด้วย  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  เข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.5  $\text{MgCl}_2$  เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ และ sodium pyruvate เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์] จากนั้นนำไปวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ ALS ในทันที

การวิเคราะห์เอนไซม์: ดูดสารละลายใส่ส่วนบนปริมาตร 0.05 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ เติม assay buffer ปริมาตร 0.1 มิลลิกรัม [ประกอบด้วย potassium phosphate ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) เข้มข้น 0.08 โมลาร์ pH 7.5 sodium pyruvate เข้มข้น 0.15 โมลาร์  $\text{MgCl}_2$  เข้มข้น 1.5 มิลลิโมลาร์ และ flavin adenine dinucleotide (FAD) เข้มข้น 160 ไมโครโมลาร์] เติมสารอิมิตเซอร์ในระดับความเข้มข้น 0, 0.01, 0.1, 1, 10 และ 100 ไมโครโมลาร์ แล้วเติม dibasic potassium phosphate (0.04 โมลาร์ pH 7.0) เพื่อปรับให้มีปริมาตรรวมทั้งหมด 0.25 มิลลิกรัม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ความเข้มข้น 3 โมลาร์ ปริมาตร 0.25 มิลลิกรัม แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อช่วยให้เกิดการ decarboxylate ของ acetolactate เป็น acetoin จากนั้นเติม  $\alpha$ -naphthol 0.25 มิลลิกรัม (5 กรัม/ลิตรที่ทำละลายใน 2.5 โมลาร์ NaOH) และ creatine 0.25 มิลลิกรัม (5 กรัม/ลิตร) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 x g ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายใส่ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร<sup>16</sup> และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ซึ่งได้ประยุกต์ตามวิธีการของ Bradford (1976) โดยใช้ bovine serum albumin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิกรัม เป็นสารละลายโปรตีนมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของเอนไซม์ ALS และโปรตีนเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน แล้วนำมาคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ALS โดยมีหน่วยเป็น นาโนโมล acetoin/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ( $\text{nmol acetoin mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ ) โดยที่ตัวชี้วัดกิจกรรมของเอนไซม์ ALS สามารถวัดเป็นปริมาณของ acetoin ได้ ภายหลังจากการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาของ acid-catalysed decarboxylation ของ 2-acetolactate เป็น acetoin<sup>16</sup> ในขั้นตอนแรกของการกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนดังกล่าว ซึ่งการรายงานผลกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ได้แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ ตามแผนการทดลองแบบ

2 x 6 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยที่ปัจจัยที่ 1 เป็นพันธุ์อ้อย มี 2 แบบ คือ พันธุ์อ้อยทนทาน และพันธุ์อ้อยอ่อนแอ ปัจจัยที่ 2 เป็นความเข้มข้นของสารอิมซาซาเฟอร์ มี 6 ระดับ คือ 0, 0.01, 0.1, 1, 10 และ 100 ไมโครโมลาร์ เมื่อพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติจึงใช้การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS และคำนวณหาค่าดัชนีของความต้านทานสาร โดยพิจารณา จากค่า  $I_{50}$  ของพันธุ์อ้อยทนทานต่อค่า  $I_{50}$  ของพันธุ์อ้อยอ่อนแอ

### 3. การโคลนยีนและการหาลำดับเบสบางส่วนของยีน ALS

นำตัวอย่างใบอ่อนของพันธุ์อ้อยทนทานและพันธุ์อ้อยอ่อนแอมาสกัด total RNA โดยประยุกต์ตามวิธีของ Verwoerd และคณะ (1989) โดยใช้ตัวอย่างใบอ่อนของอ้อย อย่างละ 2 กรัม มาบดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว ตักใส่หลอด microcentrifuge tube ที่มี extraction บัฟเฟอร์ (1 โมลาร์ Tris-HCl pH 9.5 + 1 เปอร์เซ็นต์ SDS) 300 ไมโครลิตร และ PCI (phenol:chloroform: isoamyl alcohol- 25:24:1 โดยปริมาตร) 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที นำสารละลายส่วนใสด้านบน ประมาณ 300 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่และเติม PCI 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว อุณหภูมิและเวลาเท่าเดิม นำสารละลายส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม 100 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล ปริมาตร 3 เท่าของสารละลาย และ 3 โมลาร์  $CH_3COONa$  pH. 5.4 ปริมาตร 0.1 เท่าของสารละลาย พลิกหลอดไปมาแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จึงนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเท่าเดิม นาน 5 นาที ละลายตะกอนด้วยน้ำที่ปราศจาก RNase 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเท่าเดิม นาน 10 นาที ส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม LiCl ความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปริมาตร 1 เท่าของสารละลาย แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเท่าเดิม นาน 10 นาที เก็บตะกอนไว้ และเติม LiCl ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วและอุณหภูมิเท่าเดิม นาน 2 นาที จากนั้นล้างตะกอนด้วย 70 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วและอุณหภูมิเท่าเดิม นาน 5 นาที เก็บตะกอน และทำให้แห้งโดย vacuum แล้วละลายตะกอนด้วยน้ำที่ปราศจาก RNase

นำ RNA ที่ได้มาเพิ่มปริมาณยีน ALS ด้วย degenerated primer ที่ออกแบบมาจากบริเวณอนุรักษ์ของส่วน B และ E<sup>7</sup> ใน amino acid sequence ที่สืบค้นจากข้อมูล amino acid sequence ของยีน ALS จากพืชสกุลต่าง ๆ ประกอบด้วย อะราบิโดบซิส (*Arabidopsis thaliana* L., X51514), ข้าวโพด (*Zea mays* L., X63553) ข้าว (*Oryza sativa* L., AY885674) และข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L., AY210408) ฐานข้อมูล GenBank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ที่มีขนาด 455 คู่เบส ใช้ไพรเมอร์ ALS2F: 5'

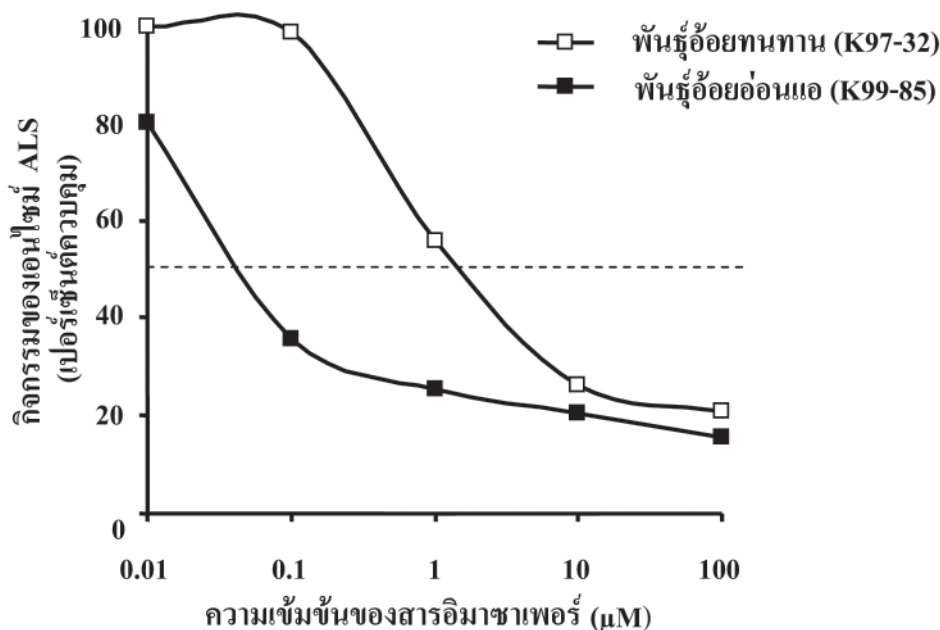
CTGGTCTGGGGGCAATGGGRTTTGG 3' และ ALS2R: 5'GTCCTTGAAAGCNCCA-CCACTCGG 3' เป็นแม่แบบ ทำการเพิ่มปริมาณยีนด้วยเทคนิค RT-PCR ด้วยชุดสำเร็จรูป One step RT-PCR (QIAGEN, Germany) นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยา PCR เชื่อมต่อเข้าสู่เวกเตอร์สำเร็จรูป pGEMT<sup>®</sup>-easy vector (Promega, USA) และชักนำพลาสมิดเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย *E. Coli* โดยวิธี heat shock transformation นำดีเอ็นเอสายผสมที่สกัดได้จากแบคทีเรียที่มีโคโลนีสีขาว มาตรวจสอบการมียีน ALS โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *EcoRI* หลังจากนั้นจึงนำดีเอ็นเอพลาสมิดที่ตรวจสอบแล้วว่ามียีน *ALS* มาทำการหาลำดับเบส โดยใช้บริการของ DNA Technology Laboratory ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม จากนั้นนำลำดับเบสที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม MegAlign (Lasergene; DNASTAR, USA) แล้วเปรียบเทียบการเรียงลำดับกรดอะมิโนบางส่วนของยีน *ALS* ต่อไป

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะซิโตแลคเตทซินเทท

เมื่อพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ของพันธุ์อ้อยอ่อนแอ (K99-85) และพันธุ์อ้อยทนทาน (K97-32) หลังจากได้รับสารในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่า พันธุ์อ้อยอ่อนแอที่ได้รับสารในระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1, 10 และ 100 ไมโครโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS เป็น 80.05, 35.50, 25.35, 20.45 และ 15.55 เปอร์เซ็นต์ของพันธุ์อ้อยอ่อนแอที่ไม่ได้รับสาร ในขณะที่พันธุ์อ้อยทนทานที่ได้รับสารในระดับความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10 และ 100 ไมโครโมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS เป็น 99.75, 98.45, 55.85, 26.05 และ 20.95 เปอร์เซ็นต์ของพันธุ์อ้อยทนทานที่ไม่ได้รับสารตามลำดับ (ภาพที่ 1) เมื่อพิจารณาจากดัชนีของความต้านทานสารกำจัดวัชพืช โดยประเมินจากระดับความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชที่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ ALS ลดลงไป 50 เปอร์เซ็นต์ ( $I_{50}$ ) แสดงให้เห็นว่า ในพันธุ์อ้อยทนทาน มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ALS มากกว่าพันธุ์อ้อยอ่อนแอเป็น 16.67 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Rajasekaran *และคณะ* (1996) ที่รายงานว่าเซลล์ของฝ้ายพันธุ์ SUR-6C ที่ต้านทานสารพริมาลฟูรอนมีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับสารพริมาลฟูรอนในระดับความเข้มข้น 2.13 ไมโครโมลาร์ เช่นเดียวกับผลการทดลอง Pornprom และ Pyon (1999) ซึ่งได้รายงานกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ในพริกที่พันธุ์ทนทานต่อสารไพริมาลฟูรอนว่ามีมากกว่าในพันธุ์อ่อนแอ 10-15 เท่า และมีการตอบสนองน้อยต่อสาร ต่อมา Milliman *และคณะ* (2003) ได้ศึกษาการศึกษาของเอนไซม์ ALS ในหญ้า eastern black-grass จำนวน 2 ไบโอไทป์ ใน Illinois resistant ไบโอไทป์ที่ต้านทานต่อสารในกลุ่ม imidazolinone พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS มากกว่าไบโอไทป์ที่อ่อนแอ 881 เท่า ส่วนใน Indiana resistant

ไบโอไทป์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS มากกว่าไบโอไทป์ที่อ่อนแอ 118 เท่า นอกจากนี้ Buker และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ALS ในพริกและมะเขือเทศ เมื่อได้รับสารไพรมิซัลฟูรอนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่า ในพริกมีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS มากกว่าในมะเขือเทศมากถึง 10 เท่า และในขณะที่ Avila และคณะ (2005) ได้รายงานไว้ว่า ข้าวพันธุ์ CL-161 มีความต้านทานสารอิมิมาซาชาเพอร์เป็น 32 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ CL-121 ซึ่งทนทานต่อสารดังกล่าว



ภาพที่ 1. กิจกรรมของเอนไซม์ ALS ในพันธุ์อ้อยอ่อนแอ (K99-85) และพันธุ์อ้อยทนทาน (K97-32) หลังจากได้รับสารอิมิมาซาชาเพอร์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน โดยที่ความเข้มข้นของสารอิมิมาซาชาเพอร์ที่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ ALS ลดลงไป 50 เปอร์เซ็นต์ ( $I_{50}$ ) ของพันธุ์อ้อยอ่อนแอและพันธุ์อ้อยทนทาน เท่ากับ 0.06 และ 1.00 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

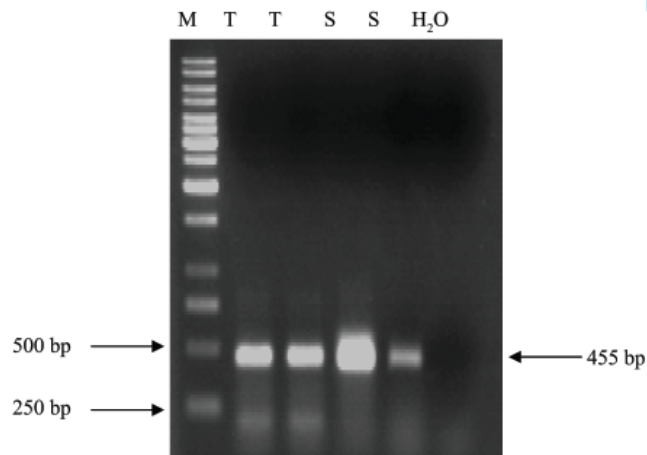
การศึกษาเกี่ยวกับกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชจะเกี่ยวข้องกับตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืช และไม่ใช่ตำแหน่งเป้าหมาย (non-target site-based)<sup>6</sup> ในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการพิจารณาเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งเป้าหมายเท่านั้น กล่าวคือ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ซึ่งพบว่า พันธุ์อ้อยทนทานมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ALS เป็น 16.67 เท่าของพันธุ์อ้อยอ่อนแอหลังจากรับสารในระดับความเข้มข้นต่างกัน กลไกทางชีวเคมีของความต้านทานที่เกิดขึ้นจึงน่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่ง



เป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยารับยับยั้งภายในพืช โดยที่ในพันธุ์อ่อนทนทานมีการปรับตัวเป็นแบบการตอบสนองน้อยต่อสารกำจัดวัชพืช เมื่อพืชได้รับสารอิมาซาเพอร์จึงทำให้พันธุ์อ่อนทนทานยังคงสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ เนื่องจากตำแหน่งเป้าหมายมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น สารจึงไม่สามารถทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ALS ได้ จึงไม่ถูกยับยั้งโดยสารอิมาซาเพอร์ ในขณะที่พันธุ์อ่อนอ่อนแอไม่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ เนื่องจากสารอิมาซาเพอร์จะเข้าไปยับยั้งกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ALS ส่งผลทำให้พันธุ์อ่อนอ่อนแอไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นได้ ทำให้พืชชะงักการเจริญเติบโต และต่อมาพืชจะตายไปในที่สุด ซึ่งในขั้นตอนต่อไปจะทำการศึกษาเกี่ยวกับกลไกพื้นฐานในระดับชีวโมเลกุลของพันธุ์อ่อนทนทานต่อสารอิมาซาเพอร์ โดยการพิจารณาจากลำดับเบสบางส่วนของยีน *ALS* ที่ควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ดังกล่าวนี้ เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์อ่อนทนทานกับพันธุ์อ่อนอ่อนแอ เพื่อนำไปใช้เป็นดัชนีในการอธิบายกลไกของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชในระดับชีวโมเลกุลได้ชัดเจนยิ่งขึ้นอีก

#### การโคลนยีนและการหาลำดับเบสบางส่วนของยีน *ALS*

เมื่อทำการสังเคราะห์บางส่วนของยีน *ALS* ด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับยีน โดยใช้เทคนิค RT-PCR พบว่า ได้แถบดีเอ็นเอจำนวน 2 แถบเหมือนกันทั้งในพันธุ์อ่อนอ่อนแอและพันธุ์อ่อนทนทาน จากบางส่วนของยีน *ALS* ที่มีขนาด 455 คู่เบส (ภาพที่ 2) หลังจากนั้นได้นำ PCR product ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยีนด้วยวิธี RT-PCR มาทำการเชื่อมต่อกับเวกเตอร์ pGEM<sup>®</sup>-T easy (Promaga, USA) โดยตรวจสอบพลาสติกลูกผสมโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ *EcoRI* ซึ่งจะได้อินดีเอ็นเอบางส่วนของยีน *ALS* ที่มีขนาด 455 คู่เบส แล้วจึงเลือกโคลนที่ได้รับการตรวจสอบแล้วว่ามียีน *ALS* เพื่อส่งวิเคราะห์หาลำดับเบส หลังจากนั้นเมื่อนำผลจากการหาลำดับเบสมาเปรียบเทียบการเรียงลำดับกรดอะมิโนบางส่วนของยีน *ALS* พันธุ์อ่อนอ่อนแอ พันธุ์อ่อนทนทาน และยีน *ALS* ในพืชสกุลต่าง ๆ จากฐานข้อมูลใน GenBank โดยใช้โปรแกรม MegAlign (Lasergene; DNASTAR, USA) พบว่ามีความแตกต่างกันของการเรียงลำดับเบสในพันธุ์อ่อนอ่อนแอ และพันธุ์อ่อนทนทาน กล่าวคือ เกิดการแทนที่ลำดับเบส ส่งผลให้กรดอะมิโนเกิดการเปลี่ยนแปลงไป 1 ตำแหน่ง (ภาพที่ 3) คือตำแหน่งที่ 559 เมื่อเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของ *Arabidopsis thaliana* โดยที่ A เปลี่ยนเป็น T ทำให้กรดอะมิโน alanine เปลี่ยนเป็น threonine จึงทำให้พันธุ์อ่อนทนทานไม่ถูกยับยั้งโดยสารอิมาซาเพอร์



ภาพที่ 2. แล็บ cDNA ที่ได้จาก RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *ALS* ของพันธุ์อ้อยที่ทนทานและพันธุ์อ้อยอ่อนแอ โดยที่ M = 1 kb DNA ladder marker (Fermentas, Lithuania) T = พันธุ์อ้อยทนทาน (K97-32) และ S = พันธุ์อ้อยอ่อนแอ (K99-85)

จากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับกลไกพื้นฐานในระดับชีวโมเลกุลของพืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Imidazolinone จะเห็นได้ว่าลักษณะของความต้านทานสารกำจัดวัชพืชเกิดจากการกลายพันธุ์ในระดับยีน *ALS* ซึ่งเป็นแบบการกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation) ที่เป็นแบบการแทนที่ลำดับเบส (base-pair substitution) ในสาย DNA แล้วทำให้กรดอะมิโนในโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป โดยที่ Milliman และคณะ (2003) ได้ศึกษาความต้านทานของสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Imidazolinone (ได้แก่ สาร imazethapyr และ imazamox) ในหญ้า eastern black-grass จำนวน 2 ไบโอไทป์ เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโน พบว่า ในพืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชเกิดการกลายพันธุ์เฉพาะจุด เป็นแบบการแทนที่ลำดับเบส ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับกรดอะมิโนจาก alanine จะกลายเป็น threonine ที่ตำแหน่ง 121 เช่นเดียวกับ sugarbeet ที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม Imidazolinone ก็เกิดการแทนที่ลำดับเบส ทำให้กรดอะมิโน threonine กลายเป็น alanine ที่ตำแหน่ง 13<sup>17</sup> แสดงให้เห็นว่าการแทนที่ลำดับเบสบางส่วนของยีน *ALS* ในพันธุ์อ้อยทนทานสารอิมามาซาเพอร์ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงในระดับชีวโมเลกุลของยีน *ALS* ขึ้น ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งที่เป็นแบบการตอบสนองน้อย จึงนำไปสู่สาเหตุของความทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช ดังนั้น เมื่อพันธุ์อ้อยทนทานได้รับสารอิมามาซาเพอร์ สารจะไม่สามารถเข้าไปทำลายเอนไซม์ *ALS* ได้ทั้งหมด ทำให้พันธุ์อ้อยทนทานไม่ถูกยับยั้งโดยสารอิมามาซาเพอร์ ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ของยีน *ALS* ที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งเป้าหมายของสารกำจัดวัชพืชในครั้งนี้สามารถใช้เป็นดัชนีอย่างหนึ่งในการอธิบายกลไกพื้นฐานในระดับชีวโมเลกุลของความทนทานในพันธุ์อ้อยทนทานสารอิมามาซาเพอร์ ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและแนวทางในการพัฒนาพันธุ์พืชให้ต้านทานสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่ยับยั้งเอนไซม์ *ALS* ต่อไป

<i>Arabidopsis thaliana</i> (X51514)	G L G A M G F G L P A A I G A S V A N P D A I V V D I D G D G S F I M N V Q E L	558
Wheat (AY210408)	G L G A M G F G L P A A A G A A V A N P G V T V V D I D G D G S F L M N I Q E L	
Corn (X63553)	G L G A M G F G L P A A A G A S V A N P G V T V V D I D G D G S F L M N V Q E L	
Sugarcane tolerant	G L G A M G F G L P A A A G A A V A N P G V T V V D I D G D G S F L M N I Q E L	
Sugarcane susceptible	G L G A M G F G L P A A A G A A V A N P G V T V V D I D G D G S F L V N I Q E L	
*		
<i>Arabidopsis thaliana</i> (X51514)	A T I R V E N L P V K V L L N N Q H L G M V M Q W E D R F Y K A N R A H T F L	598
Wheat (AY210408)	A L I R I E N L P V K V M I L N N Q H L G M V V Q W E D R F Y K A N R A H T Y L	
Corn (X63553)	A M I R I E N L P V K V F V L N N Q H L G M V V Q W E D R F Y K A N R A H T Y L	
Sugarcane tolerant	T L I R I E N L P V K V F V L N N Q H L G M V V Q W E D R F Y K A N R A H T Y L	
Sugarcane susceptible	A M I R I E N L P V K V F V L N N Q H L G M V V Q W E D R F Y K A N R A H T Y L	
*		
<i>Arabidopsis thaliana</i> (X51514)	G D P A Q E D E I F P N M L L F A A C G I P A A R V T K K A D L R E A I Q T M	638
Wheat (AY210408)	G N P E N E S E I Y P D F V T I A K G F N V P A V R V T K K S E V T A A I K K M	
Corn (X63553)	G N P E N E S E I Y P D F V T I A K G F N I P A V R V T K K N E V R A A I K K M	
Sugarcane tolerant	G N P E N E S E I Y P D F V T I A K G F N I P A V R V T K K S E V H A A I K K M	
Sugarcane susceptible	G N P E N E S E I Y P D F V T I A K G F N I P A V R V T K K S E V H A A I K K M	
*		
<i>Arabidopsis thaliana</i> (X51514)	L D T P G P Y L L D V I C P H Q E H V L P M I P N G G T F N D	669
Wheat (AY210408)	L E T P G P Y L L D I I V P H Q E H V L P M I P N G G A F K D	
Corn (X63553)	L E T P G P Y L L D I I V P H Q E H V L P M I P S G G A F K D	
Sugarcane tolerant	L E T P G P Y L L D I I V P H Q E H V L P M I P S G G A F K D	
Sugarcane susceptible	L E T P G P Y L L D I I V P H Q E H V L P M I P S G G A F K D	

ภาพที่ 3. การเรียงลำดับกรดอะมิโนของยีน ALS ในพันธุ์อ้อยทานทาน (K97-32) และพันธุ์อ้อยอ่อนแอ (K99-85) เปรียบเทียบกับพืชสกุลอื่น ๆ ในฐานข้อมูล GenBank โดยที่ \* แสดงตำแหน่งของกรดอะมิโน A (alanine) เปลี่ยนเป็น T (theonine) ในพันธุ์อ้อยทานทานต่อสาร อีมาซาพอร์

## สรุปผลการทดลอง

1. เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชที่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ ALS ลดลงไป 50 เปอร์เซ็นต์ ( $I_{50}$ ) พบว่า พันธุ์อ้อยทันทานมีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS มากกว่าเป็น 16.67 เท่าของพันธุ์อ้อยอ่อนแอที่ได้รับสาร แสดงว่ากลไกทางชีวเคมีของความทนทานสารอิมิซาซาเพอร์ เกี่ยวข้องกับตำแหน่งเป้าหมายที่สารกำจัดวัชพืชแสดงปฏิกิริยาการยับยั้งภายในพืช ที่เป็นแบบการตอบสนองน้อย (less sensitivity) ต่อสารอิมิซาซาเพอร์

2. การพิจารณาจากลำดับเบสบางส่วนของยีน *ALS* ที่มีขนาด 455 คู่เบส พบว่า พันธุ์อ้อยที่ทนทานสารเกิดการกลายพันธุ์เฉพาะจุดที่เป็นแบบการแทนที่ของลำดับเบส ทำให้กรดอะมิโน alanine (A) เปลี่ยนเป็น threonine (T) ที่ตำแหน่ง 559 เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับกรดอะมิโนของ *Arabidopsis thaliana* (X51514) ทำให้คุณสมบัติและโครงสร้างของกรดอะมิโนในโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงไป พันธุ์อ้อยทันทานจึงไม่ถูกยับยั้งโดยสารอิมิซาซาเพอร์

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และบริษัท BASF (Thai) limited ที่ได้ให้สารกำจัดวัชพืชอิมิซาซาเพอร์นำมาใช้ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

1. Ahrens, H.W. 1994. Herbicide Handbook. Weed Science Society of America, Illinois.
2. Arruda, P. and Silva, T.R. 2007. Transcriptome analysis of the sugarcane genome for crop improvement, pp. 438-494. In R.K. Varshney and R. Tuberosa (eds). Genomics-Assisted Crop Improvement Vol.2: Genomics Applications in Crops. Springer, Netherlands.
3. Avila, L.A., Lee, D.J., Senseman, S.A. et al. 2005. Assessment of acetolactate synthase (ALS) tolerance to imazethapyr in red rice ecotypes (*Oryza* spp.) and imidazolinone tolerant/resistant rice (*Oryza sativa*) varieties. *Pest Manage. Sci.* 61: 171-178.
4. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

5. Buker, R.S., Rathinasabapathi, B., MacDonald, G. *et al.* 2004. Physiological basis for differential tolerance of tomato and pepper to rimsulfuron and halosulfuron: site of action study. *Weed Sci.* 52: 201-205.
6. Corbett, C.L. and Tardif, F.J. 2006. Detection of resistance to acetolactate synthase inhibitors in weeds with emphasis on DNA-based techniques: a review. *Pest Manage. Sci.* 62: 584-597.
7. Devine, D.M. and Shukla, A. 2000. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection.* 19: 881-889.
8. Milliman, L.D., Riechers, D.E., Wax, L.M. *et al.* 2003. Characterization of two biotypes of imidazolinone-resistant eastern black nightshade (*Solanum ptycanthum*). *Weed Sci.* 51: 139-144.
9. Osuna, M.D., Fisher, A.J. and Prado, R.D. 2003. Herbicides resistance in *Aster squamatus* conferred by a less sensitive form of acetolactate synthase. *Pest Manage. Sci.* 59: 1210-1216.
10. Poehlmen, J.M. and Sleper, D.A. 1995. *Breeding Field Crop.* 4<sup>th</sup>ed., Iowa State Univ. Press, Amers, Iowa, USA.
11. Pornprom, T. and Pyon, J.Y. 1999. Primisulfuron-tolerant pepper: a biochemical basis of tolerance. *Kasetsart. J. (Nat. Sci.)*. 17(3): 325-333.
12. Punyadee, P., Thongros, M. and Pornprom, T. 2007. Biochemical mechanism of resistance to imazapyr in sugarcane cell selections. *Thai J. of Agricultural Science.* 40(3-4): 133-141.
13. Rajasekaran, K., Grula, J.W. and Anderson, D.M. 1996. Selection and characterization of mutant cotton (*Gossypium hirsutum L.*) cell lines resistant to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *Weed Sci.* 119: 115-124.
14. Shimizu, T., Nagayama, I., Nagayama, K. *et al.* 2002. Acetolactate synthase inhibitors, pp.1-31. In Boger, P., K. Wakabayashi and K. Hiarai (eds). *Herbicides classes in development.* Springer-Verlag Berlin, Heideberg, Berlin.
15. Singh, B.K. and Shaner, D.L. 1995. Biosynthesis of branched chain amino acid: from test tube to field. *The Plant Cell.* 7: 935-944.
16. Westerfeld, W.W. 1945. A colorimetric determination of blood acetoin. *J. Biol. Chem.* 161(2): 495-502.
17. White, D.A., Graham, M.A. and Owen, M.D.K. 2003. Isolation of acetolactate synthase homologs in common sunflower. *Weed Sci.* 51: 845-853.

18. Wright, T.R., Bascomb, N.F., Sturtevant, S.F. *et al.* 1998. Biochemical mechanism and molecular basis for ALS – inhibiting herbicide resistance in sugarbeet (*Beta vulgaris*) somatic cell selections. *Weed Sci.* 46: 3-23.
19. Verwoerd, T.C., Dekker, B.N.M. and Hockema, A. 1989. A small-scale procedure for the rapid isolation of plant RNAs. *Nucleic Acids Res.* 17: 2362.

ระบบอ่านข้อมูลบนแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91  
P.N.D.91 PERSONAL INCOME TAX FORM READING SYSTEM

สุกัญญา พงษ์สุภาพ  
Sukanya Phongsuphap

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
Faculty of Science, Mahidol University

สังวาล อินตะสุข  
Sangwan Intasuk

กรมสรรพากร  
The Revenue Department

---

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เสนอระบบสำหรับอ่านข้อมูลตัวเลขบนภาพแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91 โดยพิจารณาทั้งตัวเลขที่เป็นตัวพิมพ์และลายมือเขียน การทำงานของระบบแบ่งออกเป็น 6 ขั้นตอน ดังนี้ 1) การระบุประเภทของแบบฟอร์ม 2) การแยกบล็อกองค์ประกอบของแบบฟอร์ม 3) การแยกแยะบล็อกของฟิลด์ข้อมูลตัวเลข 4) การแยกส่วนของตัวเลข 5) การหาลักษณะสำคัญของตัวเลข และ 6) การรู้จำตัวเลข จากการทดลองให้ระบบอ่านข้อมูลจากภาพแบบฟอร์มภาษี จำนวน 100 ภาพ ประกอบด้วยแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91 จำนวน 50 ภาพ และแบบฟอร์มภาษีประเภทอื่น ๆ จำนวน 50 ภาพ ระบบสามารถระบุประเภทของแบบฟอร์มภาษีได้ถูกต้องทั้งหมด สามารถแยกบล็อกองค์ประกอบของแบบฟอร์มได้ถูกต้องทั้งหมด ส่วนการแยกส่วนของตัวเลขสามารถตัดแยกได้ถูกต้องเฉลี่ย 98.06 เปอร์เซ็นต์ (ถูกต้อง 8,193 ตัว จากจำนวนทั้งสิ้น 8,355 ตัว) และสามารถรู้จำตัวเลขได้ถูกต้องเฉลี่ย 95.09 เปอร์เซ็นต์ (ถูกต้อง 7,945 ตัว จากจำนวนทั้งสิ้น 8,355 ตัว)

**คำสำคัญ:** ระบบอ่านภาพแบบฟอร์มภาษี, การวิเคราะห์เอกสารภาพ, การแยกองค์ประกอบเอกสารภาพ, การรู้จำตัวเลข, โครงข่ายประสาทเทียม

## ABSTRACT

This paper proposes a system for reading numerical data on P.N.D.91 Personal Income Tax Form Images. The proposed method can handle both handwriting and machine printed numerical data. The procedure was divided into six steps: 1) Form Identification, 2) Component Block Decomposition, 3) Numerical Field Extraction, 4) Digit Segmentation, 5) Digit Feature Extraction, and 6) Digit Recognition. Experiments were performed on 100 tax form images including 50 Personal Income Tax form images (P.N.D.91) and 50 other tax form images. Results showed that the system could identify all of the forms correctly and could extract all component blocks on P.N.D.91 forms correctly. For digit segmentation and recognition, the accuracy rates were 98.06 percent (8,193 digits from 8,355 digits) and 95.09 percent (7,945 digits from 8,355 digits) respectively.

**Key words:** Tax Form Reading System, Document Image Analysis, Component Block Decomposition, Numeral Recognition, Neural Network

## บทนำ

งานวิจัยด้านการประมวลผลภาพ และการวิเคราะห์เอกสารภาพ<sup>1-9</sup> ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในช่วงหลายปีที่ผ่านมา และยังคงได้รับความสนใจอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบันนี้ เนื่องจากปริมาณของเอกสารอิเล็กทรอนิกส์ที่ใช้ในการทำงานมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก ซึ่งส่งผลกระทบต่อทั้งภาครัฐและเอกชนมีความสนใจที่จะหาวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการจัดการเก็บการค้นหาค้นหา และการนำข้อมูลในเอกสารมาใช้งานได้อย่างสะดวกรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าสามารถดึงหรืออ่านข้อมูลจากภาพเอกสารมาใช้งานได้ด้วยจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้งานเป็นอย่างยิ่ง ดังนั้นความต้องการและความจำเป็นที่จะต้องมีการพัฒนาระบบสำหรับอ่านข้อมูลบนภาพเอกสาร โดยอัตโนมัติจึงมีเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ มีนักวิจัยหลายกลุ่มได้พยายามพัฒนาระบบสำหรับอ่านข้อมูลบนแบบฟอร์มต่าง ๆ เช่น ระบบสำหรับอ่านข้อมูลบนภาพเอกสารประเภทเช็คธนาคาร<sup>8,9</sup> ระบบสำหรับอ่านข้อมูลบนภาพเอกสารประเภทใบส่งของ (invoice)<sup>10</sup> ระบบสำหรับอ่านชื่อและที่อยู่บนภาพแบบฟอร์มภาษี<sup>11</sup> เป็นต้น การอ่านแบบฟอร์มแต่ละประเภทมีรายละเอียดเฉพาะอย่างที่จะต้องพิจารณาแตกต่างกัน วิธีการที่ใช้กับการอ่านแบบฟอร์มประเภทหนึ่งไม่สามารถนำมาใช้กับการอ่านแบบฟอร์มอีกประเภทหนึ่งได้โดยตรง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการวิจัยเป็นการเฉพาะในการที่จะหาวิธีที่เหมาะสมสำหรับการอ่านข้อมูลจากแบบฟอร์มแต่ละประเภท ในงานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายหลักที่จะหาวิธีที่มี

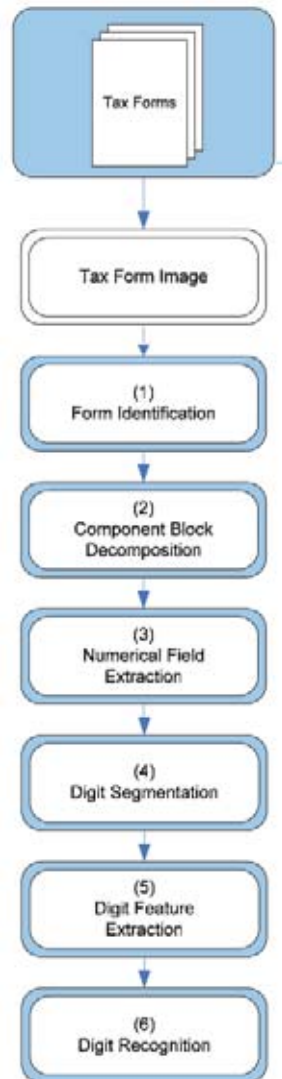


ประสิทธิภาพสำหรับอ่านข้อมูลบนภาพแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91 ของกรมสรรพากร ซึ่งจะพิจารณาทั้งแบบฟอร์มที่กรอกข้อมูลตัวเลขที่เป็นตัวพิมพ์ และลายมือเขียนดังที่ใช้กันอยู่ตามสภาพความเป็นจริงในปัจจุบัน

ในงานวิจัยนี้ได้นำหลักการทางด้านการประมวลผลภาพ การวิเคราะห์เอกสารภาพ และการรู้จำแบบมาใช้ในการพัฒนาระบบต้นแบบสำหรับอ่านข้อมูลบนภาพแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91 ซึ่งมีขั้นตอนการทำงานทั้งหมด 6 ขั้นตอน ดังนี้

1. การระบุประเภทของแบบฟอร์ม (form identification)
2. การแยกบล็อกองค์ประกอบของแบบฟอร์ม (component block decomposition)
3. การแยกบล็อกของฟิลด์ข้อมูลตัวเลข (numerical field extraction)
4. การแยกส่วนของตัวเลข (digit segmentation)
5. การหาลักษณะสำคัญของตัวเลข (digit feature extraction)
6. การรู้จำตัวเลข (digit recognition)

ภาพรวมการทำงานของระบบแสดงในภาพที่ 1 ส่วนรายละเอียดการทำงานในแต่ละขั้นตอนอธิบายในหัวข้อที่ 2 สำหรับผลการทดลอง การอภิปรายผล และบทสรุป อธิบายในหัวข้อที่ 3, 4 และ 5 ตามลำดับ



ภาพที่ 1. ขั้นตอนการทำงานของระบบอ่านข้อมูลบนแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91

## การทำงานของระบบ

การทำงานของระบบประกอบด้วย 6 ขั้นตอน ในแต่ละขั้นตอนมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

### 1. การระบุประเภทแบบฟอร์ม (form identification)

ในขั้นตอนนี้ขั้นแรกมีการสร้างฟอร์มโมเดลเพื่อเป็นต้นแบบของแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด.91 และนำไปใช้อ้างอิงในการตรวจสอบแบบฟอร์มที่เข้ามาว่าเป็นแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด.91 หรือไม่ ซึ่งมีขั้นตอนการทำงานดังนี้

#### 1.1 การสร้างฟอร์มโมเดล

ในการสร้างฟอร์มโมเดล<sup>10</sup> เราได้ใช้องค์ประกอบ 11 บล็อก (บ1 – บ11) ดังแสดงในภาพที่ 2 เป็นส่วนอ้างอิงของแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91 ข้อมูลของฟอร์มโมเดลที่เก็บไว้ในระบบมีดังนี้

1) ภาพแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด.91 ที่ยังไม่กรอกข้อมูล (แบบฟอร์มเปล่า) ซึ่งใช้เป็นแบบฟอร์มต้นแบบ

2) ภาพองค์ประกอบ ตำแหน่งของจุดศูนย์กลางที่ปรากฏอยู่ในแบบฟอร์มต้นแบบของตราสัญลักษณ์ (องค์ประกอบอ้างอิง บ1) และวงกลมแสดงหัวข้อรายการ (องค์ประกอบอ้างอิง บ2, บ3 และ บ8)

3) ตำแหน่งของฟิลด์ข้อมูลซึ่งกำหนดด้วยจุดมุมบนซ้ายและมุมล่างขวา จำนวน 51 ฟิลด์ขององค์ประกอบอ้างอิง บ4, บ5, บ6, บ9, บ10 และ บ11

#### 1.2 การปรับภาพให้อยู่ในแนวตั้งตรง

เมื่อรับภาพแบบฟอร์มภาษีเข้าสู่ระบบแล้วจะต้องมีการปรับภาพให้อยู่ในแนวตั้งตรงเช่นเดียวกับแบบฟอร์มต้นแบบ ซึ่งมีขั้นตอนวิธีดังนี้

1) หาส่วนของภาพที่มีพิกเซลสีค่าที่อยู่ติดกัน (connected component) ในบริเวณ บ7 ของภาพแบบฟอร์มนำเข้า ซึ่งจะได้องค์ประกอบย่อย (ส่วนของพิกเซลที่อยู่ติดกัน) จำนวนหนึ่ง

2) หาองค์ประกอบย่อยที่มีความยาวสูงสุด ถ้าองค์ประกอบย่อยดังกล่าวมีความยาวอยู่ในช่วง  $1,000 \pm 150$  พิกเซล จะพิจารณาว่าเป็นส่วนของเส้นตรงที่ต้องการ และจะทำงานต่อไปในขั้นตอนที่ 3) ถ้าไม่มีองค์ประกอบย่อยที่มีความยาวดังกล่าวจะพิจารณาว่าแบบฟอร์มนำเข้าไม่ใช่แบบฟอร์ม ภ.ง.ด.91 ระบบจะจบการทำงานโดยไม่อ่านข้อมูลบนแบบฟอร์มนั้น

3) หาความเอียงของภาพจากองค์ประกอบเส้นตรงที่ได้โดยการหาค่ามุมจากระยะห่างของจุดเริ่มต้นและจุดสิ้นสุดของเส้นตรงเทียบกับแนวระนาบแล้วหมุนภาพคืน

แบบแสดงรายการภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา  
สำหรับผู้มีเงินได้เฉพาะจ้างแรงงาน  
ตามมาตรา 40 (1) แห่งประมวลรัษฎากร ประเภทที่ ๑

ภ.จ.ด.91

ปีภาษี 2548

ผู้มีเงินได้ เลขประจำตัวผู้เสียภาษี  
คู่สมรส เลขประจำตัวผู้เสียภาษี

ชื่อ ชื่อสกุล  
ที่อยู่ อาคาร ห้องเลขที่ ชั้นที่ หมู่บ้าน  
เลขที่ หมู่ที่ ตำบล/แขวง  
ถนน ตำบล/แขวง  
อำเภอ/เขต จังหวัด

ชื่อ ชื่อสกุล  
ที่อยู่ อาคาร ห้องเลขที่ ชั้นที่ หมู่บ้าน  
เลขที่ หมู่ที่ ตำบล/แขวง  
ถนน ตำบล/แขวง  
อำเภอ/เขต จังหวัด

ภ.จ.ด.91

1. เงินเดือน ค่าจ้าง บ้านญาติ ฯลฯ รวมเงินได้ทั้งหมด (๑) ๕.๐  
2. หัก เงินได้ที่ได้รับยกเว้น ตามมาตรา ๗๖ 7.๖  
3. คงเหลือ (1. - 2.)  
4. หัก ค่าใช้จ่าย (ร้อยละ 40 ของ 3. แต่ไม่เกินที่กฎหมายกำหนด)  
5. คงเหลือ (3. - 4.)  
6. หัก ค่าลดหย่อน ตามมาตรา 11๖ 11.๖  
7. คงเหลือ (5. - 6.)  
8. หัก เงินสนับสนุนการศึกษา ๕ เท่าของจำนวนเงินที่ได้จ่ายไปจริง แต่ไม่เกินร้อยละ 10 ของ 7.๖  
9. คงเหลือ (7. - 8.)  
10. หัก เงินบริจาค (ไม่เกินร้อยละ 10 ของ ๑๖)  
11. เงินได้สุทธิ (9. - 10.)  
12. ภาษีคำนวณจากเงินได้สุทธิจาก 11.  
13. หัก ภาษีเงินได้หัก ณ ที่จ่าย  
14. คงเหลือ ภาษีที่  จ่าเรเพิ่มคืน  จ่าเรไว้คืน (หลักฐานแบบ 8. , 10. และ 18. รวม) ๑๖.๖

กรณี  มีเงินคงเหลือ  ยื่นแบบฯ เพิ่มคืน  ยื่นแบบฯ เงินหักทวงคืน

15. บวก ภาษีที่จ่าเรเพิ่มคืน ตามมาตรา ๑๕ ๑.๖ ของเงินคงเหลือ  
16. หัก ภาษีที่จ่าเรไว้คืน ตามมาตรา ๑๖ 7.๖ ของเงินคงเหลือ  
17. หัก ภาษีที่จ่าเรไว้คืนแบบ ภ.จ.ด.91 การยื่นแบบเพิ่มคืน  
18. ภาษีที่  จ่าเรเพิ่มคืน  จ่าเรไว้คืน  
19. บวก เงินเพิ่ม (ถ้ามี)  
20. รวม ภาษีที่  จ่าเรเพิ่มคืน  จ่าเรไว้คืน

ภ.จ.ด.91

1. เงินสะสมกองทุนสำรองเลี้ยงชีพ (ส่วนไม่เกิน 10,000 บาท)  
2. เงินสะสม กยศ.  
3. เงินสะสมกองทุนสงเคราะห์ครูโรงเรียนเอกชน  
4. ผู้มีเงินได้สุทธิตั้งแต่ ๑๖ ปีขึ้นไป 190,000 บาท  
5. คู่สมรสอายุตั้งแต่ ๑๖ ปีขึ้นไปและมีเงินได้รวมกันไม่เกิน 190,000 บาท  
6. เงินค่าชดเชยที่ได้รับตามกฎหมายแรงงาน กรณีมีเงินได้รวมกันไม่เกิน  
7. รวม (1. ถึง 6.) ยกไปหักจาก (๑) ๕.

คำร้องขอคืนเงินภาษี

ข้าพเจ้ามีความประสงค์จะขอคืนเงินภาษีที่จ่าเรไว้คืนตามที่แสดงไว้ใน  
๑ 14. หรือ 18. หรือ 20. เป็นจำนวนเงิน บาท ๑๖.๖  
ลงชื่อ ผู้มีเงินได้

ภ.จ.ด.91

1. ผู้มีเงินได้ 30,000 -  
2. คู่สมรส 30,000 บาท กรณีผู้มีเงินได้ รวมคำนวณภาษีหรือไม่มีเงินได้ ภ.จ.ด. ๑๐  
3. บุตร คนละ 15,000 บาท คน บุตร คนละ 17,000 บาท คน  
4. บิดา มารดา (ผู้เสียภาษีต้องเป็นผู้มีเงินได้)  
ภ.จ.ด. ๑๐  
5. ผู้มีเงินได้  
6. เงินสะสมกองทุนสำรองเลี้ยงชีพ (ส่วนไม่เกิน 10,000 บาท)  
7. ค่าซื้อหน่วยลงทุนในกองทุนรวมเพื่อการเลี้ยงชีพ  
8. ค่าซื้อหน่วยลงทุนในกองทุนรวมเงินระยะยาว  
9. ดอกเบี้ยเงินกู้ยืม เพื่อซื้อ เช่าซื้อ เช่าซื้อ หรือสร้างอาคารอยู่อาศัย  
10. เงินสะสมกองทุนประกันสังคม  
11. รวม (1. ถึง 10.) ยกไปหักจาก (๑) ๕.

หลักฐานแบบ ๑ 1. ถึง 6. และ ๑ 4. ถึง 10. รวม ๑๖.๖

คำรับรอง

ข้าพเจ้าขอรับรองว่ารายการที่แสดงไว้เป็นความจริงทุกประการ  
ได้แนบหลักฐานและใบแนบ (ถ้ามี) รวม (๑) ๖.๖  
ลงชื่อ ผู้มีเงินได้  
ลงชื่อ ผู้แทน  
ในฐานะเป็น ของผู้มีเงินได้  
ที่อยู่/ชื่อของผู้นําหมาย  
วันที่

ภาพที่ 2. ตัวอย่างภาพแบบฟอร์มภาษี ภ.จ.ด. 91 และบริเวณขององค์ประกอบที่ใช้เป็นส่วนอ้างอิง

### 1.3 การหาค่าสัมประสิทธิ์ประกอบอ้างอิง บ1, บ2, บ3 และ บ8

การหาค่าสัมประสิทธิ์ประกอบอ้างอิง บ1, บ2, บ3 และ บ8 มีการทำงานตามขั้นตอนวิธีต่อไปนี้

1) หาค่าความสัมพันธ์ขององค์ประกอบอ้างอิง บ1, บ2, บ3 และ บ8 ของแบบฟอร์มนำเข้า เทียบกับฟอร์มโมเดลที่เก็บไว้โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)<sup>12</sup>

2) ถ้าสามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ประกอบ บ1, บ2, บ3 และ บ8 ได้ครบ โดยแต่ละองค์ประกอบมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ไม่น้อยกว่า 0.8 จะพิจารณาว่าเป็นแบบฟอร์ม ภ.ง.ด.91 และจะทำงานต่อไปในขั้นตอนที่ 3) ถ้าได้องค์ประกอบไม่ครบทั้ง 4 ส่วน จะพิจารณาว่าไม่ใช่แบบฟอร์ม ภ.ง.ด.91 ระบบจะจบการทำงานโดยไม่อ่านข้อมูลบนแบบฟอร์มนั้น

3) หาค่าผลต่างระหว่างจุดศูนย์กลางของจุดอ้างอิง บ1, บ2, บ3 และ บ8 บนภาพแบบฟอร์มนำเข้า กับจุดศูนย์กลางของส่วนอ้างอิงดังกล่าวจากฟอร์มโมเดล แล้วหาค่าเฉลี่ยของผลต่างตามแนวแกนตั้งและแกนนอน และเลื่อนตำแหน่งของภาพแบบฟอร์มนำเข้าตามค่าเฉลี่ยที่คำนวณได้

## 2. การแยกบล็อกองค์ประกอบของแบบฟอร์ม (component block decomposition)

ในขั้นตอนนี้จะทำการแยกบล็อกองค์ประกอบของแบบฟอร์มนำเข้า พร้อมทั้งตรวจสอบแต่ละบล็อกไม่ให้มีการตัดข้อมูลขาดหายไปตามขั้นตอนวิธีต่อไปนี้

2.1 หาค่าผลต่างระหว่างภาพต้นแบบกับภาพแบบฟอร์มนำเข้า ซึ่งจะได้ผลลัพธ์เป็นภาพแบบฟอร์มที่มีส่วนของข้อมูลที่ถูกรอบบนแบบฟอร์มปรากฏชัดเจนขึ้น

2.2 ตัดแยกบล็อกของข้อมูลจากภาพผลต่างที่ได้จากข้อ 2.1 โดยใช้ตำแหน่งอ้างอิงที่กำหนดไว้ในฟอร์มโมเดล

2.3 ตรวจสอบบริเวณขอบของบล็อกข้อมูลทั้ง 4 ด้านว่ามีส่วนของข้อมูล (จุดขาว) หรือไม่ ถ้ามี จะทำการเลื่อนตำแหน่งการตัดบล็อกของข้อมูลด้านนั้นออกไปที่ละพิกเซลจนกว่าจะไม่พบส่วนของข้อมูลบริเวณขอบทุกด้าน

2.4 ตัดแยกบล็อกของข้อมูลตามตำแหน่งที่หาได้ในข้อ 2.3

## 3. การแยกบล็อกของฟิลด์ข้อมูลตัวเลข (numerical field extraction)

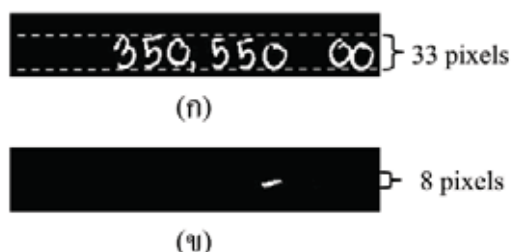
บล็อกของข้อมูลที่แยกได้ตามวิธีการที่อธิบายในหัวข้อ 2 จะถูกนำมาวิเคราะห์และแยกแยะต่อว่าเป็นบล็อกของฟิลด์ข้อมูลตัวเลข หรือบล็อกที่ไม่มีข้อมูลตัวเลขตามขั้นตอนวิธีต่อไปนี้

3.1 ปรับภาพบล็อกข้อมูลให้เป็นภาพขาวดำ

3.2 คำนวณความสูงของบล็อกข้อมูล ถ้ามีความสูงมากกว่า 15 พิกเซล จะพิจารณาว่าเป็นบล็อกของตัวเลข ถ้าสูงน้อยกว่า 15 พิกเซล จะพิจารณาว่าเป็นบล็อกที่ไม่มีข้อมูลตัวเลข ดังตัวอย่างในภาพ 3: (ก) เป็นบล็อกของข้อมูลตัวเลข (ความสูง 33 พิกเซล) (ข) เป็นบล็อกที่มีเครื่องหมาย “-” มีความสูง 8 พิกเซล ซึ่งระบบจะพิจารณาว่าเป็นบล็อกที่ไม่มีข้อมูลตัวเลข

3.3 ปรับขนาดของบล็อกให้มีความสูงพอดีกับข้อมูล

3.4 แยกบล็อกของตัวเลขประเภทจำนวนเงินออก เป็นบล็อกของตัวเลขจำนวนเต็ม และบล็อกของตัวเลขทศนิยม การแยกจะพิจารณาจากภาพจุดทศนิยม หรือส่วนของตัวเลขที่อยู่ในบริเวณสำหรับกรอกตัวเลขทศนิยมเป็นบริเวณที่จะแบ่ง



ภาพที่ 3. ตัวอย่างบล็อกของข้อมูล: (ก) บล็อกของฟิลด์ข้อมูลตัวเลข (ข) บล็อกที่ไม่มีข้อมูลตัวเลข

#### 4. การแยกส่วนของตัวเลข (digit segmentation)

การแยกส่วนของตัวเลขมีการทำงานตามขั้นตอนวิธีต่อไปนี้

4.1 หาดองค์ประกอบย่อยโดยใช้เทคนิคการหาจุดภาพที่อยู่ติดกัน (connected component)<sup>12</sup> ในบล็อกของฟิลด์ตัวเลข

4.2 กำหนดขอบเขต (bounding box) ของแต่ละองค์ประกอบย่อยโดยหาสี่เหลี่ยมที่เล็กที่สุดที่สามารถครอบแต่ละองค์ประกอบย่อยได้ ดังตัวอย่างในภาพที่ 4



ภาพที่ 4. ตัวอย่างองค์ประกอบย่อยในบล็อกของฟิลด์ข้อมูลตัวเลข

4.3 ตรวจสอบองค์ประกอบย่อยที่ไม่ใช่ตัวเลข ได้แก่ เครื่องหมายจุดภาค (comma) ยัติภังค์ (hyphen) และสัญญาณรบกวนอื่น ๆ (noises) โดยพิจารณาจากขนาด ซึ่งสัญญาณเหล่านี้จะมีขนาดเล็กกว่าตัวเลขมาก องค์ประกอบย่อยเหล่านี้จะถูกลบทิ้งหรือไม่มีการพิจารณาในขั้นตอนต่อไป จากตัวอย่างในภาพที่ 4 องค์ประกอบย่อยที่ 4 นับจากซ้ายจะถูกลบทิ้ง

4.4 พิจารณาแต่ละองค์ประกอบย่อยว่าเป็นตัวเลขติดกันหรือไม่ โดยการตรวจสอบความกว้างขององค์ประกอบย่อย ( $CC_{width}$ , ดูตัวอย่างในภาพที่ 4) ถ้าความกว้างมากกว่า 35 พิกเซล จะถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่อาจจะเป็นตัวเลขติดกัน (touching digit) การแยกส่วนของตัวเลขที่ติดกันจะพิจารณาจากจุดตัดบนและจุดตัดล่างของเส้นขอบด้านนอกของส่วนที่เป็นตัวเลข<sup>13</sup> โดยจุดตัดบน ( $P_{top}$ ) หมายถึงจุดที่เว้าลึกที่สุดของเส้นขอบด้านบน และจุดตัดล่าง ( $P_{bottom}$ ) หมายถึงจุดที่เว้าลึกที่สุดของเส้นขอบด้านล่าง ซึ่งรายละเอียดของการแยกส่วนตัวเลขที่ติดกันเป็นดังนี้

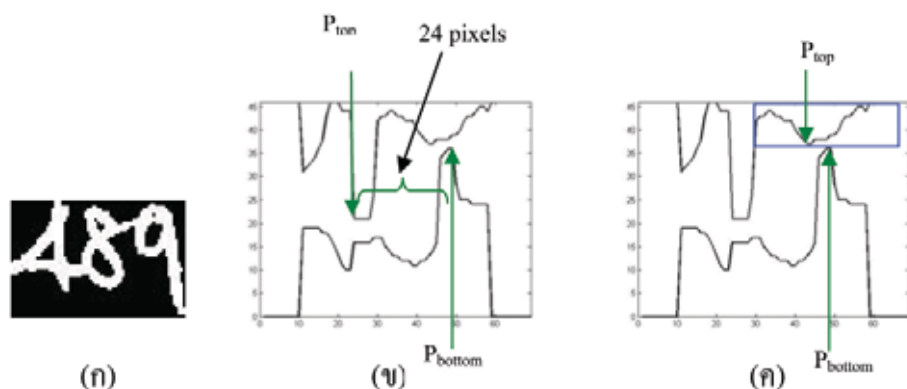
1) หาเส้นขอบด้านนอกของส่วนของตัวเลข แล้วหาจุดตัดบน ( $P_{top}$ ) และจุดตัดล่าง ( $P_{bottom}$ ) คำนวณระยะห่างตามแนวอนของจุดตัดบนและจุดตัดล่าง และพิจารณาตามเงื่อนไขต่อไปนี้

กรณีที่ 1: ถ้าระยะห่างตามแนวอนของจุดตัดบนและจุดตัดล่างไม่เกิน 10 พิกเซล พิจารณาว่าเป็นจุดตัดที่ถูกต้อง ระบบจะหาเส้นตัดแบ่งตามขั้นตอนที่ 2)

กรณีที่ 2: ถ้าระยะห่างตามแนวอนของจุดตัดบนและจุดตัดล่างเกิน 10 พิกเซล พิจารณาว่าเป็นจุดตัดของตัวเลขต่างคู่กัน ดังตัวอย่างในภาพที่ 5: (ก) แสดงบล็อกที่มีตัวเลขติดกัน 3 ตัว (ข) แสดงจุดตัดบนและจุดตัดล่างที่หาได้ครั้งแรก ซึ่งระยะห่างตามแนวอนของจุดทั้งสองเท่ากับ 24 พิกเซล (มากกว่า 10 พิกเซล) พิจารณาว่าเป็นจุดตัดของตัวเลขต่างคู่กัน ระบบจะทำการหาจุดตัดใหม่ดังนี้

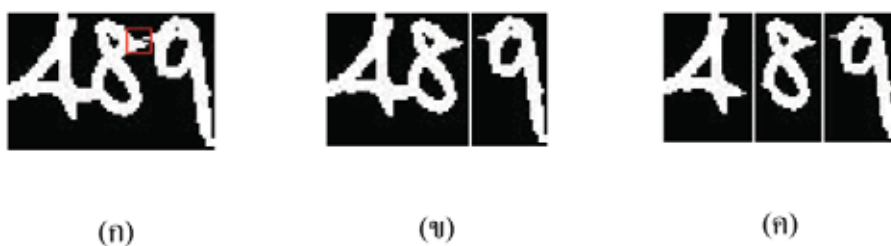
(1) เลือกจุดตัดบนหรือจุดตัดล่างที่มีความเว้าลึกที่สุดเป็นจุดเริ่มต้น ดังตัวอย่างในภาพที่ 5 (ข) จุดตัดบน ( $P_{top}$ ) มีความลึก 25 พิกเซล จุดตัดล่าง ( $P_{bottom}$ ) มีความลึก 36 พิกเซล ดังนั้นจุดตัดล่าง ( $P_{bottom}$ ) จะถูกเลือกเป็นจุดเริ่มต้น

(2) หาจุดเว้าที่ลึกที่สุดตามแนวขอบด้านตรงข้ามใหม่ โดยพิจารณาในบริเวณใกล้เคียงซึ่งคือบริเวณที่มีระยะห่างในแนวอนจากจุดเริ่มต้นในข้อ (1) ไม่เกิน 10 พิกเซล ดังตัวอย่างในภาพที่ 5 (ค) จุดตัดล่าง ( $P_{bottom}$ ) คือจุดที่ได้จากการพิจารณาตามข้อ (1) ส่วนจุดตัดบน ( $P_{top}$ ) เป็นจุดที่หาได้ใหม่ ซึ่งทำให้ได้จุดตัดคู่ใหม่สำหรับแยกตัวเลขที่ติดกัน



ภาพที่ 5. (ก) ตัวอย่างบล็อกที่มีตัวเลขติดกันมากกว่า 1 คู่ (ข) จุดตัดบนและจุดตัดล่างที่หาได้ครั้งแรก (ค) จุดตัดบนและจุดตัดล่างที่หาได้ครั้งที่ 2

2) หาเส้นตัดแบ่ง (segmentation path) ซึ่งคือเส้นเชื่อมระหว่างจุดตัดบนและจุดตัดล่าง จากตัวอย่างในภาพที่ 5 จะได้ผลลัพธ์ (เส้นเชื่อม  $P_{top}$  และ  $P_{bottom}$ ) ดังแสดงในภาพที่ 6: (ก) แสดงเส้นตัดที่หาได้ ซึ่งอยู่ในบริเวณที่แสดงด้วยบล็อกสี่เหลี่ยมเชื่อมระหว่างเลข “8” และเลข “9” และ (ข) แสดงผลลัพธ์ที่ได้จากการตัดแบ่งครั้งแรก



ภาพที่ 6. ตัวอย่างการแยกกลุ่มตัวเลขที่ติดกันมากกว่า 2 ตัว: (ก) ภาพแสดงเส้นตัดในบริเวณสี่เหลี่ยม (ข) ภาพผลลัพธ์ของการตัดแยกครั้งแรก (ค) ภาพผลลัพธ์สุดท้าย

3) ทำการตัดแยกต่อไปในกรณีที่ยังมีบล็อกที่มีความกว้างมากกว่า 35 พิกเซล ดังตัวอย่างในภาพที่ 6 บล็อกแรกในภาพ (ข) จะถูกพิจารณาเพื่อตัดแบ่งต่อไป สุดท้ายจะได้ผลลัพธ์ดังแสดงในภาพ (ค)

## 5. การหาลักษณะสำคัญของตัวเลข (digit feature extraction)

หลังจากแยกส่วนบล็อกของตัวเลขแต่ละตัวแล้ว บล็อกของตัวเลขที่ได้จะถูกปรับให้มีขนาด 36 แถว 24 คอลัมน์ก่อนการคำนวณหาลักษณะสำคัญ ซึ่งลักษณะสำคัญที่ใช้คือ ลำดับของจำนวนการตัดผ่านในแนวแกนนอน และจำนวนพิกเซลบนเส้นขอบของภาพตัวเลขตามแนวทิศทางต่าง ๆ 8 ทิศทางของฟรีแมน ดังรายละเอียดอธิบายในหัวข้อ 5.1 และ 5.2 ตามลำดับ

### 5.1 การหาลำดับของการตัดผ่าน (crossing sequence)

การหาลำดับของการตัดผ่าน<sup>14</sup> หาได้จากการนับจำนวนครั้งของการเปลี่ยนจากจุดดำเป็นจุดขาว (crossing number) ในแนวนอน โดยเรียงลำดับจากแถวบนสุดไปยังแถวล่างสุด ดังนั้นจะได้ลักษณะสำคัญทั้งหมด 36 ลักษณะ

### 5.2 การหาลักษณะสำคัญฮิสโทแกรมรหัสทิศทาง (directional code histogram feature)

ลักษณะสำคัญฮิสโทแกรมรหัสทิศทาง หาได้จากการนับจุดบนเส้นขอบตามแนวทิศทางต่าง ๆ<sup>7</sup> ซึ่งมีขั้นตอนวิธีดังนี้

1) หาเส้นขอบของบริเวณที่เป็นตัวเลข

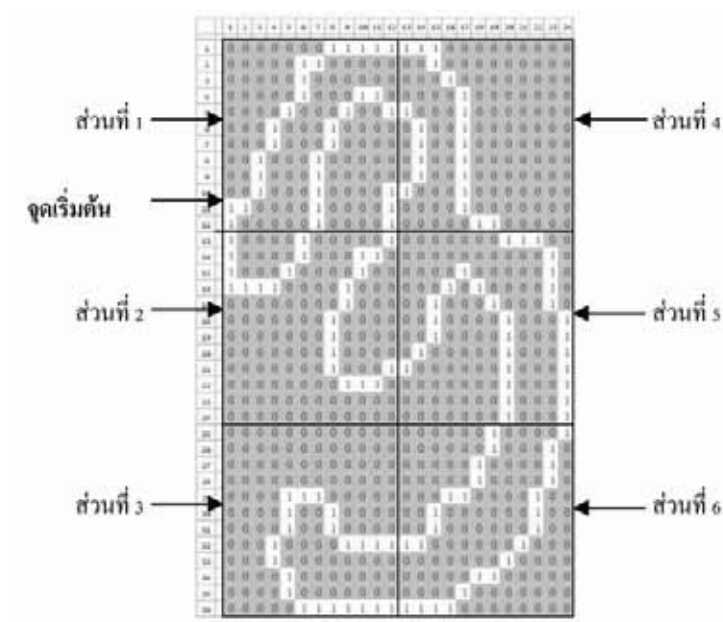
2) หาทิศทางของจุดบนเส้นขอบของตัวเลขตามแนว 8 ทิศทาง (8-freeman directions) โดยเริ่มจากจุดขาวที่พบจุดแรกในคอลัมน์ที่ 1



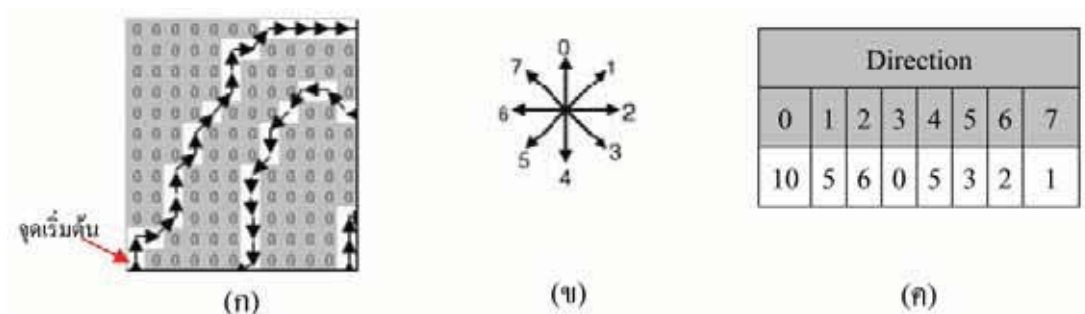
3) แบ่งพื้นที่ของภาพในข้อ 2) ออกเป็น 6 ส่วน (zone) แต่ละส่วนมีขนาด 12 แถว 12 คอลัมน์ ดังแสดงในภาพที่ 7

4) นับจำนวนจุดในแต่ละทิศทางของแต่ละส่วน จะได้ลักษณะสำคัญของแต่ละส่วน 8 ลักษณะ ดังตัวอย่างในภาพที่ 8: (ก) แสดงทิศทางของแต่ละจุดบนเส้นขอบของภาพในภาพที่ 7 ส่วนที่ 1 (ข) แสดงรหัส 8 ทิศทางของพรีแมน และ (ค) แสดงค่าลักษณะสำคัญของจำนวนจุดบนเส้นขอบตามทิศทาง 8 ทิศทาง

5) ทำเช่นเดียวกับข้อ 4) กับทุกส่วนของภาพทั้งหมด 6 ส่วน จะได้ลักษณะสำคัญทั้งหมด 48 ลักษณะ



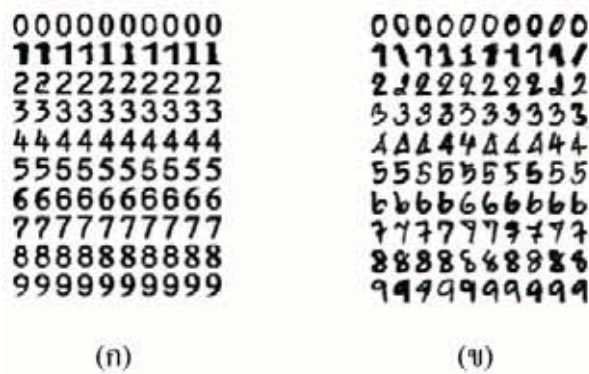
ภาพที่ 7. ตัวอย่างเส้นขอบของภาพตัวเลขและส่วนของภาพที่ถูกแบ่งออกเป็น 6 ส่วน



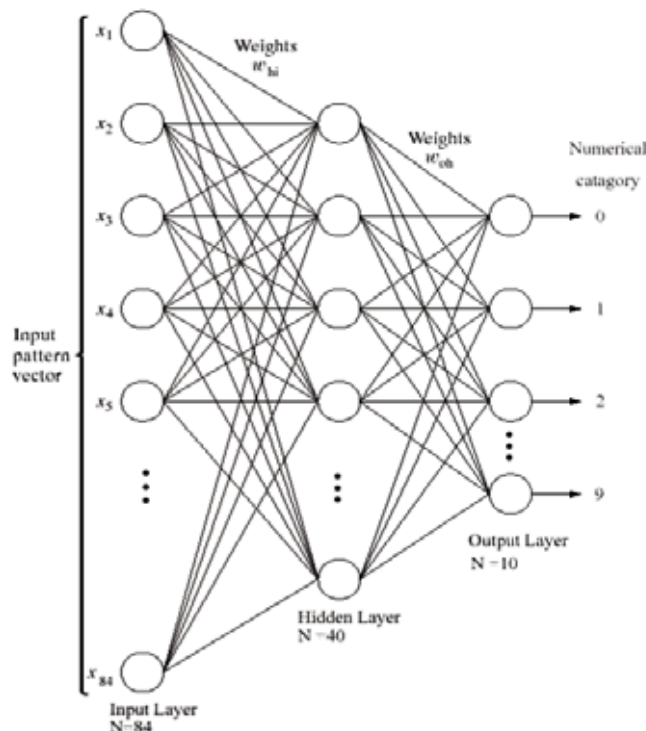
ภาพที่ 8. (ก) ทิศทางของจุดบนเส้นขอบของภาพตัวเลข (ข) ทิศทาง 8 ทิศทางของพรีแมน (ค) จำนวนจุดภาพในข้อ (ก) ตามทิศทาง 8 ทิศทางในข้อ (ข)

6. การรู้จำตัวเลข (digit recognition)

ในการรู้จำตัวเลขเราใช้ลักษณะสำคัญ 84 ลักษณะดังที่อธิบายในหัวข้อ 5 ใช้โครงข่ายประสาทเทียม (artificial neural network)<sup>12</sup> เป็นตัวแบ่ง (classifier) โดยเรียนรู้จากข้อมูลภาพตัวเลขจำนวน 5,000 ตัว ซึ่งได้จากแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด.91 จำนวน 50 ภาพ ประกอบด้วยตัวเลขทั้งที่เป็นตัวพิมพ์และลายมือเขียน ดังตัวอย่างในภาพที่ 9 โครงสร้างของโครงข่ายประสาทเทียมที่ใช้ ประกอบด้วย 3 ชั้น ดังแสดงในภาพที่ 10 และใช้อัลกอริทึมการแพร่กระจายย้อนกลับ (back propagation)<sup>12</sup> ในการเรียนรู้



ภาพที่ 9. ตัวอย่างตัวเลขที่ใช้ในการเรียนรู้: (ก) ตัวเลขชนิดตัวพิมพ์ (ข) ตัวเลขชนิดลายมือเขียน



ภาพที่ 10. โครงสร้างของโครงข่ายประสาทเทียมสำหรับรู้จำตัวเลข

## ผลการทดลอง

ในการทดลองเราได้ใช้ภาพแบบฟอร์มภายในที่ผ่านการสแกนด้วยความละเอียด 300 x 300 จุด/ตารางนิ้ว เป็นภาพระดับความเทา (gray scale image) จำนวน 100 ภาพ ประกอบด้วย ภาพแบบฟอร์มภายในเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91 จำนวน 50 ภาพ และภาพแบบฟอร์มภายในอื่น ๆ จำนวน 50 ภาพ สำหรับภาพแบบฟอร์มภายใน ภ.ง.ด.91 สามารถแยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ 1) ภาพแบบฟอร์มที่กรอกข้อมูลตัวเลขชนิดตัวพิมพ์ (printed digit) จำนวน 10 ภาพ และ 2) ภาพแบบฟอร์มที่กรอกข้อมูลตัวเลขชนิดลายมือเขียน (handwritten digit) จำนวน 40 ภาพ ผลการทดลองจะแยกอธิบายตามขั้นตอนการทำงานดังนี้

### 1. การระบุประเภทของแบบฟอร์มภายใน (form identification)

ผลการทดลองกับภาพแบบฟอร์มภายในจำนวน 100 ภาพ ประกอบด้วยภาพแบบฟอร์มภายใน ภ.ง.ด.91 จำนวน 50 ภาพ และภาพแบบฟอร์มภายในแบบอื่น ๆ จำนวน 50 ภาพ ระบบสามารถระบุประเภทแบบฟอร์มภายใน ภ.ง.ด. 91 ได้ถูกต้องทั้งหมด

### 2. การแยกบล็อกข้อมูล (component block decomposition)

ผลการแยกบล็อกของข้อมูลจากภาพแบบฟอร์มภายใน ภ.ง.ด. 91 จำนวน 50 ภาพ ระบบสามารถแยกบล็อกของข้อมูลได้ครบ 51 บล็อกทุกภาพ

### 3. การแยกบล็อกของฟิลด์ข้อมูลตัวเลข (numerical field extraction)

ผลการทดลองแยกแยะบล็อกของฟิลด์ตัวเลข ระบบสามารถแยกแยะออกเป็นบล็อกฟิลด์ข้อมูลตัวเลข และบล็อกที่ไม่มีข้อมูลตัวเลขได้ถูกต้องและครบถ้วนทั้งหมด ดังรายละเอียดในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. ผลการแยกบล็อกของฟิลด์ตัวเลขจากแบบฟอร์มภายใน ภ.ง.ด. 91

ประเภทข้อมูลตัวเลข บนแบบฟอร์ม ภ.ง.ด. 91	จำนวน แบบฟอร์ม	จำนวนบล็อกข้อมูล		
		บล็อกฟิลด์ข้อมูล ตัวเลข	บล็อกที่ไม่มี ข้อมูลตัวเลข	รวม
ตัวพิมพ์	10	274	236	510
ลายมือเขียน	40	1,050	990	2,040
รวม	50	1,324	1,226	2,550

#### 4. การแยกส่วนของตัวเลข (digit segmentation)

ผลการทดลองการแยกส่วนตัวเลข กรณีตัวพิมพ์ระบบสามารถแยกส่วนของตัวเลขได้ถูกต้องทั้งหมด และกรณีลายมือเขียนสามารถแยกส่วนได้ถูกต้อง 97.54 เปอร์เซ็นต์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ผลการแยกส่วนของตัวเลขจากภาพแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด. 91

ประเภทข้อมูลตัวเลข บนแบบฟอร์ม ภ.ง.ด. 91	จำนวน แบบฟอร์ม	จำนวนบล็อกตัวเลขเดี่ยวที่แยกส่วนได้			
		จำนวน ตัวเลข	ผิดพลาด (บล็อก)	ถูกต้อง (บล็อก)	เปอร์เซ็นต์ ความถูกต้อง
ตัวพิมพ์	10	1,759	0	1,759	100.00
ลายมือเขียน	40	6,596	162	6,434	97.54
รวม	50	8,355	162	8,193	98.06

#### 5. การรู้จำตัวเลข (digit recognition)

ผลการทดลองการรู้จำตัวเลขบนภาพแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด.91 กรณีตัวพิมพ์ระบบสามารถรู้จำตัวเลขได้ถูกต้องทั้งหมด กรณีลายมือเขียนสามารถรู้จำตัวเลขได้ถูกต้องเฉลี่ย 93.78 เปอร์เซ็นต์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. ผลการรู้จำตัวเลขจากภาพแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด. 91

ประเภทข้อมูลตัวเลข บนแบบฟอร์ม ภ.ง.ด. 91	จำนวน แบบฟอร์ม	การรู้จำตัวเลข			
		จำนวน ตัวเลข	ผิดพลาด (ตัว)	ถูกต้อง (ตัว)	เปอร์เซ็นต์ ความถูกต้อง
ตัวพิมพ์	10	1,759	0	1,759	100.00
ลายมือเขียน	40	6,596	410	6,186	93.78
รวม	50	8,355	410	7,945	95.09

ภาพที่ 11 แสดงตัวอย่างผลลัพธ์ที่ได้จากการอ่านข้อมูลจากภาพแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด. 91: (ก) แสดงภาพแบบฟอร์มภาษีที่เป็นข้อมูลนำเข้า (input) และ (ข) แสดงหน้าจอผลลัพธ์ที่ได้จากการอ่าน (output) ในตัวอย่างนี้เป็นกรณีลายมือเขียน และระบบสามารถอ่านข้อมูลได้ถูกต้องทั้งหมด

**ภ.ง.ด. 91**

**การคำนวณภาษี**

1. เงินเดือน ค่าจ้าง บ้านเช่า ฯลฯ รวมแล้วคิดเป็นเงินได้ ๑.๖	350,550.00
2. พัก เงินได้ที่ได้ยกเว้น (ตามมาตรา 7.๖)	
3. คงเหลือ (1. - 2.)	350,550.00
4. พัก ค่าใช้จ่าย (มาตรา 40 หรือ 3. แต่ไม่เกินที่กฎหมายกำหนด)	60,000.00
5. คงเหลือ (3. - 4.)	290,550.00
6. พัก ค่าลดหย่อนฯ (ตามมาตรา 11.๖)	115,521.29
7. คงเหลือ (5. - 6.)	175,028.71
8. พัก เงินสนับสนุนการศึกษา (สำหรับจำนวนเงินที่ได้จ่ายไปฟรี แต่ไม่เกินร้อยละ 10 ของ 7.๖)	0.00
9. คงเหลือ (7. - 8.)	175,028.71
10. พัก เงินบริจาค (ไม่เกินร้อยละ 10 ของ 9.)	
11. เงินได้สุทธิ (9. - 10.)	175,028.71
12. ภาษีคำนวณจากเงินได้สุทธิตาม 11.	7,162.57
13. พัก ภาษีเงินได้หัก ณ ที่จ่าย	9,768.05
14. คงเหลือ ภาษีที่ <input type="radio"/> จ้างระเหิมเหิม <input checked="" type="radio"/> จ้างระไว้กิน	2,602.21
กรณี <input type="radio"/> มีเงินหยวน <input type="radio"/> ยื่นแบบฯ เติมคืน <input type="radio"/> ยื่นแบบฯ ยื่นค่าทดแทนเวลา	
15. บวกร ภาษีที่ชำระเพิ่มเติม (ตามมาตรา 11.๑ ของประมวลฯ) ถ้ามี	
16. พัก ภาษีที่ชำระไว้เกิน (ตามมาตรา 7.๑ ของประมวลฯ) ถ้ามี	
17. พัก ภาษีที่ชำระไว้ตามแบบ ภ.ง.ด. 91 กรณียื่นคืนเงินเสีย	
18. ภาษีที่ <input type="radio"/> จ้างระเหิมเหิม <input checked="" type="radio"/> จ้างระไว้กิน	2,602.21
19. บวกร เงินเพิ่ม (ถ้ามี)	
20. รวม ภาษีที่ <input type="radio"/> จ้างระเหิมเหิม <input checked="" type="radio"/> จ้างระไว้กิน	2,602.21

**รายการเงินได้ที่ได้รับยกเว้น**

1. เงินสะสมกองทุนสำรองเลี้ยงชีพ (ส่วนไม่เกิน 10,000 บาท)	-
2. เงินสะสม อื่นๆ	
3. เงินสะสมกองทุนสวัสดิการแห่งรัฐหรือกองทุนอื่น	
4. ผู้มีเงินได้สุทธิตั้งแต่ ๑5 ปีขึ้นไป 100,000 บาท	
5. ผู้ประกอบการตั้งแต่ ๑๐ ปีขึ้นไปและมีเงินได้รวมไม่เกิน 100,000 บาท	
6. เงินที่ระดมทุนไว้รับทุนตามกฎหมายว่าจ้าง กรณีไม่จ่ายค่าจ้างสมาชิก	
7. รวม (๕. ถึง ๖.) ยกไม่ยกกันใน ๑.๕	

**ค่าหรือลดคืนเงินภาษี**

**รายการลดหย่อนและยกเว้นภาษีจากหักภาษีที่จ่าย**

1. ผู้มีเงินได้	30,000.00
2. ผู้สมรส (30,000 บาท กรณีมีเงินได้รวมคำนวณภาษีหรือไม่มีเงินได้)	
3. บุตร (คนละ 15,000 บาท) <input type="radio"/> คน บุตร (คนละ 17,000 บาท) <input type="radio"/> คน	
4. <input type="radio"/> โฉิน <input type="radio"/> มารดา (ให้ลดหย่อนเฉพาะผู้เป็นบิดา)	
5. เบิกประกันชีวิต	50,000.00
6. เงินสะสมกองทุนสำรองเลี้ยงชีพ (ส่วนที่ไม่เกิน 10,000 บาท)	9,886.00
7. ค่าซื้อหน่วยลงทุนในกองทุนรวมเพื่อการเลี้ยงชีพ	
8. ค่าซื้อหน่วยลงทุนในกองทุนรวมกลุ่มประชากร	
9. ดอกเบี้ยเงินกู้ยืม เพื่อซื้อ หรือเพื่อสร้างอาคารอยู่อาศัย	21,375.29
10. เงินสมทบกองทุนประกันสังคม	7,100.00
11. รวม (1. ถึง 10.) ยกไม่ยกกันใน ๑.๕	115,921.29
กรณีฐานแบบ ๑. 1. ถึง ๓. และ ๑. 4. ถึง 10. รวม	ยกเว้น

**คำรับรอง**

ข้าพเจ้าขอรับรองว่ารายการที่แสดงไว้เป็นความจริงประการใดตามกฎหมายและประมวลฯ ถ้ามี รวม 5 ฉบับ

ลงชื่อ  ผู้มีเงินได้  
ลงชื่อ  คู่สมรส

(ก) ภาพแบบฟอร์มภาษีที่เป็นข้อมูลนำเข้า

ภาพที่ 11. ตัวอย่างผลลัพธ์การอ่านข้อมูลจากภาพแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด. 91

FormPND91

ผู้มีเงินได้  
เลขประจำตัวประชาชน   
เลขประจำตัวผู้เสียภาษี

คู่สมรส  
เลขประจำตัวประชาชน   
เลขประจำตัวผู้เสียภาษี

ก - การหักลดหย่อนภาษี

1. เงินเดือน : ค่าจ้าง ปานกลาง ฯลฯ	350550.00
2. หัก เงินได้สุทธิที่รับยกเว้น	
3. คงเหลือ (1. - 2.)	350550.00
4. หัก ค่าใช้จ่าย (จึงลด 40 ของ 3.)	60000.00
5. คงเหลือ (3. - 4.)	290550.00
6. หัก ค่าลดหย่อนฯ	118921.29
7. คงเหลือ (5. - 6.)	171628.71
8. หัก เงินสโบนทุนการศึกษา	0.00
9. คงเหลือ (7. - 8.)	171628.71
10. หัก เงินบริจาค (ไม่เกิน จึงลด 10)	
11. เงินได้สุทธิ (9. - 10.)	171628.71
12. ภาษีคำนวณจากเงินได้สุทธิตาม 11.	7162.87
13. หัก ภาษีเงินได้หัก ณ ที่จ่าย	9765.08
14. คงเหลือ ภาษีที่ชำระเพิ่มเติม/ชำระไว้เกิน	2602.21
15. บวก ภาษีที่ชำระเพิ่มเติม (ยกมาจาก ค 6.)	
16. หัก ภาษีที่ชำระไว้เกิน (ยกมาจาก ค 7.)	
17. หัก ภาษีที่ชำระไว้ตามแบบ ภ.ง.ด.91	
18. ภาษีที่ ชำระไว้เกิน / ชำระเพิ่มเติม	2602.21
19. บวก เงินเพิ่ม (ถ้ามี)	
20. จน ภาษีที่ ชำระเพิ่มเติม / ชำระไว้เกิน	2602.21

ข - รายการเงินได้ที่ได้รับยกเว้น

1. เงินสะสมกองทุนสำรองเลี้ยงชีพ	
2. เงินสะสม กบข.	
3. เงินสะสมกองทุนสงเคราะห์ครู.จ.เอกชน	
4. ผู้มีเงินได้อายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไป 190,000	
5. คู่สมรสอายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไป	
6. เงินค่าเช่าเช่าที่ได้ในตามกฎหมายแรงงาน	
7. รวม (1. - 6.)	

ค - รายการลดหย่อนและยกเว้นหลังจากหักค่าใช้จ่าย

1. ผู้มีเงินได้	30000
2. คู่สมรส (กรณีรวมค่าลดหย่อน/ไม่มีเงินได้)	
3. บุตร คนละ 15,000 <input type="text"/>	
บุตร คนละ 17,000 <input type="text"/>	
4. บิดา <input type="text"/>	
ภรรยา <input type="text"/>	
บิดา <input type="text"/>	
ภรรยา <input type="text"/>	
5. เบี้ยประกันชีวิต	50000.00
6. เงินสะสมกองทุนสำรองเลี้ยงชีพ	9846.00
7. ค่าซื้อหน่วยลงทุนกองทุนสำรองเลี้ยงชีพ	
8. ค่าซื้อหน่วยลงทุนกองทุนรวมกัน	
9. ดอกเบี้ยเงินกู้ยืม เพื่อที่อยู่อาศัย	21875.29
10. เงินสะสมกองทุนประกันสังคม	7200.00
11. รวม (1. - 10.)	118921.29

Show Result      Exit

(ข) ผลลัพธ์จากการอ่านตัวเลขบนแบบฟอร์มภาษีในข้อ (ก)

ภาพที่ 11. ตัวอย่างผลลัพธ์การอ่านข้อมูลจากภาพแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด. 91 (ต่อ)

## อภิปรายและวิจารณ์

จากการวิเคราะห์ผลการทดลอง พบว่าข้อผิดพลาดส่วนใหญ่มาจากขั้นตอนการแยกส่วนของตัวเลข ซึ่งส่งผลกระทบต่อขั้นตอนการรู้จำด้วย โดยข้อผิดพลาดจะเกิดขึ้นกับกรณีของลายมือเขียน ซึ่งจะมีปัญหาเกี่ยวกับการเขียนเลขเดี่ยวแยกกัน และการเขียนตัวเลขหลายตัวติดกัน ดังรายละเอียดต่อไปนี้

## 1. ปัญหาเกี่ยวกับการเขียนตัวเลขเดี่ยวแยกกัน (broken digit)

ในกรณีที่มีการเขียนตัวเลขเดี่ยวไม่ต่อเนื่อง หรือ เส้นที่เป็นส่วนประกอบของตัวเลขขาดจากกัน เมื่อทำการแยกส่วนของตัวเลขจะทำให้ส่วนประกอบของตัวเลขตัวเดียวกันนั้นถูกแยกออกจากกันเป็นสองส่วนหรือมากกว่า ดังตัวอย่างในภาพที่ 12 (ก) แสดงตัวอย่างตัวเลขที่มีส่วนที่ไม่เชื่อมต่อบริเวณส่วนบน เนื่องจากในงานวิจัยนี้ใช้วิธีการแยกส่วนโดยพิจารณาเฉพาะพิกเซลที่อยู่ติดกันให้เป็นองค์ประกอบเดียวกันดังนั้นเมื่อผ่านขั้นตอนแยกส่วน ตัวเลขเดี่ยวที่เขียนไม่เชื่อมต่อกัน จะถูกแยกออกเป็นสองส่วนดังแสดงในภาพ (ข) ซึ่งปัญหานี้จะต้องหาวิธีแก้ไขต่อไป โดยควรจะต้องหาวิธีตรวจสอบตัวเลขเดี่ยวที่มีบางส่วนขาดจากกันและทำการเชื่อมส่วนที่ขาดจากกันนั้นก่อนที่จะแยกส่วนของตัวเลขต่อไป



(ก)



(ข)

ภาพที่ 12. ตัวอย่างตัวเลขที่แยกส่วนผิดพลาดเนื่องมาจากการเขียนที่ไม่ต่อเนื่อง  
(ก) ภาพตัวเลขเดี่ยวที่มีส่วนไม่เชื่อมต่อกัน (ข) ผลลัพธ์ที่ได้จากการแยกส่วน

## 2. ปัญหาเกี่ยวกับการเขียนตัวเลขหลายตัวติดกัน (touching digits)

ถึงแม้วิธีการที่เสนอมจะมีขั้นตอนการตรวจสอบตัวเลขที่เขียนติดกันแล้วก็ตาม แต่ยังคงมีข้อผิดพลาดเกี่ยวกับเรื่องนี้อยู่ สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากจุดตัดบนและจุดตัดล่างที่หาได้ยังไม่เหมาะสมในบางกรณี ทำให้เมื่อตัดแยกแล้วได้ภาพตัวเลขออกมาไม่ถูกต้องตามที่ควรจะเป็น ดังตัวอย่างในภาพที่ 13 (ก) เป็นตัวอย่างภาพตัวเลขติดกัน 2 ตัว (ข) แสดงผลลัพธ์ที่ได้จากการแยกส่วนซึ่งไม่ถูกต้อง ปัญหานี้จะต้องมีการพิจารณาแก้ไขต่อไป โดยจะต้องปรับวิธีแยกส่วนตัวเลขที่เขียนติดกันให้ครอบคลุมรูปแบบการเขียนติดกันที่หลากหลายขึ้น



(ก)









(ข)

ภาพที่ 13. ตัวอย่างตัวเลขที่แยกส่วนผิดพลาดเนื่องมาจากการเขียนติดกัน  
(ก) ภาพตัวเลขที่เขียนติดกัน (ข) ผลลัพธ์ที่ได้จากการแยกส่วน

### 3. ปัญหาเกี่ยวกับการรู้จำตัวเลขผิดพลาด

ปัญหาที่พบสำหรับการรู้จำตัวเลขผิดพลาดส่วนใหญ่เป็นผลสืบเนื่องมาจากการแยกส่วนของตัวเลขที่ผิดพลาด ทำให้ได้ภาพของตัวเลขที่ผิดรูป หรือขาดแหว่งไปในบางส่วน ซึ่งจะมีผลทำให้ได้ค่าลักษณะสำคัญของตัวเลขที่แตกต่างจากตัวเลขที่ควรจะเป็นไปมาก ตัวอย่างตัวเลขที่รู้จำผิดพลาดแสดงในตารางที่ 4 สำหรับเครื่องหมาย \* หมายถึง ไม่มีผลลัพธ์ของการรู้จำ เนื่องจากระบบพิจารณาว่าไม่ใช่บล็อกของตัวเลขและได้ถูกลบทิ้งไปในขั้นตอนการตัดแยกส่วนตัวเลข

ตารางที่ 4. ตัวอย่างการรู้จำตัวเลขที่ผิดพลาดจากปัญหาของการเขียนตัวเลขเดี่ยวแยกกัน และการเขียนตัวเลขหลายตัวติดกัน

บล็อกตัวเลข	ตัวเลขจริง	องค์ประกอบย่อยที่แยกได้	ตัวเลขที่ระบบรู้จำ
	7	 	* 7
	7, 3	 	* 4

นอกจากนี้ความผิดพลาดบางส่วนเกิดจากลักษณะเฉพาะของการเขียน เช่น การเขียนตัวเอียง การเขียนตัวเลขที่มีรูปแบบแตกต่างไปจากตัวเลขที่เป็นต้นแบบมาก เป็นต้น ดังตัวอย่างแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5. ตัวอย่างการรู้จำผิดพลาดเนื่องจากลักษณะเฉพาะของการเขียน

บล็อกตัวเลข	ตัวเลขจริง	ตัวเลขที่ระบบรู้จำ
	8	4
	5	2
	7	3



## สรุป

งานวิจัยนี้ได้เสนอระบบสำหรับอ่านข้อมูลตัวเลขบนภาพแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91 โดยพิจารณาทั้งกรณีที่มีข้อมูลตัวเลขเป็นตัวพิมพ์และลายมือเขียน ซึ่งมีการทำงานทั้งหมด 6 ขั้นตอน ดังนี้ 1) การระบุประเภทของแบบฟอร์ม 2) การแยกบล็อกองค์ประกอบของแบบฟอร์ม 3) การแยกแยะบล็อกของฟิลด์ข้อมูลตัวเลข 4) การแยกส่วนของตัวเลขพร้อมทั้งตรวจสอบและตัดแยกตัวเลขที่เขียนติดกัน 5) การหาลักษณะสำคัญของตัวเลขโดยใช้ลำดับการตัดผ่าน และฮิสโทแกรมรหัสทิศทาง และ 6) การรู้จำตัวเลขโดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมจากการทดลองอ่านข้อมูลบนภาพแบบฟอร์มภาษี จำนวน 100 ภาพ ประกอบด้วยแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด. 91 จำนวน 50 ภาพ และแบบฟอร์มภาษีประเภทอื่น ๆ จำนวน 50 ภาพ ระบบสามารถระบุประเภทของแบบฟอร์มภาษี ภ.ง.ด.91 และแยกบล็อกองค์ประกอบของแบบฟอร์มได้ถูกต้องทั้งหมด สำหรับการแยกส่วนของตัวเลขและการรู้จำตัวเลขได้ผลลัพธ์ดังนี้ กรณีตัวพิมพ์ ระบบสามารถแยกส่วนของตัวเลข และรู้จำตัวเลขได้ถูกต้องทั้งหมด ส่วนกรณีลายมือเขียน ระบบสามารถแยกส่วนของตัวเลขได้ถูกต้อง 97.54 เปอร์เซ็นต์ และรู้จำตัวเลขได้ถูกต้อง 93.78 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าวิธีการที่เสนอมีสักยภาพที่จะนำไปใช้ในการพัฒนาระบบสำหรับอ่านแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91 เพื่อการใช้งานจริงได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับแบบฟอร์มที่รอกข้อมูลด้วยตัวพิมพ์ สำหรับกรณีของลายมือเขียนถึงแม้จะยังมีความผิดพลาดอยู่บ้าง แต่ความถูกต้องในการอ่านข้อมูลถือว่าอยู่ในเกณฑ์สูงและไม่พบปัญหาในกรณีเขียนตัวบรรจง อย่างไรก็ตามยังคงต้องมีการปรับปรุงและศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไปเพื่อให้ครอบคลุมลายมือเขียนที่มีรูปแบบการเขียนที่หลากหลายขึ้น เช่น การเขียนตัวเลขเดี่ยวแยกกันหรือมีส่วนที่ไม่เชื่อมต่อกัน การเขียนตัวเลขหลายตัวติดกัน การเขียนตัวเอียง การเขียนตัวเอียงและติดกัน เป็นต้น

## เอกสารอ้างอิง

1. Casey, R.G. and Ferguson, D.R. 1990. Intelligent Form Processing System. IBM Systems Journal. **29**(3). 435-450.
2. Doermann, D.S. 1993. Document Image Understanding: Integrating Recovery and Interpretation. Ph.D. Thesis, Department of Computer Science, University of Maryland.
3. Lam, S.W., Javanbakht, L. and Srihari, S.N. 1993. Anatomy of a Form Reader. Proceedings of the Second International Conference on Document Analysis and Recognition. 506-509.

4. Okun, O. and Pietikainen, M. 2000. A Survey of Texture-based methods for document layout analysis. *Machine Perception and Artificial Intelligence*. World Scientific. 40, 165-177.
5. Kasturi, R., O’Gorman, L. and Govindaraju, V. 2002. Document Image Analysis: A Primer. *Sadhana*, Feb. 25, 3-22.
6. Srihari, S.N. 1986. Document Image Understanding. *Proceeding of the IEEE Computer Society Fall Joint Computer Conference*, Dallas, TX, Nov. 87-96.
7. Oliveira, L.S., Sabourin, R., Bortolozzi, F. *et al.* 2002. Automatic Recognition of Handwritten Numerical Strings: A Recognition and Verification Strategy. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*. 24, 1438-1454.
8. Lee, L.L., Lizarraga, M.G., Gomes, N.R. and Koerich, A.L. 1997. A Prototype for Brazilian Bank Check Recognition. *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence*, World Scientific. 549-569.
9. Palacios, R. and Gupta, A. 2006. A system for processing handwritten bank checks automatically. *Image and Vision Computing*. (URL: <http://www.sciencedirect.com>)
10. Cesarini, F., Gori, M., Marinai, S. *et al.* 1998. INFORMys: A Flexible Invoice-Like Form-Reader System. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*. 20(7), 730-745.
11. Srihari, S.N., Shin, Y.C., Ramanaprasad, V. *et al.* 1996. A system to read names and addresses on Tax Forms. *Proceedings of the IEEE*. 84, 1038-1049.
12. Gonzalez, R.C. and Woods, R.E. 2002. *Digital Image Processing*. Pearson Education International
13. Casey, R.G. and Lecolinet, E. 1996. A Survey of Methods and Strategies in Character Segmentation. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*. 18, 690-706.
14. Trier, O.D., Jain, A.K. and Taxt, T. 1996. Feature Extraction Methods for Character Recognition -A Survey. *Pattern Recognition*. 29, 641-662.

## ระเบียบการเขียนบทความวิจัย ที่จะลงพิมพ์ในวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เป็นวารสารทางวิชาการที่มีวัตถุประสงค์เพื่อส่งเสริมวิชาการเผยแพร่ผลงานวิจัยและงานสำรวจต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ที่จัดทำขึ้นในประเทศไทย และเพื่อให้วารสารเป็นสื่อในการแลกเปลี่ยนผลงานวิจัยกับสถาบันการวิจัยในต่างประเทศทั่วโลก จัดพิมพ์ออกเผยแพร่ปีละ 2 เล่ม (ประจำเดือนมกราคม-มิถุนายน และเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม) โดยบทความวิจัยที่เสนอขอลงพิมพ์ต้องไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารใดวารสารหนึ่งมาก่อน หรือต้องไม่อยู่ในระหว่างเสนอขอลงพิมพ์ในวารสารอื่น และต้องผ่านการพิจารณาให้ความเห็นและตรวจแก้ไขทางวิชาการจากผู้ทรงคุณวุฒิประจำกองบรรณาธิการวารสาร ฯ ก่อนลงพิมพ์ โดยจะแจ้งความเห็นไปยังผู้เขียนเพื่อพิจารณาปรับปรุงแก้ไข ซึ่งเมื่อกองบรรณาธิการวารสาร ฯ เห็นชอบกับการแก้ไขแล้วจึงต้องถือว่าบทความวิจัยนั้น ๆ สามารถนำลงพิมพ์ได้ และเพื่อให้สอดคล้องกับประกาศให้มีจรรยาบรรณการใช้สัตว์สภาวิจัยแห่งชาติ บทความวิจัยที่ใช้สัตว์ทดลองในงานวิจัยซึ่งได้ดำเนินการหลังเดือนกันยายน พ.ศ. 2544 ผู้วิจัยต้องแสดงหนังสือรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการวิจัย งานทดสอบ งานผลิตชีววัตถุ และงานสอนของสถาบันหรือหน่วยงานที่ตนสังกัดเพื่อรับรองว่าผู้วิจัยได้ปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ว่าด้วยจรรยาบรรณการใช้สัตว์แห่งชาติแล้ว มิฉะนั้นบทความวิจัยจะไม่ได้รับการพิจารณาให้ลงพิมพ์

### การเตรียมต้นฉบับ

ต้นฉบับภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ใช้อักษรแบบ (Alphabet) Angsana New ขนาด 16 ตลอดทั้งบทความ พิมพ์หน้าเดียวในกระดาษ A4 พิมพ์ให้ห่างจากขอบทุกด้าน 2.5 ซม. และใส่เลขหน้ากำกับทุกหน้าที่มุมขวาบนหน้ากระดาษทุกหน้า ความยาวต้นฉบับ 10 - 15 หน้า ประกอบด้วย

1. **ชื่อเรื่อง (Title)** ต้องมีภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ใช้อักษรแบบ Angsana New ขนาด 22 ชื่อภาษาอังกฤษใช้อักษรพิมพ์ขนาดใหญ่ทั้งหมด และควรเป็นชื่อสั้น กระชับ ได้ใจความตรงกับวัตถุประสงค์และเนื้อเรื่อง

2. **ชื่อผู้เขียน (Author)** และสถานที่ทำงาน ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

2.1 ชื่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พิมพ์เฉพาะ ชื่อ-นามสกุล ให้อักษรแบบ Angsana New ขนาด 16

2.2 สถานที่ทำงาน เช่น คณะ สถาบัน มหาวิทยาลัยและอื่นๆ ให้พิมพ์ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

3. เนื้อหา (Text) บทความวิจัยภาษาไทยที่มีคำศัพท์ภาษาอังกฤษ ควรแปลเป็นภาษาไทยให้มากที่สุด (ในกรณีที่คำศัพท์ภาษาอังกฤษเป็นคำเฉพาะที่แปลไม่ได้หรือแปลแล้วไม่มีความหมายชัดเจนให้ทับศัพท์ได้) และควรใช้ภาษาที่ผู้อ่านเข้าใจง่าย ชัดเจน หากใช้คำย่อต้องเขียนคำเต็มไว้ครั้งแรกก่อน ทั้งนี้ เนื้อหาต้องประกอบด้วยหัวข้อต่อไปนี้

3.1 บทคัดย่อ (Abstract) ต้องมีต้นฉบับทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยจัดทำเป็นร้อยแก้ว (Prose) ย่อหน้าเดียว สรุปสาระสำคัญของงานวิจัยได้อย่างครบถ้วน ไม่แบ่งเป็นข้อ มีความยาวไม่เกิน 1,000 คำ ระบุคำสำคัญ (ถ้ามี) ไว้ท้ายบท ทั้งนี้ไม่เกิน 5 คำ ในการเขียนบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษควรมีเนื้อหาตรงกัน

3.2 คำนำ (Introduction) กล่าวถึงความสำคัญและเหตุผลที่ทำการวิจัย และควรอ้างอิงงานวิจัยอื่นที่เกี่ยวข้องประกอบด้วย

3.3 อุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)

1) บทความวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ ควรอธิบายเกี่ยวกับเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการที่ใช้ในการวิจัย

2) บทความวิจัยด้านสังคมศาสตร์ ควรอธิบายวิธีดำเนินการวิจัย โดยกล่าวถึงวิธีการสุ่มตัวอย่างที่มาของกลุ่มตัวอย่าง แหล่งที่มาของข้อมูล การเก็บและรวบรวมข้อมูล การใช้เครื่องมือ สถิติที่ใช้ในการวิจัยและการวิเคราะห์ข้อมูล

3.4 ผลการศึกษา (Results) เป็นการเสนอสิ่งที่ได้จากการวิจัยเป็นลำดับ แสดงด้วยตาราง กราฟ ภาพ หรือแผนภูมิประกอบการอธิบาย

3.5 อภิปรายและวิจารณ์ (Discussion) เป็นการอภิปรายผลการวิจัยว่าเป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้หรือไม่เพียงใด และควรอ้างทฤษฎีหรือเปรียบเทียบการทดลองของผู้อื่นที่เกี่ยวข้องประกอบ เพื่อให้ผู้อ่านเห็นด้วยตามหลักการหรือคัดค้านทฤษฎีที่มีอยู่เดิม รวมทั้งแสดงให้เห็นถึงการนำผลไปใช้ประโยชน์และการให้ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยในอนาคต

3.6 สรุป (Conclusion) เป็นการสรุปผลที่ได้จากการวิจัย

3.7 คำขอบคุณ (Acknowledgements) เป็นการแสดงความขอบคุณแก่ผู้ที่ช่วยเหลือให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเพียงสั้นๆ (อาจมีหรือไม่มีก็ได้)

3.8 ตารางและรูปประกอบ (Table and Figure) ควรมีเฉพาะที่จำเป็น สำหรับรูปประกอบควรเป็นรูปถ่ายขาว-ดำ ที่ชัดเจนและมีคำบรรยายได้รูป กรณีที่จำเป็นอาจใช้ภาพสีได้

3.9 เอกสารอ้างอิง (References) เอกสารอ้างอิงมีไว้เพื่อความสะดวกของผู้อ่านให้สามารถติดตามเอกสารอ้างอิงอย่างน้อยในห้องสมุด เอกสารอ้างอิงโดยสากล บรรจุข้อมูล 5 ถึง 9 ประโยค ทุกประโยคมีสัญลักษณ์ คือ ลงท้ายด้วย มหัพภาค (full stop) และเว้นวรรค 2 อักขรเดิน (1/6 นิ้ว) เสมอ เริ่มต้นด้วย

1) เรียงลำดับเลขที่ของเอกสาร โดยเรียงตามอักษร เริ่มเอกสารภาษาไทยก่อนภาษาต่างประเทศ.

2) ชื่อผู้เขียน เอกสารภาษาไทยให้ขึ้นด้วย ชื่อ และตามด้วย นามสกุล ส่วนภาษาต่างประเทศ ผู้เขียนให้ขึ้นด้วย นามสกุล, ตามด้วยชื่อต้น หรืออักษรย่อ ๆ และก่อนถึงชื่อผู้เขียน ท่านสุดท้ายใช้คำว่า “และ” (and) หากมีผู้เขียนเกิน 3 ท่าน ให้ใช้ “และคณะ” หรือ *et al.* ผู้เขียนแต่ละท่าน จักค้นด้วยจุลภาค (,)

3) ปีที่พิมพ์ (พ.ศ. หรือ ค.ศ.) หากผู้เขียนท่านเดียวกันมีหนังสือหลายเล่มในปีเดียวกัน ให้ตามด้วยอักษรเรียงตามลำดับ.

4) เรื่อง. ถ้าหากเป็นเรื่องย่อ ให้ตามด้วย ใน: (in:) หนังสือและผู้แต่งสำคัญ.

5) โรงพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. สำหรับพวกตำราประเภทวารสาร ให้แทนชื่อโรงพิมพ์ด้วยชื่อวารสาร (หรือชื่อย่อ) นั้น ตามติดด้วยปีที่ (ฉบับที่) : หน้าแรกที่ย่าง-หน้าสุดท้ายที่ย่าง ไม่ต้องเว้นวรรคระหว่างปีที่ ฉบับที่ หน้า.

6) จำนวนหน้า หรือเฉพาะหน้าที่ใช้อ้างอิง สำหรับพวกตำรา. (ไม่ต้องใช้ข้อนี้ในประเภทวารสาร)

7) รหัสหนังสือ. (ถ้ามี) ส่วนเอกสารที่มาจากสื่ออื่นต้องมีข้อมูลหลักทำนองเดียวกันจากสื่ออิเล็กทรอนิกส์ ชื่อเรื่องใช้คำสำคัญแทนตามด้วย

8) URL และ ตามด้วย [วัน เดือน ปี] ที่ค้นอ้างอิง (ปี พ.ศ. หรือ ค.ศ. ตามประโยค 3 เว้นเสียก็ได้) และ

9) ข้อมูลสำคัญที่อำนวยความสะดวกในการค้น ก็ควรบันทึกไว้

การอ้างเอกสารอ้างอิงในเนื้อหาให้พิมพ์ตัวเลขตามลำดับเลขที่ของเอกสารอ้างอิง โดยยกเหนือข้อความท้ายประโยค หรืออ้างชื่อแล้ววงเล็บด้วย พ.ศ. หรือ ค.ศ. คัดเลือกดูตัวอย่างที่มีประโยคหลักครบถ้วนเพื่อเลียนแบบเครื่องหมายวรรคตอน และลักษณะตัวพิมพ์จากเอกสารฉบับนี้ การส่งต้นฉบับ ต้นฉบับ จำนวน 3 ชุด พร้อมแผ่นดิสเก็ต จำนวน 1 ชุด และจดหมายขอลงพิมพ์บทความวิจัยในวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ส่งในนาม : ส่วนประชาสัมพันธ์และเผยแพร่ (งานวารสารและสื่อสิ่งพิมพ์)

สำนักอำนวยการกลาง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

196 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ ๑ 10900

โทรศัพท์ 0-2579-0431, 0-2561-2445 ต่อ 536

โทรสาร 0-2579-9775

อีเมล : info@nrct.go.th

## หมายเหตุ

1. ผู้เขียนบทความวิจัยต้องลงนามรับรองในแบบฟอร์มมอบลิขสิทธิ์ (Copyright Assignment Form) ของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติก่อน กองบรรณาธิการจึงจะนำบทความวิจัยเสนอผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาต่อไป
2. บทความวิจัยแต่ละเรื่องใช้เวลาในการพิจารณาประมาณ 2-3 เดือน (ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวนและสาขาวิชาการของบทความวิจัยที่เสนอขอลงพิมพ์)
3. เมื่อบทความวิจัยได้รับการพิจารณาให้ลงพิมพ์ ผู้เขียนต้องมอบแผ่นดิสก์เก็บบทความวิจัยเรื่องนั้นให้กองบรรณาธิการ และผู้เขียนจะได้รับวารสาร ๑ เล่มที่ลงพิมพ์บทความวิจัยจำนวน 1 เล่ม
4. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติขอสงวนสิทธิ์ในการพิจารณาลงพิมพ์

**แบบสอบถามความคิดเห็น**  
**“วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ”**

.....

1. ชื่อหน่วยงาน/สังกัด.....
2. ท่านรับวารสารสม่ำเสมอหรือไม่  
 สม่าเสมอ       รับเฉพาะเล่ม      เนื่องจาก.....
3. ท่านเห็นว่าวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติมีประโยชน์ต่อท่านหรือหน่วยงานของท่าน  
 มาก       ปานกลาง       น้อย
4. ท่านเห็นว่าวารสารมีเนื้อหาสาระโดยรวมเป็นอย่างไร  
 ดีมาก       ดี       ปานกลาง       ควรปรับปรุง
5. หากเห็นว่าควรปรับปรุง ควรปรับปรุงด้านใด  
1) .....  
2) .....  
3) .....
6. เนื้อหาผลงานวิจัยสาขาใดในวารสารที่ท่านสนใจ (เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย)  
 สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพและคณิตศาสตร์       สาขานิติศาสตร์  
 สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์       สาขารัฐศาสตร์และรัฐประศาสนศาสตร์  
 สาขาวิทยาศาสตร์เคมีและเภสัช       สาขาเศรษฐศาสตร์  
 สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา       สาขาสังคมวิทยา  
 สาขาวิศวกรรมศาสตร์และอุตสาหกรรมวิจัย       สาขาเทคโนโลยีสารสนเทศและนิเทศศาสตร์  
 สาขาปรัชญา       สาขาการศึกษา
7. ท่านคิดว่าควรเพิ่มเติมเนื้อหาสาระในเรื่องใดบ้าง  
1) .....  
2) .....  
3) .....
8. รูปเล่มและรูปแบบการจัดวางภายในเล่ม  
 ดีมาก       ดี       ปานกลาง       ควรปรับปรุง
9. การใช้ภาษา  
 เหมาะสม-เข้าใจง่าย       เข้าใจยาก-ควรปรับปรุง       ใช้ศัพท์เทคนิคมากเกินไป
10. ข้อเสนอแนะอื่นๆ.....  
.....  
.....

ขอขอบคุณที่ท่านให้ความร่วมมือและสนใจวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

# ใบสมัครสมาชิก วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว).....

- ขอสมัครเป็นสมาชิกวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ  
 ขอต่ออายุสมาชิกวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประสงค์ขอรับวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

- ฉบับวิทยาศาสตร์  
อัตราค่าสมาชิก ๑ ปี (เล่ม๑, ๒) เป็นเงินจำนวน ๑๐๐ บาท  
 ฉบับสังคมศาสตร์  
อัตราค่าสมาชิก ๑ ปี (เล่ม๑, ๒) เป็นเงินจำนวน ๑๐๐ บาท

ตั้งแต่ปีที่.....เล่มที่.....พ.ศ. ....ถึงปีที่.....เล่มที่.....พ.ศ. ....

พร้อมนี้ ข้าพเจ้าได้จัดส่ง

- ตัวแลกเงินไปรษณีย์ เลขที่ .....จำนวนเงิน.....บาท  
 ธนาณัติ เลขที่ .....จำนวนเงิน.....บาท

การจัดส่งใบเสร็จรับเงิน ในนาม

- ข้าพเจ้า  
 หน่วยงานราชการ/ นิติบุคคลชื่อ.....

ที่อยู่.....

โทรศัพท์..... โทรสาร..... อีเมล.....

การจัดส่งวารสาร ในนาม.....

ที่อยู่.....

โทรศัพท์..... โทรสาร..... อีเมล.....

ลงชื่อ.....ผู้สมัคร

(.....)

วันที่.....เดือน..... พ.ศ. ....

โปรดส่งจ่าย ปท.จตุจักร ในนาม สำนักอำนวยการกลาง สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ส่งบอกรับที่ ผู้อำนวยการสำนักอำนวยการกลาง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

196 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ ๑ 10900

โทร. 0-2579-0431, 0-2561-2445 ต่อ 536

โทรสาร 0-2579-9775



---

ติดต่อ

ส่ง

กองบรรณาธิการวารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ  
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ  
196 ถนนพหลโยธิน จตุจักร  
กรุงเทพฯ ๙ 10900

---

พิมพ์ที่

---

บริษัท เอส.พี.วี.การพิมพ์ (2550) จำกัด  
88/12 หมู่ 1 ซ.วัดรวก ต.บางไผ่ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000  
โทร. 0-2552-7146, 0-2552-7147



# สารบัญ

วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีที่ 41 เล่มที่ 1 ม.ค. - มิ.ย. 2552

- ◆ วงอิทเทอร์ซิซของ PZTs ที่กำลังเสื่อม.  
สุธรรม ศรีห่มลัก ..... 11
- ◆ อิทธิพลของความดันต่อค่าความต้านทานจำเพาะของเค้กรองและค่าสัมประสิทธิ์การกดอัดไอน้ำ  
ของเหล้าสาโท.  
ชิตพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ และคณะ ..... 23
- ◆ การประเมินศักยภาพแบบที่เรียศัตรฐรรมชาติของลูกน้ำยุงพาหะนำโรค.  
เดจนา เขาวนาคิษฐ์ และคณะ ..... 39
- ◆ กานไม้ประสานจากไม้สะเดาและไม้สะเดาเทียม.  
สุภาวดี บุญยรัตน์ และคณะ ..... 57
- ◆ พัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์และวงจรสืบพันธุ์ของหอยคัลบขาว. *Meretrix casta* Gmelin, 1791  
บริเวณหาดแหลมกลัด จังหวัดตราด  
สุขใจ รัตนยุวกร และคณะ ..... 75
- ◆ การพัฒนาระบบฐานข้อมูลรายค้าพื้นเมืองจังหวัดสกลนคร.  
กรรณิการ์ กมลรัตน์ ..... 91
- ◆ การเกิดการกลายพันธุ์ของยีนอะซีโตแลคเตทซินเรท ในพันธุ์อ้อยทนทานสารอิมซาซาเพอร์.  
นิศาชล เครื่องจันทร์ และคณะ ..... 111
- ◆ ระบบอ่านข้อมูลบนแบบฟอร์มภาษีเงินได้บุคคลธรรมดา ภ.ง.ด.91.  
สุกัญญา พงษ์สุภาพ และคณะ ..... 129

บทความที่ปรากฏในวารสารนี้ หากนำไปตีพิมพ์ วน ที่อื่นต้องอ้างถึงสำนักงาน  
คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติไว้เป็นหลักฐาน ทั้งนี้ขอคิดเห็นในบทความนี้เป็นของ  
ผู้เขียนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติไม่จำเป็นต้องเห็นพ้องด้วยเสมอไป



# CONTENTS

Journal of the National Research Council of Thailand Vol. 41, No. 1, Jan. - June. 2009

- ◆ HYSTERESIS LOOPS OF AGING PZTs.  
*Sutham Srilomsak* ..... 11
- ◆ EFFECT OF PRESSURE ON SPECIFIC CAKE RESISTANCE AND COEFFICIENT  
OF CONSOLIDATION OF SATO (THAI RICE WINE).  
*Chidphong Pradistsuwana et al.* ..... 23
- ◆ ASSESSMENT ON THE LARVICIDAL ACTIVITY OF LOCAL ENTOMOPATHOGENIC  
BACILLI TOWARDS MOSQUITO LARVAE.  
*Laojana Chowanadisai et al.* ..... 39
- ◆ GLUE LAMINATED WOOD GIRDER FROM NEEM AND AZADIRACHTA  
EXCELSA JACK JACOBS.  
*Supawadee Boonyachut et al.* ..... 57
- ◆ GAMETOGENESIS AND REPRODUCTIVE CYCLE OF *MERETRIX CASTA* GMELIN,  
1791 AT LEAMKLAD BEACH, TRAT PROVINCE.  
*Sukjai Rattanayuvakorn et al.* ..... 75
- ◆ DEVELOPMENT OF THE DATABASE SYSTEM OF SAKON NAKHON'S INDIGENOUS  
FABRIC STRIPES.  
*Kannikar Kamolrat* ..... 91
- ◆ ACETOLACTATE SYNTHASE GENE MUTATION CONFERRING IMAZAPYR  
TOLERANCE IN SUGARCANE CLONE.  
*Nisachol Khruangchan et al.* ..... 115
- ◆ P.N.D. 91 PERSONAL INCOME TAX FORM READING SYSTEM.  
*Sukanya Phongsuphap et al.* ..... 129

Articles and other materials published in this Journal may be reproduced with the acknowledgement toward National Research Council of Thailand. The authors are absolutely responsible for their expressions in their articles.