การคัดเลือกพันธุ์โกศจุฬาลำพา
Selection of Annual Wormwood (*Artemisia annua* L.)

จรัญ ดิษฐไชยวงศ์[๑/] มัลลิกา รักษ์ธรรม [๑/] เสงี่ยม แจ่มจำรูญ[๑/]
สุภาภรณ์ สาชาติ[๒/] ศรีสุดา โท้ทอง [๒/]

๑. บทคัดย่อ

โกฐจุฬาลำพามีสารอาร์ทิมิซินินออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย ปี ๒๕๕๔ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร คัดเลือกประชากรโกฐจุฬาลำพาตามความแตกต่างทางฟีโนไทป์ได้ ๔ ลักษณะ ได้แก่ ฟีโนไทป์ ๑ มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางสั้น ก้านใบสั้น ฟีโนไทป์ ๒ มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ฟีโนไทป์ ๓ มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบยาว และฟีโนไทป์ ๔ มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบสั้น ปลูกประเมินผลผลิตเบื้องต้น ๔ ฟีโนไทป์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ เก็บเกี่ยวผลผลิตกิ่งและใบบนลำต้นหลัก ระยะดอกตูมเต็มที่ พบว่า ทั้ง ๔ ฟีโนไทป์ ในปี ๒๕๕๕ ให้ผลผลิตสดและแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในปี ๒๕๕๗ ฟีโนไทป์ ๑ ให้ผลผลิตสดสูงสุด ๗,๓๖๓ กิโลกรัมต่อไร่ และฟีโนไทป์ ๒ ให้ผลผลิตแห้งสูงสุด ๔,๘๑๖ กิโลกรัมต่อไร่ ค่าเฉลี่ย ๒ ปี พบว่า ฟีโนไทป์ ๒ ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินสูงสุดร้อยละ ๐.๕๔ ของน้ำหนักแห้ง จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วย ISSR-Touchdown PCR พบว่า โกฐจุฬาลำพาทั้ง ๔ ฟีโนไทป์ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมตั้งแต่ ๖๗-๗๙ เปอร์เซ็นต์

คำหลัก: โกฐจุฬาลำพา ฟีโนไทป์ อาร์ทิมิซินิน

[๑/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร
[๒/]สถาบันวิจัยพืชสวน

Abstract

Artemisia annua L. have artemisinin which is an active ingredient for anti malaria activities. In ๒๐๑๑, Phichit Agricultural Research and Development Center selected populations of *Artemisia annua* L. by using phenotype differences. Four phenotypes of *Artemisia annua* L. were selected. Phenotype ๑: sparse bush, pinnately compound leaf, short rachis and short petiole. Phenotype ๒: sparse bush, pinnately compound leaf and long rachis. Phenotype ๓: dense bush, pinnately compound leaf, long rachis and long petiole. Phenotype ๔: dense bush, pinnately compound leaf, long rachis and short petiole. In year ๒๐๑๒ and ๒๐๑๔, four phenotypes were evaluated in the field and randomized complete block design (RCBD) was used. Yields of branches and leaves on main stem were harvested at full flowering stage. Results showed that all phenotypes were not significantly different in fresh and dry yields in ๒๐๑๒. The differences of the yields of the four phenotypes were significantly different in ๒๐๑๔. Phenotype ๑ gave the highest fresh

yield of ๗,๓๖๓ kg/rai and phenotype ๒ gave the highest dry yield of ๔,๘๑๖ kg/rai. Average ๒ years, phenotype ๒ gave the highest artemisinin of ๐.๕๔ g/๑๐๐ g dry weight. The genetic diversity among four phenotypes of *A. annua* L. was investigated by using ISSR-Touchdown PCR technique. Results showed that the genetic relationship among four phenotypes of *A. annua* L. were ๖๗-๗๙% similar.

Keywords: *Artemisia annua* L., phenotype, artemisinin

๒. คำนำ

โกฐจุฬาลำพา (annual wormwood, sweet wormwood) ชื่อจีนคือชิงเฮา (Xiang hao) พืชวงศ์ Compositae (Asteraceae) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Artemisia annua* L. (Diemer and Griffee, ๒๐๐๕; Qiang, ๒๐๐๖) ทุกส่วนเหนือดินของต้นทำให้แห้ง (dried aerial parts) ใช้เป็นยา ส่วนใบทำให้แห้ง (dried leaves) นำไปสกัดสารอาร์ทิมิซินิน (artemisinin) (Qiang, ๒๐๐๖) สารชนิดนี้ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรีย ไม่พบการดื้อยาจากการใช้สารจากพืชชนิดนี้ ยังขาดแคลนวัตถุดิบผลิตอาร์ทิมิซินิน การผลิตวัตถุดิบโกฐจุฬาลำพาเพื่อมีมูลค่าทางการค้านั้น มีปริมาณอาร์ทิมิซินินมากกว่าร้อยละ ๐.๖ ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งยังค่อนข้างต่ำ (Diemer and Griffee, ๒๐๐๕) ปัจจุบันองค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) จัดให้โรคมาลาเรีย (malaria) เป็นโรคที่มีปัญหาและมีความสำคัญเร่งด่วน ๑ ใน ๔ โรค ที่ต้องได้รับการแก้ไข (อานนท์, ๒๕๔๘) WHO แนะนำให้แพทย์ใช้อาร์ทิมิซินินร่วมกับการรักษารูปแบบอื่นๆ ในกรณีผู้ติดเชื้อมาลาเรียสายพันธุ์ *Plasmodium falciparum* ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่รุนแรง ทั้งนี้ เพื่อให้การกำจัดเชื้อปรสิตได้ผลสูงสุด และสนับสนุนการใช้ยาแบบมีองค์ประกอบรวม (multi-component drug) ประกอบด้วยอาร์ทิมิซินิน (artemisinin) ซึ่งเป็นสารประกอบเซสควิเทอร์ปีนแลคโตน (sesquiterpene lactone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (Ferreira *et al*., ๒๐๑๐) ทั้งนี้สารทั้งสองชนิดมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันในการต่อต้านเชื้อมาลาเรียและมะเร็ง (Ferreira *et al*., ๒๐๑๐) ส่วนเหนือดินของโกฐจุฬาลำพา นอกจากมีอาร์ทิมิซินินแล้ว ยังมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids) หลายชนิด เช่น chrysoplenetin, casticin และ artemetin เป็นต้น (Baraldi *et al*., ๒๐๐๘) งานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นการใช้สารดังกล่าวจากพืชนี้ในการต่อต้านเชื้อมาลาเรีย และต้านมะเร็ง โรคมาลาเรียเป็นโรคติดต่อประจำถิ่นในประเทศเขตร้อน ยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย แม้ว่าโรคนี้จะมีอัตราป่วยและอัตราตายลดลง ปัญหาสำคัญขณะนี้คือ การดื้อยาของเชื้อมาลาเรียตามแนวชายแดน ที่พบมากที่สุดคือ บริเวณชายแดนด้านไทย-พม่า และชายแดนไทย-กัมพูชา (พีรพรรณ, ๒๕๕๗) ส่วนไทย-มาเลเซีย พบเป็นบางจุด (อานนท์, ๒๕๔๘) จึงมีความจำเป็นต้องเร่งพัฒนายาต้านมาลาเรียเพื่อการรักษาและควบคุมการระบาดของโรคนี้ให้ดียิ่งขึ้น ในตำราจีนโบราณใช้สมุนไพรชนิดนี้สำหรับลดไข้และรักษาโรคมาลาเรีย ปัจจุบันประเทศไทยยังมีการนำเข้าโกฐจุฬาลำพา เพื่อใช้เป็นยาสำหรับลดไข้และรักษาโรคมาลาเรียจากประเทศจีน และเวียดนาม

โกฐจุฬาลำพาเป็นพืชวันสั้น (short-day plant) (Jelodar *et al*., ๒๐๑๔) ออกออกเมื่อได้รับแสงไม่เกินค่าช่วงวันวิกฤต (critical day length) คือ ๑๓.๕ ชั่วโมงต่อวัน (Ferreira and Janick, ๑๙๙๖) สามารถออกดอกภายใน ๒ สัปดาห์ หลังชักนำให้ได้รับแสงในสภาพวันสั้น (Qiang, ๒๐๐๖) ผสมข้ามตามธรรมชาติโดยลมและแมลง (Ferreira and Janick, ๑๙๙๖; Nurhayati and

Gusmaini, ๒๐๑๓) ผลผลิตและคุณภาพขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมทางภูมิศาสตร์ ความสูง (altitude) ปริมาณฝน และลักษณะดิน (Qiang, ๒๐๐๖) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณอาร์ทิมิซินินขึ้นอยู่กับพันธุ์ (cultivar) สภาพแวดล้อมทางภูมิศาสตร์ ช่วงเวลาเก็บเกี่ยว อุณหภูมิ และการให้ปุ๋ย (Delabays *et al*., ๒๐๐๑; Jelodar *et al*., ๒๐๑๔) การตรวจหาปริมาณอาร์ทิมิซินินจากความแตกต่างของลักษณะรูปใบ ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินต่างกัน (Atchara, ๑๙๙๖) ใบแห้งของโกฐจุฬาลำพาต่างพันธุ์กัน ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินต่างกันตั้งแต่ร้อยละ ๐.๐๒-๑.๓๘ (Delabays *et al*., ๒๐๐๑) อาร์ทิมิซินินสะสมในขนต่อม (glandular trichrome) มีขนต่อมจำนวนมากในกลีบดอก (petal) และฐานรองดอกย่อย (receptacle floret) จึงทำให้ในดอก มีปริมาณอาร์ทิมิซินินมากกว่าในใบและลำต้น (Nurhayati and Gusmaini, ๒๐๑๓) ปัจจัยวิกฤติที่มีต่อปริมาณอาร์ทิมิซินินคือ ความยาวของช่วงวัน ในสภาพกลางวันยาวนานในเขตอบอุ่น (temperate) ซึ่งพื้นที่มีพิกัดละติจูด (latitude) สูง พืชนี้เจริญเติบโตตามปกติ และออกดอกในสภาพที่วันสั้น ให้ผลผลิตสูง แต่ถ้านำมาปลูกในเขตร้อน (tropic) ซึ่งพื้นที่มีพิกัดละติจูด (latitude) ต่ำ มีสภาพกลางวันสั้น พืชนี้จึงออกดอกเร็วกว่าปกติ ทำให้ผลผลิตลดลง แต่อย่างไรก็ตาม สามารถเพิ่มผลผลิตเมื่อปลูกในเขตร้อนได้ โดยการเลือกสายพันธุ์ออกดอกช้า และศึกษากาลอากาศ (weather) ก่อนปลูก (Jelodar *et al*., ๒๐๑๔) โกฐจุฬาลำพาเป็นพืชผสมข้ามสูง (highly cross pollinated) มีเคโมไทป์ (chemotype) ต่างกัน (Ferreira *et al*., ๒๐๑๐) มีความผันแปรของปริมาณอาร์ทิมิซินินในใบของต้นที่มาจากแหล่งกำเนิดต่างกัน (Delabays *et al*., ๒๐๐๑) ตำแหน่งใบต่างกันบนต้นเดียวกัน และฤดูปลูกต่างกัน (Diemer and Griffee, ๒๐๐๕) ต้นที่มีพันธุกรรมต่างกัน มาจากแหล่งกำเนิดต่างกัน ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินต่างกัน ความเข้มข้นของอาร์ทิมิซินินเป็นลักษณะทางปริมาณ เป็นอิทธิพลของยีนสะสมแบบบวก (additive gene) มีค่าอัตราทางพันธุกรรมแบบแคบ (narrow-sense heritability) สูง ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูง ขึ้นอยู่กับปัจจัยทางด้านพันธุกรรมที่สามารถปรับปรุงพันธุ์ให้มีปริมาณอาร์ทิมิซินินสูงได้ (Delabays *et al*., ๒๐๐๑) โกฐจุฬาลำพาเป็นพืชผสมตัวเองไม่ได้ (self-incompatible) มีความแปรปรวนทางพันธุกรรม ดังนั้นจึงคัดเลือกประชากรตามลักษณะฟีโนไทป์ (phenotype) และจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรม เพื่อให้ได้ลักษณะฟีโนไทป์ที่ให้ผลผลิตและสารอาร์ทิมิซินินสูงอย่างน้อย ๑ ฟีโนไทป์

๓. วิธีดำเนินการ

- **อุปกรณ์**

เมล็ดโกฐจุฬาลำพาจากแปลงเกษตรกรในจังหวัดกาญจนบุรี วัสดุการเกษตร เช่น ถาดเพาะ พีต (peat) ปูนขาว และปุ๋ยคอก เป็นต้น วัสดุวิทยาศาสตร์ ได้แก่ สารเคมีต่างๆ ที่ใช้สกัดและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ใช้สกัดและวิเคราะห์หาปริมาณอาร์ทิมิซินิน ครุภัณฑ์วิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องชั่ง และตู้อบพืช เป็นต้น

- **วิธีการ**

๑. วิเคราะห์ดิน ปรับสภาพดินด้วยปูนขาว ตามผลวิเคราะห์ ให้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่าง ๖-๘ ซึ่งเหมาะสมสำหรับการเติบโตของพืชนี้ (Diemer and Griffee, ๒๐๐๕)

๒. ปลูกประชากรโกฐจุฬาลำพาในแปลงขนาด ๙ × ๑๒ เมตร ๔ แปลงๆ ๑๐๘ ต้น ระยะปลูก ๑ × ๑ เมตร คัดเลือกต้นที่มีลักษณะเหมือนกันหรือใกล้เคียงกันแบ่งลักษณะเป็นฟีโนไทป์

ชยายพันธุ์โดยการตัดกิ่งปักชำ นำไปปลูกแยกแปลง แบบมีระยะห่าง (isolate) เก็บเมล็ดแยกฟีโนไทป์

๓. ประเมินผลผลิตเบื้องต้น (preliminary yield evaluation) วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block: RCB) โกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์ เป็นกรรมวิธี ทำ ๕ ซ้ำ

๔. นำตัวอย่างใบจากต้นโกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์ ๆ ละ ๓ ต้น จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วย ISSR-Touchdown PCR ใช้วิธีการของศุจิรัตน์และคณะ (ศุจิรัตน์และคณะ, ๒๕๕๒)

การปลูกและดูแลรักษา

เตรียมแปลงปลูกขนาด ๓ × ๔ เมตร ระยะปลูกระหว่างต้น ๗๕ เซนติเมตร ระหว่างแถว ๐.๕ เมตร เว้นทางเดินระหว่างแปลง ๑ เมตร ขุดหลุมปลูกขนาด ๒๕ × ๒๕ × ๒๕ เซนติเมตร รองก้นหลุมก่อนปลูก โดยใส่ปุ๋ยคอกอัตรา ๑ กิโลกรัมต่อหลุม เพาะเมล็ดในถาดหลุม ใช้พีตเป็นวัสดุเพาะ เมื่อกล้ามีใบจริง ๕ ใบ ซึ่งมีอายุ ๔๕ วัน ย้ายปลูกลงแปลง ปลูก ๑ ต้นต่อหลุม ให้น้ำแบบฉีดฝอย ปริมาณน้ำที่ให้ สังเกตดินในแปลงเปียกชื้น จึงหยุดให้ กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน ใส่ปุ๋ยคอกครั้งที่ ๒ อัตรา ๕ กิโลกรัมต่อต้น รอบทรงพุ่ม พรวนดิน และให้น้ำ

การเก็บเกี่ยว

ชะลอการให้น้ำระยะเก็บเกี่ยว เก็บเกี่ยวผลผลิต ระยะดอกตูมเต็มที่ โดยตัดส่วนเหนือดินห่างจากโคนต้น ๓๐ เซนติเมตร ใช้กรรไกรตัดกิ่งก้าน และใบสดบนลำต้นหลัก ชั่งน้ำหนักสด นำไปผึ่งแดดให้แห้ง มีความชื้นไม่เกินร้อยละ ๑๒ ชั่งน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ

สุ่มตัวอย่างผลผลิตแห้งกิ่งก้านและใบส่วนที่จำหน่ายได้ ๔ ฟีโนไทป์ๆ ละ ๑๐๐ กรัม นำไปบดเป็นผง วิเคราะห์หาปริมาณอาร์ทิมิซินิน ใช้วิธีโครมาโตกราฟีแบบชั้นบางและเครื่องเดนซิโตมิเตอร์ (thin layer chromatography (TLC) - densitometry) (Koobkokkruad *et al.*, ๒๐๐๗)

การบันทึกข้อมูล

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งส่วนที่จำหน่ายได้ และปริมาณอาร์ทิมิซินิน (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกรรมวิธี โดยวิธี Duncan's Multiple range test (DMRT)

- **เวลาและสถานที่**

เริ่มต้น ปี ๒๕๕๔ สิ้นสุด ปี ๒๕๕๘

แปลงทดลอง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

ห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

๔. ผลการทดลองและวิจารณ์

ปลูกคัดเลือกประชากรโกฐจุฬาลำพา ๔๓๒ ต้น พบว่า คัดเลือกต้นตามความแตกต่างทางฟีโนไทป์ ได้ ๔ ลักษณะได้แก่

ฟีโนไทป์ ๑ มีลักษณะทรงพุ่มบาง (sparse bush) ใบประกอบแบบขนนก (pinnately compound leaf) แกนกลาง (rachis) สั้น ก้านใบ (petiole; leaf stalk) สั้น คิดเป็นร้อยละ ๖ ของจำนวนต้นทั้งหมด

ฟีโนไทป์ ๒ มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบสั้น คิดเป็นร้อยละ ๓๔ ของจำนวนต้นทั้งหมด

ฟีโนไทป์ ๓ มีลักษณะทรงพุ่มแน่น (dense bush) ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบยาว คิดเป็นร้อยละ ๑๒ ของจำนวนต้นทั้งหมด

ฟีโนไทป์ ๔ มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบแบบขนนก แกนกลางยาว ก้านใบสั้น คิดเป็นร้อยละ ๔๘ ของจำนวนต้นทั้งหมด

ประเมินเบื้องต้นโกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์

ผลผลิตสดพบว่า มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างฟีโนไทป์กับปีที่ปลูก ปี ๒๕๕๕ ทั้ง ๔ ฟีโนไทป์ ให้ผลผลิตสดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ค่าเฉลี่ยผลผลิตสดตั้งแต่ ๗,๐๑๘-๘,๖๔๒ กิโลกรัมต่อไร่ และปี ๒๕๕๗ ฟีโนไทป์ ๑ ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตสดสูงสุด ๗,๓๖๓ กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ ฟีโนไทป์ ๒ ซึ่งให้ผลผลิตสดรองลงมา ๖,๒๘๒ กิโลกรัมต่อไร่ แต่แตกต่างกันทางสถิติกับฟีโนไทป์ ๓ และฟีโนไทป์ ๔ ซึ่งให้ผลผลิตสด ๕,๐๔๘ และ ๕,๗๓๖ กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตาราง ๑.๑)

ตาราง ๑.๑ ผลผลิตสด (กก./ไร่) โกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์ ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี ๒๕๕๕ และ ปี ๒๕๕๗

ฟีโนไทป์	ปี ๒๕๕๕ [๑/]	ปี ๒๕๕๗ [๑/]
๑	๗,๐๑๘ a	๗,๓๖๓ a
๒	๘,๖๔๒ a	๖,๒๘๓ ab
๓	๗,๐๖๐ a	๕,๐๔๘ b
๔	๗,๖๙๙ a	๕,๗๓๖ b

CV = ๑๗.๓%

[๑/] ค่าเฉลี่ยผลผลิตสดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ ๕% โดยวิธี DMRT

ปลูกวันที่ ๒ เมษายน ๒๕๕๕ เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ ๙ ตุลาคม ๒๕๕๕

ผลผลิตแห้ง พบว่า ปี ๒๕๕๕ ทั้ง ๔ ฟีโนไทป์ ให้ผลผลิตแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ค่าเฉลี่ยผลผลิตแห้งตั้งแต่ ๓,๕๐๙-๔,๓๒๑ กิโลกรัมต่อไร่ และปี ๒๕๕๗ พบว่า ฟีโนไทป์ ๒ ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตแห้งสูงสุด ๔,๘๑๖ กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันทางสถิติกับฟีโนไทป์ ๓ และ ฟีโนไทป์ ๑ ซึ่งให้ผลผลิตแห้งรองลงมาคือ ๔,๑๑๓ และ ๒,๙๙๙ กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตาราง ๑.๒)

ตาราง ๑.๒ ผลผลิตแห้ง (กก./ไร่) โกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์
ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี ๒๕๕๕ และ ปี ๒๕๕๗

ฟีโนไทป์	ปี ๒๕๕๕ [๑/]	ปี ๒๕๕๗ [๑/]
๑	๓,๕๐๙ a	๒,๙๙๙ c
๒	๔,๓๒๑ a	๔,๘๑๖ a
๓	๓,๕๓๑ a	๔,๑๑๓ b
๔	๓,๘๔๙ a	๒,๗๓๑ c
CV (%)	๒๐.๑	๑๐.๔

[๑/] ค่าเฉลี่ยผลผลิตแห้งที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ ๕% โดยวิธี DMRT
ปลูกวันที่ ๑๙ กุมภาพันธ์ ๒๕๕๗ เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ ๒ ตุลาคม ๒๕๕๗

ในปี ๒๕๕๗ ความสูงต้นระยะเก็บเกี่ยว พบว่า โกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์ ให้ค่าเฉลี่ยความสูงต้นตั้งแต่ ๒๗๒-๒๙๕ เซนติเมตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ให้ค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มตั้งแต่ ๑๒๗-๑๔๙ เซนติเมตร และแตกต่างกันทางสถิติ ฟีโนไทป์ ๒ ให้ความกว้างทรงพุ่มสูงสุด ๑๔๙ เซนติเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับฟีโนไทป์ ๑ ซึ่งให้ความกว้างทรงพุ่มรองลงมาคือ ๑๓๒ เซนติเมตร (ตาราง ๑.๓)

ตาราง ๑.๓ ขนาดต้นของโกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์ ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี ๒๕๕๗

ฟีโนไทป์	ขนาดต้น (ซม.) [๑/]	
	ความสูง	ความกว้างทรงพุ่ม
๑	๒๗๒ a	๑๓๒ ab
๒	๒๗๘ a	๑๔๙ a
๓	๒๙๕ a	๑๒๗ b
๔	๒๘๘ a	๑๒๗ b
CV (%)	๖.๕	๘.๓

[๑/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ ๕% โดยวิธี DMRT

ปริมาณอาร์ทิมิซินิน

ปี ๒๕๕๕ ทั้ง ๔ ฟีโนไทป์ ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินตั้งแต่ร้อยละ ๐.๓๒-๐.๖๖ ของน้ำหนักแห้ง และปี ๒๕๕๗ ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินตั้งแต่ร้อยละ ๐.๓๕-๐.๔๓ ของน้ำหนักแห้ง ค่าเฉลี่ยทั้ง ๒ ปี ให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินตั้งแต่ร้อยละ ๐.๓๔-๐.๕๔ ของน้ำหนักแห้ง ฟีโนไทป์ ๒ ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณอาร์ทิมิซินินสูงสุดร้อยละ ๐.๕๔ ของน้ำหนักแห้ง (ตาราง ๑.๔)

ตาราง ๑.๔ ปริมาณอาร์ทิมิซินิน (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) โกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์ ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี ๒๕๕๕ และ ปี ๒๕๕๗

ฟีโนไทป์	ปี ๒๕๕๕	ปี ๒๕๕๗	ค่าเฉลี่ย ๒ ปี
๑	๐.๓๒	๐.๓๕	๐.๓๔
๒	๐.๖๕	๐.๔๓	๐.๕๔
๓	๐.๖๐	๐.๔๓	๐.๕๒
๔	๐.๖๖	๐.๔๕	๐.๕๓

มีรายงานว่า ปริมาณอาร์ทิมิซินินผันแปรตั้งแต่ร้อยละ ๐.๕-๑.๒ ปริมาณอาร์ทิมิซินินที่ลดลงเหลือน้อยกว่าร้อยละ ๑ ของน้ำหนักแห้ง อาจจะเนื่องมาจากใบที่แห้งตายร่วงลงไปในดินก่อนเก็บเกี่ยว ซึ่งใบที่แห้งตายเป็นแหล่งสะสมอาร์ทิมิซินินถึงครึ่งหนึ่งของปริมาณอาร์ทิมิซินินทั้งหมด (Nurhayati and Gusmaini, ๒๐๑๓) และเป็นพืชที่มีเคโมไทป์ (chemotype) ต่างกัน (Ferreira *et al*., ๒๐๑๐)

- จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วย ISSR-Touchdown PCR

พบว่า มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมตั้งแต่ ๐.๖๗-๐.๗๙ หรือ ๖๗-๗๙% (ภาพ ๑) แบ่งได้เป็น ๒ กลุ่มใหญ่ที่ความใกล้ชิด ๐.๖๗ คือ กลุ่ม A และ B ภายใน ๒ กลุ่มนี้ แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้อีก โดยไม่พบว่าตัวอย่างใดมีความคล้ายคลึงกันในระดับ ๐.๙๐ (หรือ ๙๐%) มีเพียงตัวอย่างหมายเลข ๔ และ ๖ เท่านั้นที่มีความใกล้ชิดกันที่สุดคือ ๐.๗๙ (หรือ ๗๙%) ซึ่งถูกคัดมาจากลักษณะฟีโนไทป์ที่ใกล้เคียงกัน

ตัวอย่างจากฟีโนไทป์เดียวกันที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ได้แก่ ๘ และ ๙, ๔ และ ๖ ส่วนตัวอย่างอื่นพบว่า กระจัดกระจายอยู่ตามกลุ่มต่างๆ ไม่ตรงตามลักษณะฟีโนไทป์

จากผลตรวจจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR นี้ แสดงให้เห็นว่าลักษณะฟีโนไทป์ที่ใช้ในการแยกกลุ่มอาจเป็นลักษณะที่แปรปรวนตามสภาพแวดล้อม และตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบทุกตัวอย่างนั้นมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมาก ดังนั้นในการคัดเลือกต้นที่จะนำไปใช้ขยายพันธุ์ จำเป็นต้องระบุต้นที่ต้องการเท่านั้น และการจัดแยกด้วยฟีโนไทป์จำเป็นต้องเพิ่มเติมลักษณะอื่นอีก เพื่อให้จัดกลุ่มได้ใกล้เคียงกันมากกว่านี้ จากการวิเคราะห์ผลผลิตจะเห็นได้ว่าทั้ง ๔ ฟีโนไทป์ไม่แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากการจัดกลุ่มที่ไม่ถูกต้อง อาจต้องทำการวิเคราะห์

ผลผลิตรายต้น และคัดเลือกตัวอย่างที่ให้ผลผลิตสูงสุด อย่างไรก็ตามหากวิเคราะห์ความสัมพันธ์ที่ระดับ ๐.๗๐ (หรือ ๗๐%) สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างได้ ๔ กลุ่ม ดังนี้ คือ

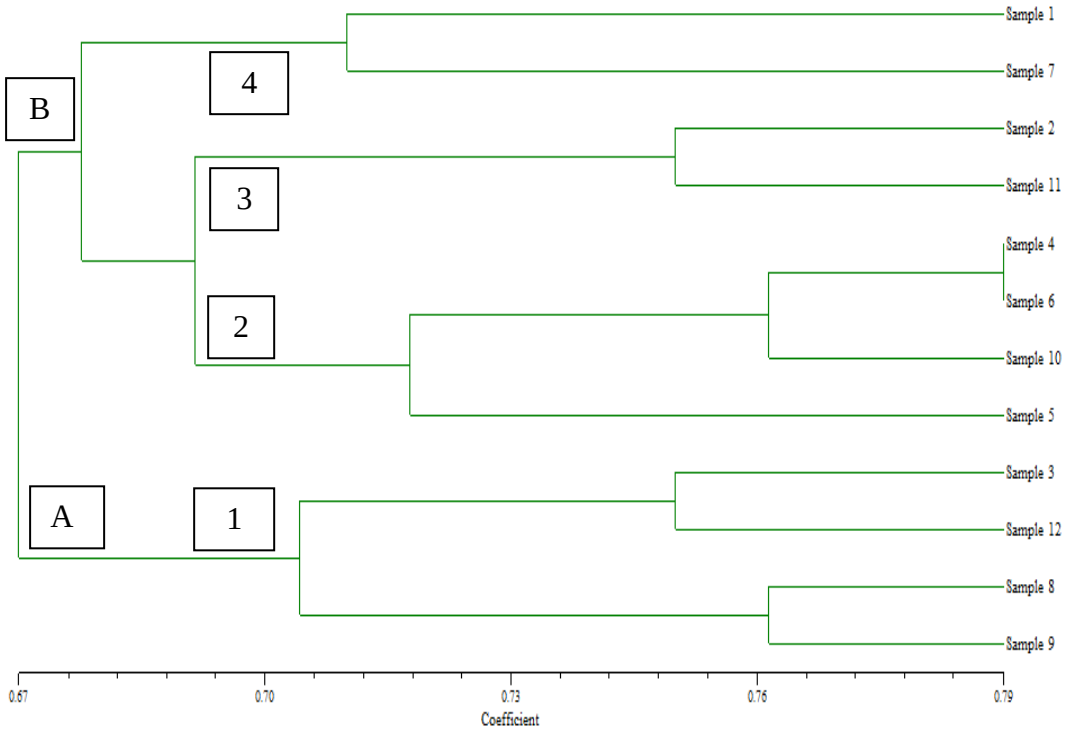
กลุ่ม ๑ ประกอบด้วย ตัวอย่าง ๘, ๙ และ ๓, ๑๒

กลุ่ม ๒ ประกอบด้วย ตัวอย่าง ๕, ๑๐, ๔ และ ๖

กลุ่ม ๓ ประกอบด้วย ตัวอย่าง ๒ และ ๑๑

กลุ่ม ๔ ประกอบด้วย ตัวอย่าง ๑ และ ๗

โดยกลุ่มตัวอย่างที่มีความใกล้ชิดกันสูงระดับมากกว่า ๐.๗๖ (๗๖%) ประกอบด้วย ตัวอย่าง ๘, ๙, ๑๐, ๔ และ ๖ ซึ่งอาจนำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์ผลผลิต



ภาพ ๑ ผลการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของโกฐจุฬาลำพา ๔ ฟีโนไทป์ๆ ละ ๓ ต้น ด้วย ISSR-Touchdown PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ ISSR จำนวน ๒๙ ไพร์เมอร์ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงตามวิธี Jaccard similarity และจัดกลุ่มความสัมพันธ์โดยวิธี UPGMA ฟีโนไทป์ ๑: Sample ๑-๓; ฟีโนไทป์ ๒: Sample ๔-๖; ฟีโนไทป์ ๓: Sample ๗-๙;

ฟีโนไทป์ ๔: Sample ๑๐-๑๒

๕. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

คัดเลือกโกฐจุฬาลำพาได้ ๔ ฟีโนไทป์ได้แก่ ฟีโนไทป์ ๑ มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบมีข้อถี่ ก้านใบสั้น ฟีโนไทป์ ๒ มีลักษณะทรงพุ่มบาง ใบประกอบมีข้อห่าง ก้านใบสั้น ฟีโนไทป์ ๓ มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบประกอบมีข้อห่าง ก้านใบยาว และฟีโนไทป์ ๔ มีลักษณะทรงพุ่มแน่น ใบ

ประกอบมีข้อห่าง ก้านใบสั้น ฟีโนไทป์ ๑ ให้ผลผลิตสดสูงสุด ๗,๓๖๓ กิโลกรัมต่อไร่ ฟีโนไทป์ ๒ ให้ผลผลิตแห้งสูงสุด ๔,๘๑๖ กิโลกรัมต่อไร่ และให้ปริมาณอาร์ทิมิซินินสูงสุดร้อยละ ๐.๕๔ ของน้ำหนักแห้ง ทั้ง ๔ ฟีโนไทป์ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมตั้งแต่ ๖๗-๗๙%

๖. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลความแตกต่างทางพันธุกรรมของโกฐจุฬาลำพา ใช้คัดแยกรายต้นด้วยลักษณะฟีโนไทป์อื่นเพิ่มเติม

๗. คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ช่วยรับวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรม และรองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย ดีเอกนามกูล คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ช่วยรับวิเคราะห์สารสำคัญ

๘. เอกสารอ้างอิง

พีรพรรณ ตันอารีย์. ๒๕๕๗. มาลาเรีย : โรคที่คนไทยควรทำความรู้จักให้ดี. ผลงานวิจัยสู่สังคม : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. แหล่งที่มา: http://www.sc.mahidol.ac.th [๑๘ กุมภาพันธ์ ๒๕๕๙].

ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล วีรเดช โขนสันเทียะ รัชนี ขันธหัตถ์ เพียงเพ็ญ ศรวัต ประพิศ วองเทียม ศุภชัย สารกาญจน์ และ อัจฉรา ลิ่มศิลา. ฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมันสำปะหลังพันธุ์ไทย พันธุ์ลูกผสม และพันธุ์ต่างประเทศ. ผลงานวิจัยดีเด่นและผลงานวิจัยที่เสนอเข้าร่วมพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี ๒๕๕๒. กรมวิชาการเกษตร. หน้า ๑๖-๓๐.

อานนต์ บุณยรัตเวช. ๒๕๔๘. การกลับมาของไข้มาลาเรีย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.). แหล่งที่มา: http:/www.manager.co.th/Science/ViewNews [๑๘ กุมภาพันธ์ ๒๕๕๙].

Atchara Tempeam. ๑๙๙๖. Determination of artemisin contents in *Artemisia annua* L.
cultivated in Thailand. Thesis for Masterof Science (Pharmacy). Mahidol University, Bangkok. Available: http:/www.thaithesis.org/detail.php [February ๑๘, ๒๐๑๖].

Baraldi, R., B. Isacchi, S. Predieri, G. Marconi, F. F. Vincieri and A. R. Bilia. ๒๐๐๘. Distribution of artemisinin and bioactive flavonoids from *Artemisia annua* L. during plant growth. *Biochemical Systematics and Ecology* ๓๖ (๕-๖): ๓๔๐-๓๔๘.

Delabays, N., X. Simonnet and M. Gaudin. ๒๐๐๑. The Genetics of Artemisinin Content
in *Artemisia annua* L. and the breeding of high yielding cultivars. *Current Medicinal Chemistry* ๘: ๑๗๙๕-๑๘๐๑.

Diemer, P. and P. Griffee. ๒๐๐๕. *Artemisia annua*; the plant, production and processing and medicinal applications. *WHO and FAO*. ๔๖ p.

Ferreira, J. F. S. and J. Janick, ๑๙๙๖. Distribution of Artimisinin in *Artemisia annua* L.

In J. Janick (ed.), Progress in new crops. ASHS Press, Arlington. p. ๕๗๙-๕๘๔.

Ferreira, J. F. S., D. L. Luthria, T. Sasaki and A. Heyerick. ๒๐๑๐. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. *Molecules* ๑๕: ๓๑๓๕-๓๑๗๐.

Jelodar, N. B., A. Bhatt, K. Mohamed and C. L. Keng. ๒๐๑๔. New cultivation approaches of *Artemisia annua* L. for a sustainable production of the antimalarial drug artemisinin. *Journal of Medicinal Plant Research* ๘ (๑๐): ๔๔๑-๔๔๗.

Koobkokkruad, T., A. Chochail, C. Kerdmanee and W. De-eknamkul. ๒๐๐๗. TLC-densitometric analysis of Artemisinin for the rapid screening of high-producing plantlets of *Artemisia annua* L. *Phytochemical Analysis* ๑๘: ๒๒๙–๒๓๔.

Nurhayati, H. and Gusmaini, ๒๐๑๓. Growth, yield and quality of four accession of *Artemisia annua* L. in two different agroclimates. Proceedings of AFHW. International Symposium on Agri-Foods Health and Wealth. August ๕-๘, ๒๐๑๓. Bangkok. p. ๑๘๑-๑๘๙.

Qiang, G. ๒๐๐๖. WHO monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua* L. ๕๘ p.

.....