ระดับโครงการวิจัย

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับทุนสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

หน่วยงาน กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

รายงานโครงการวิจัย

วิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

Research and Development of Cannabis (*Cannabis sativa* L.) and Kratom (*Mitragyna Speciosa* K.) for Medical Benefits

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

สุรกิตติ ศรีกุล

Surakitti Srikul

ปี 2565

บทสรุปผู้บริหาร

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

การสร้างความยั่งยืนในการผลิตพืชสมุนไพรของประเทศไทย ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ คือ การมีวัตถุดิบที่มีคุณภาพ ปลอดภัย และปริมาณสารสำคัญที่สม่ำเสมอ การวิจัยและพัฒนาการผลิตพืชสมุนไพร จึงให้ความสำคัญกระบวนการคัดเลือกพันธุ์ที่ดี การดูและรักษา ตลอดจนการเก็บเกี่ยวในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสม จะส่งผลให้ได้วัตถุดิบที่มีคุณภาพและมีปริมาณมากพอที่จะสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ซึ่งจะสร้างรายได้ให้แก่ท้องถิ่นไปจนถึงระดับประเทศ ซึ่งพืชสมุนไพรกัญชาและกระท่อม เป็นพืชที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นพืชสมุนไพรเศรษฐกิจได้ในอนาคต ปัจจุบันเทคโนโลยีในการผลิตกัญชาและกระท่อม ยังจำเป็นต้องวิจัยและพัฒนาในด้านการผลิตที่จะทำให้ได้วัตถุดิบเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ที่มีคุณภาพ มีความสม่ำเสมอ และปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยในส่วนของแผนงานวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ดำเนินการผลิตชุดเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสมเพื่อใช้ในทางการแพทย์ ตั้งแต่การคัดเลือกและจำแนกสายพันธุ์พืชที่มีสารสำคัญทางการแพทย์สูง เทคโนโลยีการผลิตตั้งแต่สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม การปลูก การดูแลรักษา การเก็บเกี่ยวผลผลิต เพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญสูง ตลอดจนการขยายพันธุ์กัญชาและกระท่อม เพื่อให้ได้ต้นกล้าคุณภาพ และรองรับความต้องการของเกษตรกรที่ได้รับอนุญาตผลิตในอนาคต ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ คือ 1. เกษตรกร กลุ่มเกษตรกร ชุมชน มีทางเลือกและรายได้ในการผลิตกัญชาและกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ 2. ผู้ป่วยสามารถเข้าถึงยา (ที่มีส่วนประกอบจากกัญชาและกระท่อม) ได้มากขึ้น เนื่องจากมีวัตถุดิบที่เพียงพอและราคาที่เหมาะสมต่อความต้องการของผู้ป่วย ส่งผลให้เกิดความมั่นคงทางยาของประเทศ

2. วัตถุประสงค์

1) เพื่อศึกษากัญชาและกระท่อมพันธุ์ที่มีสารสำคัญทางการแพทย์สูง

2) เพื่อศึกษาปัจจัยการเจริญเติบโตและสร้างสร้างสำคัญทางการแพทย์ของกัญชาและกระท่อม

3) เพื่อศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกัญชาและกระท่อมให้ได้สารสำคัญทางการแพทย์สูง

4) เพื่อศึกษารูปแบบวิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กัญชาที่เหมาะสม

5) เพื่อศึกษาวิธีการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษาในการรักษาคุณภาพกัญชาและกระท่อม รวมทั้งการพัฒนาบรรจุภัณฑ์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

3. ระเบียบวิธีวิจัย

การดำเนินงานในปี 2565 ประกอบไปด้วย 2 โครงการย่อย ได้แก่ โครงการย่อยที่ 1 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบด้วย 7 กิจกรรม 15 การทดลอง โดยดำเนินการจำแนกสายพันธุ์กัญชา เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการพัฒนาสายพันธุ์ ตรวจสอบแหล่งที่มาของสายพันธุ์กัญชา และการศึกษาลักษณะการแสดงออกของยีนที่ผลต่อปริมาณสารสำคัญ ซึ่งจะเป็นข้อมูลในการพัฒนาสายพันธุ์กัญชาให้ได้สายพันธุ์ที่มีปริมาณสารสำคัญสูง ในส่วนของเทคโนโลยีการผลิต ได้แก่ การปลูกกัญชาในโรงเรือน การให้น้ำในปริมาณที่เหมาะสม การอารักขา และการขยายพันธุ์กัญชา เป็นการวิจัยและพัฒนาเพื่อให้ได้รูปแบบการผลิตกัญชาที่เหมาะสมในการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และสุดท้ายในส่วนของเทคโนโลยีการเก็บเกี่ยว เป็นการหาวิธีการที่

กรมวิชาการเกษตร

เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวและกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อคงสภาพวัตถุดิบกัญชาให้มีคุณภาพและความปลอดภัย เพื่อนำไปสู่กระบวนการแปรรูปต่อไป

4. งบประมาณที่ใช้ (ปี 2565) งบประมาณในการดำเนินงานในปี 2565 จำนวน 7,670,925 บาท

5. ผลการวิจัย

ผลการวิจัยตามคำรับรอง ดังนี้

1. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 10 กระบวนการใหม่ ดังนี้

1.1 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD ในกัญชา ซึ่งจะช่วยให้ทราบข้อมูลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD และลำดับเบสของยีนแต่ละตัวโดยเลือกตำแหน่งอนุรักษ์ สามารถคัดเลือกไพร์เมอร์และโพรบที่มีความจำเพาะกับดีเอ็นที่ของกัญชา มีความถูกต้องแม่นยำ ในการตรวจตรวจสอบยีนเชิงปริมาณในกัญชา

1.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการสร้างแคลลัสของกัญชา โดยได้ Protocol การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นเนื้อเยื่อและแคลลัสกัญชา และได้ข้อมูล ชุดยีน THCA synthase ของกัญชา 5 สายพันธุ์ เพื่อใช้ ในการสร้างชุดยีน CRISPR/CAS เพื่อกระตุ้นการกลายพันธุ์แบบจำเพาะเจาะจง

1.3 สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา คือสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 0.5 mg/l หลังจากนำไปทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของสูตรอาหารที่ได้ พบว่า สูตรอาหารดังกล่าวให้จำนวนการเกิดยอดใหม่เฉลี่ยน 4 ยอดต่อข้อ และยอดที่ได้มีความสมบูรณ์มากกว่านำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ

1.4 วิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในกัญชา จากการทดสอบวิธีการลดความชื้นใบกัญชาให้เหลือน้อยกว่า 12% ตามกรรมวิธี ได้แก่ ผึ่งในที่ร่ม ใช้แสงแดด และอบในตู้อบลมร้อน (40 50 60 70 และ 90 °C) พบว่า การอบใบกัญชาที่ 90 และ 70°C นาน 2 ชั่วโมง จะทำให้ความชื้นเริ่มต้น 67.37% ลดเหลือ 6.55 และ 7.91% ตามลำดับ ในขณะที่การอบ 60 °C นาน 4 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 7.92% การอบ 50 °C นาน 6 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 9.63% การอบ 40 °C นาน 12 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 10.15% การลดความชื้นด้วยการผึ่งแดด นาน 52 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 9.63% และการนำใบกัญชาผึ่งในที่ร่ม นาน 120 ชั่วโมง ทำให้ความชื้นเหลือ 11.36%

1.5 ข้อมูลการกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ พบว่า มีการกระจายพันธุ์อยู่ทุกจังหวัดภาคใต้ ดำเนินการสำรวจ เก็บข้อมูล และเก็บตัวอย่างพืชกระท่อม จำนวน 76 สายต้น นำมาปลูกรวบรวมพันธุ์ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 7 จ.สุราษฎร์ธานี

1.6 การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกระท่อมด้วยไพรเมอร์มาตรฐานที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากลายทางพันธุกรรม และเครื่องหมายดีเอ็นเอ และเพื่อเป็นฐานข้อมูลพันธุ์กระท่อมต่อไป

1.7 ข้อมูลการจำแนกพันธุ์กระท่อมจากสัณฐานวิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม

1.8 ข้อมูลสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของพืชกระท่อม จากการศึกษา พบว่า ดินมีสมบัติทางกายภาพอยู่ในระดับปานกลางต่อการเจริญเติบโต

กรมวิชาการเกษตร

ของพืช และการเจริญเติบโตของต้นกระท่อม ขึ้นอยู่กับความอุมดมสมบูรณ์ของดิน ดินที่มีความสมบูรณ์ของธาตุอาหารในดินมากกว่า มีการเจริญเติบโตดีกว่า

1.9 ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างธาตุอาหารและปริมาณสารสำคัญในใบกระท่อม พบว่า ใบกระท่อมสะสมธาตุไนโตรเจนสูงที่สุด รองลงมาคือธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และกำมะถัน สำหรับธาตุอาหารเสริม พบว่า มีการสะสมธาตุแมงกานีสมากที่สุด โดยพบความเข้มข้นสูงสุดจากกลุ่มตัวอย่างปริมาณ 5,051 mg kg^{-1} รองลงมาคือธาตุเหล็ก สังกะสีและทองแดง ตามลำดับ และพบว่า ธาตุแมกนีเซียม มีความสัมพันธ์ทางลบกับปริมาณสาร Mitragynine

1.10 ข้อมูลการสำรวจโรคและแมลงในพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออก และฝั่งตะวันตกของต้นกระท่อมระยะเจริญเติบโตต่างๆ ในปี 2565 พบศัตรูสำคัญได้แก่ โรคที่เกิดจากเชื้อรา 3 ชนิด และแมลงศัตรู 11 ชนิด และทราบความสำคัญทางเศรษฐกิจของโรคและแมลงศัตรูสำคัญแต่ละชนิด ลักษณะการเข้าทำลายและความเสียหายที่เกิดขึ้นกับต้นกระท่อม พร้อมได้แนวทางการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ

2. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม จำนวน 4 กระบวนการใหม่ ดังนี้

2.1 เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบไม่ควบคุมอุณหภูมิ เหมาะสำหรับกัญชาสายพันธุ์ไทย มีวิธีดูแลรักษาช่วงการเจริญเติบโตทางลำต้น หลังย้ายปลูกภายในโรงเรือนระบบไม่ควบคุมอุณหภูมิ ดังนี้ โดยใช้กล้ากัญชาอายุ 21 วัน ปลูกใน ภาชนะ air pot ขนาด 37 ลิตร ใช้วัสดุปลูก ได้แก่ พีทมอส เวอร์มิคูไลท์ และเพอร์ไลท์ ในอัตรา 70:15:15 ให้น้ำด้วยวิธีน้ำหยดโดยให้ปริมาณ 1.8 ลิตรต่อวัน แบ่งออกเป็น 2 ครั้ง เช้า –บ่าย 4. ให้ปุ๋ยสูตร 21-0-0 ปริมาณ 107.8 กรัมต่อต้น ปุ๋ยสูตร 18-46-0 ปริมาณ 16.3 กรัมต่อต้น และปุ๋ยสูตร 0-0-60 ปริมาณ 12.3 กรัมต่อต้น โดยปุ๋ยแต่ละชนิดแบ่งใส่ 7 ครั้ง และให้แสงเทียมเพิ่มวันละ 5 ชั่วโมง เป็นเวลา 90 วัน หลังจากที่ต้นเจริญเติบโตเต็มที่ (ประมาณ 60 วัน) จึงหยุดใช้แสงเทียม กัญชาจะเข้าสู่ระยะออกดอก ลดการให้น้ำเหลือวันละ 1.5 ลิตร แบ่ง 2 ครั้ง เช้า บ่าย ใส่ปุ๋ยสูตร 21-0-0 ปริมาณ 12 กรัมต่อต้น ปุ๋ยสูตร 18-46-0 ปริมาณ 6 กรัมต่อต้น และปุ๋ยสูตร 0-0-60 ปริมาณ 12 กรัมต่อต้น โดยปุ๋ยแต่ละชนิดแบ่งใส่ 4 ครั้ง

2.2 เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบควบคุมอุณหภูมิ เหมาะสำหรับกัญชาสายพันธุ์จากต่างประเทศ มีวิธีดูแลรักษาเช่นเดียวกับ ข้อ 2.1

2.3 ความต้องการน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของกัญชาเบื้องต้น ได้คำแนะนำการให้น้ำของกัญชาพันธุ์ฝอยทองเริ่มตั้งแต่ต้นกล้ากัญชาพันธุ์ฝอยทองอายุ 1 เดือนแล้ว ให้น้ำ ดังนี้ สัปดาห์ที่ 5 เท่ากับ 0.32 ลิตรต่อวัน (เริ่มปลูกในกระถาง) สัปดาห์ที่ 6-9 เท่ากับ 0.63 ลิตรต่อวัน สัปดาห์ที่ 10-13 เท่ากับ 1.23 ลิตรต่อวัน สัปดาห์ที่ 14-17 เท่ากับ 2.01 ลิตรต่อวัน สัปดาห์ที่ 18-21 เท่ากับ 2.00 ลิตรต่อวัน และสัปดาห์ที่ 22 เท่ากับ 1.97 ลิตรต่อวัน

2.4 การผลิตต้นกล้าคุณภาพที่ได้จากการตัดชำในเบื้องต้น มีวิธีการดังนี้ คือ ควรเลือกกิ่งที่สมบูรณ์แข็งแรงไม่มีการเข้าทำลายของแมลง โดยกิ่งชำมีการใช้กิ่งชำที่มีจำนวนตาใบ 3 ตาใบ ตัดชำภายในระบบปิด โดยกิ่งชำที่นำมาชำจะทำการตัดใบหรือไม่ตัดใบมีอัตราการรอดที่ใกล้เคียงกัน แต่ในส่วนของการเจริญเติบโตกิ่งชำที่ไม่มีการตัดใบมีอัตราการเจริญเติบโตที่มากกว่ากิ่งชำที่ตัดใบ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะนำมาใช้เป็นรูปแบบในการพัฒนาการปักชำต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากงานวิจัย

จากผลดำเนินงานวิจัยในปี 2565 เป็นเพียงข้อมูลงานวิจัยเบื้องต้น ซึ่งจำเป็นต้องมีการเก็บข้อมูลและศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในปีถัดไป เพื่อให้ได้ข้อมูลและองค์ความรู้ที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม แผนการดำเนินงานโครงการวิจัยสิ้นสุดในปี 2567 ซึ่งจะทำให้ได้ข้อมูลวิชาการด้านพันธุ์ การปลูก การดูแลรักษา การเก็บเกี่ยว และการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสุกลกัญชาและพืชกระท่อมได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม ให้กับเกษตรกรกลุ่มเกษตรกรและผู้สนใจได้ศึกษาและนำไปปฏิบัติ เพื่อให้ได้ผลผลิตและวัตถุดิบพืชสุกลกัญชาและพืชกระท่อมที่มีคุณภาพและปลอดภัย สำหรับใช้ในอุตสาหกรรมยาและใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป

7. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

7.1 ประโยชน์ที่เกิดต่อผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องโดยตรง โดยการอบรมถ่ายทอดความรู้ ให้แก่ นักวิชาการ กลุ่มเกษตรกร และผู้ประกอบการ

7.2 ประโยชน์ทางวิชาการ การนำผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ในระดับชาติและนานาชาติ ซึ่งเป็นประโยชน์ด้านวิชาการ การเรียนรู้ การเรียนการสอนในวงนักวิชาการและผู้สนใจด้านวิชาการ รวมถึงการนำผลงานวิจัยไปวิจัยต่อยอดสื่อสาธารณะ การเผยแพร่ความรู้จากผลงานวิจัยที่ได้ต่อสาธารณะ

7.3 หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ ได้ต่อยอดการพัฒนาทดสอบงานวิจัยร่วมกับมหาวิทยาลัย เพื่อให้ได้เทคโนโลยีที่ถูกต้องและเหมาะสม เกิดประโยชน์ในเชิงวิชาการและการใช้ประโยชน์ในภาคการศึกษาและการนำไปปฏิบัติของเกษตรกรต่อไป

8. การเผยแพร่ผลงานวิจัย

ดำเนินการเผยแพร่ผลงานวิจัยบางส่วนสู่เกษตรกร/กลุ่มเกษตรกรผู้วิจัยร่วม หรือเกษตรกรที่ให้พื้นที่ในนักวิจัยได้ให้คำแนะนำเบื้องต้นในการปลูกและการดูแลรักษาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเบื้องต้น ดังนี้

พืชสกุลกัญชา มีการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ โดยการถ่ายทอดสู่นักวิชาการของกรมวิชาการเกษตรที่ดำเนินงานเกี่ยวกับพืชสกุลกัญชา เกษตรกร และผู้ประกอบการเกี่ยวกับพืชสกุลกัญชา ผ่านการจัดฝึกอบรมถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้จากผลงานวิจัย จำนวน 80 ราย รวมทั้งได้แลกเปลี่ยนองค์ความรู้กับเกษตรกรผู้ปลูกพืชสกุลกัญชาและผู้ประกอบการ รวมทั้งผู้พัฒนาสายพันธุ์กัญชาสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ

พืชกระท่อม มีการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ โดยการถ่ายทอดสู่เกษตรกรผู้สนใจ ผ่านการเสวนาและจัดนิทรรศการการดำเนินงานเกี่ยวกับพืชกระท่อมของกรมวิชาการเกษตร ในงานโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตและขยายกระท่อมพันธุ์ดี ในวันที่ 8 เมษายน 2565 ณ ศูนย์ขยายพันธุ์พืชที่ 4 อำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช และงานพิธีวางศิลาฤกษ์ อนุสรณ์สถานพืชกระท่อม ในวันที่ 24 สิงหาคม 2565 เวลา ณ องค์การบริหารส่วนตำบลน้ำพุ อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

พันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อม ยังจำเป็นต้องวิจัยและพัฒนาในด้านการผลิตที่จะทำให้ได้วัตถุดิบสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ที่มีคุณภาพ มีความสม่ำเสมอ และปลอดภัยต่อผู้บริโภค การดำเนินงานโครงการวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบไปด้วย 2 โครงการย่อย ได้แก่ โครงการย่อยที่ 1 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ดำเนินการจำแนกสายพันธุ์กัญชา ศึกษาลักษณะการแสดงออกของยีนที่ผลต่อปริมาณสารสำคัญ และพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต ได้แก่ การปลูกกัญชาในโรงเรือน การให้น้ำในปริมาณที่เหมาะสม การอารักขา และการขยายพันธุ์กัญชา และโครงการวิจัยย่อยที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ดำเนินการรวบรวม ทดสอบ และคัดเลือกสายต้น เพื่อให้ได้สายต้นที่มีสารสำคัญสูง ควบคู่กับการการจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการจำแนกสายต้น และศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระท่อมที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสำคัญ รวมทั้งการศึกษาการเก็บเกี่ยวและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวกระท่อมที่เหมาะสม มีผลการวิจัย ดังนี้

พืชสกุลกัญชา มีผลสัมฤทธิ์จากการดำเนินงานในปี 2565 คือ 1. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 4 กระบวนการใหม่ ได้แก่ 1.1 ได้ข้อมูลการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD ในกัญชา 1.2 ได้ Protocol การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นเนื้อเยื่อและแคลลัสกัญชา และได้ข้อมูล ชุดยีน THCA synthase ของกัญชา 5 สายพันธุ์ เพื่อใช้ ในการสร้างชุดยีน CRISPR/CAS เพื่อกระตุ้นการกลายพันธุ์แบบจำเพาะเจาะจง 1.3 ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา คือสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 0.5 mg/l 1.4 วิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในกัญชาให้เหลือน้อยกว่า 12% 2. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม จำนวน 4 กระบวนการใหม่ ได้แก่ 2.1 เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบไม่ควบคุมอุณหภูมิ 2.2 เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบควบคุมอุณหภูมิ 2.3 ความต้องการน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของกัญชาเบื้องต้น 2.4 การผลิตต้นกล้าคุณภาพที่ได้จากการตัดชำในเบื้องต้น เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการขยายพันธุ์กัญชาพันธุ์ดีเชิงการค้าต่อไป

พืชกระท่อม มีผลสัมฤทธิ์จากการดำเนินงานในปี 2565 คือ 1. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 6 กระบวนการใหม่ ได้แก่ 1.1 ข้อมูลการกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ พบว่ามีการกระจายพันธุ์อยู่ทุกจังหวัดภาคใต้ ดำเนินการสำรวจ เก็บข้อมูล และเก็บตัวอย่างพืชกระท่อม จำนวน 74 สายต้น นำมาปลูกรวบรวมพันธุ์ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 7 จ.สุราษฎร์ธานี 1.2 การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกระท่อมด้วยไพรเมอร์มาตรฐานที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากลายทางพันธุกรรม และเครื่องหมายดีเอ็นเอ และเพื่อเป็นฐานข้อมูลพันธุ์กระท่อม 1.3 ข้อมูลการจำแนกพันธุ์กระท่อมจากสัณฐานวิทยาและลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม 1.4 ข้อมูลสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของพืชกระท่อม จากการศึกษา พบว่า ดินมีสมบัติทางกายภาพอยู่ในระดับปานกลางต่อการเจริญเติบโตของพืช และการเจริญเติบโตของต้นกระท่อม ขึ้นอยู่กับความอุมดมสมบูรณ์ของดิน ดินที่มีความสมบูรณ์ของธาตุอาหารในดินมากกว่า มีการเจริญเติบโตดีกว่า 1.5 ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่าง

กรมวิชาการเกษตร

ธาตุอาหารและปริมาณสารสำคัญในใบกระท่อม พบว่า ใบกระท่อมสะสมธาตุไนโตรเจนสูงที่สุด รองลงมาคือธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และกำมะถัน สำหรับธาตุอาหารเสริม พบว่า มีการสะสมธาตุแมงกานีสมากที่สุด โดยพบความเข้มข้นสูงสุดจากกลุ่มตัวอย่าง ปริมาณ 5,051 mg kg^{-1} รองลงมาคือธาตุเหล็ก สังกะสีและทองแดง ตามลำดับ และพบว่า ธาตุแมกนีเซียมมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับปริมาณสาร Mitragynine และ 1.6 ข้อมูลการสำรวจโรคและแมลงของกระท่อมระยะเจริญเติบโตต่างๆ ในปี 2565 พบศัตรูสำคัญได้แก่ โรคที่เกิดจากเชื้อรา 3 ชนิด และแมลงศัตรู 11 ชนิด และทราบความสำคัญทางเศรษฐกิจของโรคและแมลงศัตรูสำคัญแต่ละชนิด ลักษณะการเข้าทำลายและความเสียหายที่เกิดขึ้นกับต้นกระท่อม พร้อมได้แนวทางการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ

จากผลดำเนินงานวิจัยในปี 2565 เป็นเพียงข้อมูลงานวิจัยเบื้องต้น ซึ่งจำเป็นต้องมีการเก็บข้อมูลและศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในปีถัดไป เพื่อให้ได้ข้อมูลและองค์ความรู้ที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Technology of production in Cannabis (*Cannabis sativa* L.) and Kratom (*Mitragyna speciosa*) is necessary to research and development in production for medical grade which is high quality, consistency and safety product to consumer. The project of Research and Development of Cannabis (*Cannabis sativa* L.) and Kratom (*Mitragyna Speciosa* K.) for Medical Benefits are comprise 2 sub-projects: 1. Research and Development on Technology Production of Cannabis (*Cannabis sativa* L.) for Medical Benefits. There has been conducted to classify Cannabis species, study of a quantity chemotype on gene expression and technology of production (Growing plant in Greenhouse, A quantity of watering on grow cannabis, Plant protection and Propagation). 2. Research and Development on Variety and Production Technology of Kratom. There has been conducted to collecting selecting and testing on Kratom to high chemotype variety, classify Kratom species base on morphological and biotechnology, increasing chemotype with input of production and post-harvest of Kratom.

Result (input) of Research and Development on Technology Production of Cannabis (*Cannabis sativa* L.) for Medical Benefits 's project in 2022: 1. A new Technology/ processing Lv. laboratory environment, there is 4 processing: 1.1 A primary data of THC and CBD in gene expression of cannabis 1.2 A primary protocol of in vitro callus induction and group of THCA synthase on cannabis 's gene for created CRISPR/CAS gene to specific mutation 1.3 A media of In vitro shoot Induction was MS media with BA 0.5 mg/l. 1.4 A method of reduce humidity and extraction chemotype less than 12% 2. A new Technology/ processing Lv. relevant environment, there is 4 processing: 2.1 Technology of growing cannabis under greenhouse condition 2.2 Technology of growing cannabis under temperature controller 2.3 Water requirement for increasing quality and quantity of cannabis production 2.4 A primary data of quality cannabis seedling production.

Result (input) of for Medical Benefits Research and Development on Variety and Production Technology of Kratom's project in 2022: 1. A new Technology/ processing Lv. laboratory environment, there is 6 processing: 1.1 A data of distribution of Kratom in south area, which a total of 74 trees are collected and grow in Office of agricultural research and development region 7 's plantation. 1.2 A primary data of DNA barcoding of Kratom 1.3 A data of classification base on morphology 1.4 A data of physical and chemical of soil on Kratom, increasing of soil fertilizer could lead to faster growth of kratom than general soil. 1.5 A relation of plant nutrition and chemotype, there is Nitrogen is highest plant nutrition on leaf and

กรมวิทยาศาสตร์

Potassium Calcium Magnesium Phosphorus and Sulfur as follow. Micronutrient is found that Manganese is highest 5,051 mg kg^{-1} and Iron Zinc and Copper as follow. 1.6 A survey of disease and pest of kratom is found the 3 diseases from fungi and 11 pests, that lead to method to reduce damage from disease and pest.

This result of research project in 2022 has been primary result, which is necessary to put more collecting data and research into complement result.

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

รายงานผลสัมฤทธิ์โครงการโครงการวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ฉบับนี้ สำเร็จได้ด้วยความร่วมมือจากบุคคลหลายท่าน ขอขอบคุณนักวิจัยทุกท่านหัวหน้าโครงการย่อย หัวหน้ากิจกรรม หัวหน้าการทดลอง และผู้ร่วมงานทุกท่าน ซึ่งไม่อาจกล่าวนามได้หมด ที่ให้ความร่วมมือจัดทำรายงานฉบับนี้

ขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาและติดตามงานวิจัยของกรมวิชาการเกษตรทุกคณะ และคณะทำงานแผนงานวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชท้องถิ่นของประเทศไทย ที่ให้ข้อคิดเห็นและคำแนะนำตลอดจนติดตามการดำเนินงานวิจัยสำเร็จตามวัตถุประสงค์

สุดท้ายขอขอบคณะผู้บริหาร บุคลากรของกองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยประสานงานในด้านต่างๆ ให้โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	i
บทคัดย่อ	v
Abstract	vii
กิตติกรรมประกาศ	ix
สารบัญ	x
สารบัญภาพ	xi
สารบัญตาราง	xiii
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	5
บทที่ 3 ผลการศึกษา	31
บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล	76
เอกสารอ้างอิง	81
ภาคผนวก	82

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
ภาพที่ 1	แสดงตำแหน่งของยีน THC (delta-9-tetrahydrocannabinol) ขนาด 1200 คู่เบส ที่มีเฉพาะในกัญชาและยีนอ้างอิงกัญชา (rbcL gene) ขนาด 700 คู่เบส ที่มีทั้งในกัญชาและกัญชง	33
ภาพที่ 2	แสดงลำดับเบสและตำแหน่งไพรเมอร์ของ ยีน THC (delta9tetrahydrocannabinol) ขนาด 1200 คู่เบส ที่มีเฉพาะในกัญชาและยีนอ้างอิงกัญชา (rbcL gene) ขนาด 700 คู่เบส ที่มีทั้งในกัญชาและกัญชง	34
ภาพที่ 3	ผลการตรวจสอบยีน rbcL ขนาด 700 คู่เบส (A) และการตรวจสอบยีน THC (B) ในตัวอย่างกัญชาและกัญชา	36
ภาพที่ 4	ผลการตรวจสอบยีน rbcL ขนาด 700 คู่เบส และยีน THC ในตัวอย่างยอด ต้น และใบกัญชาและกัญชง	37
ภาพที่ 5	อุณหภูมิและความชื้นภายในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิช่วงการปลูกทดสอบ	38
ภาพที่ 6	อุณหภูมิและความชื้นภายในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิช่วงการปลูกทดสอบ	41
ภาพที่ 7	ขั้นตอนการตัดชำกล้ากัญชา	43
ภาพที่ 8	ลักษณะชิ้นส่วนข้อกัญชาพันธุ์ดีที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้ออายุ 2 สัปดาห์ พันธุ์ที่ 1 (A) พันธุ์ที่ 2 (B) พันธุ์ที่ 3 (C) เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 55 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25+2 องศาเซลเซียส	44
ภาพที่ 9	ลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้นของกัญชาพันธุ์ดี พันธุ์ที่ 2 อายุ 8 สัปดาห์ หลังจากนำไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในสภาพแสง 55 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25+2 องศาเซลเซียส	44
ภาพที่ 10	ลักษณะต้น ใบ หูใบ ของกระท่อม	55
ภาพที่ 11	ลักษณะใบและสีก้านใบกระท่อมที่แตกต่างกัน	55
ภาพที่ 12	การจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งสายต้นกระท่อม	56
ภาพที่ 13	ดีเอ็นเอจากใบกระท่อมสำหรับการส่งวิเคราะห์ด้วยเทคโนโลยีเอ็นจีเอส	56
ภาพที่ 14	การกระจายตัวของเครื่องหมาย SNPs บนจีโนมของกระท่อม จำนวน 37 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค GBS	57
ภาพที่ 15	ตัวอย่างจีโนไทป์ที่เฉพาะเจาะจงต่อสายพันธุ์กระท่อมจากเทคนิค GBS	58
ภาพที่ 16	ผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกระท่อมจากชิ้นส่วนยีน RpoC1 RbcL และ ITSu	58
ภาพที่ 17	โครมาโตแกรมของยีน RpoC1 RbcL และ ITSu ที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี sanger	59

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
ภาพที่ 18	แผนผังทางพันธุกรรมจากชิ้นส่วนยีน RpoC1 RbcL และ ITSu ที่วิเคราะห์จากโปรแกรม MEGA ด้วยวิธี maximum likelihood ที่ค่า bootstrap 1,000 ซ้ำ	59
ภาพที่ 19	ภาพตัดขวางลักษณะภูมิประเทศตามการแพร่กระจายในชุดดินต่างๆ	61
ภาพที่ 20	(a) ชุดดินไชยา (Cya) ดินร่วนปนทรายปนเหนียว หน้าดินลึก ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ-ปานกลาง (b) ชุดดินวิสัย (Vi) ดินร่วนเหนียวปนทราย กรดจัด ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ	61
ภาพที่ 21	ชุดดินชุมพร (Cp) ดินตื้น/ดินลูกรัง ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ขาดแคลนน้ำในหน้าแล้ง	62
ภาพที่ 22	(a) ชุดดินสวี (Sw) ดินร่วน เนื้อหยาบ ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ขาดแคลนน้ำในหน้าแล้ง (b) ชุดดินฝั่งแดง (Fd) ดินค่อนข้างเป็นทราย ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ขาดแคลนน้ำในหน้าแล้ง	62
ภาพที่ 23	(a) ชุดดินปากจั่น (Pac) ดินร่วนปนปนเหนียว หน้าดินลึก ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ-ปานกลาง (b) ชุดดินอ่าวลึก (Ak) ดินเหนียว ดินเหนียวปนร่วน หน้าดินลึก ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ	63
ภาพที่ 24	ชุดดินพะโต๊ะ (Pto) เนื้อดินเป็นดินปนทรายปนก้อนกรวด ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ	63
ภาพที่ 25	ชุดดินพะโต๊ะ (Pto) เนื้อดินเป็นดินปนทรายปนก้อนกรวด ความอุดมสมบูนณ์ต่ำ	77

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
ตารางที่ 1	ผลการวิเคราะห์สาร CBD และ THC ในดอกกัญชา 4 พันธุ์ ได้แก่ Blues Blue's Tune และ Blunami โดยวิธี Liquid Chromatography (LC)	32
ตารางที่ 2	ค่าความเข้มข้นและค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอกัญชาและกัญชง	35
ตารางที่ 3	คู่ไพรเมอร์สำหรับตรวจสอบยีนบ่งชี้สารสำคัญ THC และ CBD และ rbcL	36
ตารางที่ 4	ข้อมูลการเจริญเติบโตของพืชสกุลกัญชาพันธุ์ไทย (ปักชำ) ครั้งที่ 1 ปลูกเมื่อวันที่ 25 ก.พ. 2565	39
ตารางที่ 5	ข้อมูลการเจริญเติบโตของพืชสกุลกัญชาพันธุ์ไทย (ปักชำ) ครั้งที่ 2 ปลูกเมื่อวันที่ 25 ก.ค. 2565	40
ตารางที่ 6	ผลการเจริญเติบโตพันธุ์กัญชาที่เหมาะสมในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิปลูก ครั้งที่ 1 วันที่ 3 เมษายน 2565	42
ตารางที่ 7	ผลการเจริญเติบโตพันธุ์กัญชาที่เหมาะสมในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิปลูก ครั้งที่ 2 วันที่ 10 สิงหาคม 2565	42
ตารางที่ 8	ค่าเฉลี่ยสมบัติทางกายภาพบางประการของวัสดุปลูกในสัดส่วนที่ต่างกันจำนวน 5 ซ้ำ	45
ตารางที่ 9	การคายน้ำของพืชแท้จริงรายเดือน (ETc) ในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น เริ่มทำการวัดตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565	46
ตารางที่ 10	สัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชาในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น เริ่มทำการวัดตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565	46
ตารางที่ 11	การเจริญเติบโตทางลำต้นของกัญชา	46
ตารางที่ 12	สัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชาในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น ตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565	46
ตารางที่ 13	การคายน้ำของพืชแท้จริงรายเดือน (ETc) ในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น	47
ตารางที่ 14	ค่าปัจจัยการพร่องน้ำ (Depletion factor, p) ของกัญชาในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น	47
ตารางที่ 15	การเจริญเติบโตทางลำต้นของกัญชา	47
ตารางที่ 16	การคายน้ำของพืชแท้จริงรายเดือน (ETc) ในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 9 ต้น เริ่มทำการวัดตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565	48
ตารางที่ 17	การเจริญเติบโตทางลำต้นของกัญชา	49
ตารางที่ 18	ข้อมูลสายต้นกระท่อมที่สำรวจและรวบรวม จำนวน 76 สายต้น	51
ตารางที่ 19	ผลวิเคราะห์ดินสมบัติบางประการของดินแปลงทดลอง	54
ตารางที่ 20	สายต้นกระท่อมที่คัดเลือกมาปลูกเปรียบเทียบพันธุ์	54

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
ตารางที่ 21	สำรวจการแพร่กระจายของพืชกระท่อมบนชุดดินจัดตั้งที่กระจายตัวอยู่ในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน	60
ตารางที่ 22	สมบัติทางกายภาพของพืชกระท่อมที่เกิดการแพร่กระจายในชุดดินต่างๆ	64
ตารางที่ 23	สมบัติทางเคมีของพืชกระท่อมที่เกิดการแพร่กระจายในชุดดินต่างๆ	64
ตารางที่ 24	ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชในใบกระท่อม	65
ตารางที่ 25	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชและปริมาณสาร Mitragynineในใบกระท่อม	66
ตารางที่ 26	ผลวิเคราะห์ดินสมบัติบางประการของดินแปลงทดลอง	66
ตารางที่ 27	ข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกระท่อม อายุ 5 เดือน	66
ตารางที่ 28	ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นกระท่อม อายุ 5 เดือน	67
ตารางที่ 29	ผลวิเคราะห์ดินสมบัติบางประการของดินแปลงทดลอง	67
ตารางที่ 30	ข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกระท่อม อายุ 5 เดือน	67
ตารางที่ 31	ชนิดศัตรูกระท่อมที่พบเข้าทำลายในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 – กันยายน พ.ศ. 2565	68

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 1 บทนำ

1. วิสัยทัศน์ และพันธกิจของหน่วยงาน

วิสัยทัศน์

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

พันธกิจ

1. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตรสู่กลุ่มเป้าหมาย
2. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิต พัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
3. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
4. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

2. ยุทธศาสตร์ชาติที่สอดคล้องกับแผนปฏิบัติงานด้าน ววน. ของหน่วยงาน (โปรดเลือกเฉพาะยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับหน่วยงานของท่าน)

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 1 ด้านความมั่นคง

เพื่อบริหารจัดการสภาวะแวดล้อมของประเทศให้มีความมั่นคง ปลอดภัย และมีความสงบเรียบร้อยในทุกระดับและทุกมิติ

☑ ยุทธศาสตร์ที่ 2 ด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน

เน้นการยกระดับศักยภาพในหลากหลายมิติควบคู่กับการขยายโอกาสของประเทศไทยในเวทีโลก

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 3 ด้านพัฒนาและเสริมสร้างศักยภาพทรัพยากรมนุษย์

คนไทยในอนาคต มีความพร้อมทั้งกาย ใจ สติปัญญา มีทักษะที่จำเป็นในศตวรรษที่ 21 มีทักษะสื่อสารภาษาอังกฤษและภาษาที่ 3 และมีคุณธรรม

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 4 ด้านการสร้างโอกาสและความเสมอภาคทางสังคม

สร้างความเป็นธรรม และลดความเหลื่อมล้ำในทุกมิติ กระจายศูนย์กลางความเจริญทางเศรษฐกิจและสังคม เพิ่มโอกาสให้ทุกภาคส่วนเข้ามาเป็นกำลังของการพัฒนาประเทศในทุกระดับ

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 5 ด้านการสร้างการเติบโตบนคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำนึงถึงความยั่งยืนของฐานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของประชาชนให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผ่านมาตรการต่างๆ ที่มุ่งเน้นให้เกิดผลลัพธ์ต่อความยั่งยืน

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 6 ด้านการปรับสมดุลและพัฒนาระบบการบริหารจัดการภาครัฐ

การปรับเปลี่ยนภาครัฐ ยึดหลัก “ภาครัฐของประชาชนเพื่อประชาชนและประโยชน์ส่วนรวม”

3. วงเงินงบประมาณกองทุน ววน. ที่ได้รับจัดสรรในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 จำนวน 7,670,925 บาท

กรมวิชาการเกษตร

4. รายละเอียดโครงการ

ที่มาและความสำคัญ/หลักการและเหตุผล

กัญชาและกระท่อม เป็นพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคในประเทศไทยมาตั้งแต่อดีต โดยกรมการแพทย์แผนไทยฯ ได้มีการรวบรวมเอกสารและพบว่า มีเอกสารการบันทึกเป็นลายลักษณ์อักษรที่เกี่ยงเนื่องมาตั้งแต่สมัยสมเด็จพระนารายณ์มหาราชจนถึงรัชกาลที่ 6 จากตำรา 12 เล่ม พบมีกัญชาเป็นส่วนประกอบอยู่ 93 ตำรับ และในส่วนของกระท่อม พบตำรับยาที่มีส่วนผสมของกระท่อมเป็นส่วนประกอบ 18 ตำรับ ซึ่งพืชทั้งสองชนิดเป็นพืชที่มีศักยภาพในการใช้รักษาโรค สอดคล้องกับงานวิจัยในปัจจุบันทั้งในประเทศและต่างประเทศที่ให้ความสนใจและศึกษากันอย่างแพร่หลาย พบแนวโน้มที่ดีในการใช้ในการรักษาและบรรเทาอาการจากโรคต่างๆ และในอดีตกัญชาและกระท่อมในจัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 5 ตาม พ.ร.บ. ยาเสพติดให้โทษ โดยโครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกัญชาและกระท่อม เพื่อพัฒนาเทคโนโลยี และนวัตกรรมด้านการเกษตรตรงตามความต้องการของกลุ่มเป้าหมาย และถูกนำไปใช้ประโยชน์สอดคล้องของแผนงานกับเป้าประสงค์และตัวชี้วัดเป้าหมายภายใต้แผนปฏิบัติการ ด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรมของกรมวิชาการเกษตร และแผนงานฯ สอดคล้องกับทิศทางการดำเนินงานวิจัยกรมวิชาการเกษตรในระยะเวลา 3 ปี (พ.ศ. 2565-2567) ในด้านของงานวิจัยรองรับและสนับสนุนการขับเคลื่อนประเทศด้วยโมเดลเศรษฐกิจ BCG : Bio - Circular - Green Economy สู่เป้าหมายการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมอย่างยั่งยืน โดยใช้ทรัพยากรน้อยแต่ได้ประโยชน์สูงสุด โดยเฉพาะในส่วนของเศรษฐกิจชีวภาพ (Bio Economy) ที่มุ่งเน้นการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากฐานความหลากหลายทางชีวภาพ ได้แก่ พืชกัญชาและกระท่อมที่เป็นทรัพยากรที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาวิจัยและพัฒนา เพิ่มมูลค่า ให้เกิดประโยชน์สูงสุด เพื่อสร้างความยั่งยืนในการผลิตพืชสมุนไพรของประเทศไทย ซึ่งการสร้างความยั่งยืนในการผลิตพืชสมุนไพรของประเทศไทย ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ คือ การมีวัตถุดิบที่มีคุณภาพ มีความปลอดภัย และมีปริมาณสารสำคัญที่สม่ำเสมอ การวิจัยและพัฒนาการผลิตพืชสมุนไพร ควรให้ความสำคัญกระบวนการคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสม การจัดการและการดูและรักษา ตลอดจนการเก็บเกี่ยวในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสม จะส่งผลให้ได้วัตถุดิบที่มีคุณภาพและมีปริมาณมากพอที่จะสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ซึ่งจะสร้างรายได้ให้แก่ท้องถิ่นไปจนถึงประเทศ ซึ่งพืชสมุนไพรกัญชาและกระท่อม เป็นพืชที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นพืชสมุนไพรเศรษฐกิจได้ในอนาคต สามารถต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย สามารถสร้างรายได้จากชุมชนไปสู่ประเทศ

ในปัจจุบันเทคโนโลยีในการผลิตกัญชาและกระท่อม ยังจำเป็นต้องวิจัยและพัฒนาในด้านการผลิตที่จะทำให้ได้วัตถุดิบเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ที่มีคุณภาพ มีความสม่ำเสมอ และปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยในส่วนของแผนงานวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ดำเนินการผลิตชุดเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสมเพื่อใช้ในทางการแพทย์ ตั้งแต่การคัดเลือกและจำแนกสายพันธุ์พืชที่มีสารสำคัญทางการแพทย์สูง เทคโนโลยีการผลิตตั้งแต่สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม การปลูก การดูแลรักษา การเก็บเกี่ยวผลผลิต เพื่อให้ได้ปริมาณสารสำคัญสูง ตลอดจนการขยายพันธุ์กัญชาและกระท่อม เพื่อให้ได้ต้นกล้าคุณภาพ และรองรับความต้องการของเกษตรกรที่ได้รับอนุญาตผลิตในอนาคต ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ คือ 1. เกษตรกร กลุ่ม

กรมวิชาการเกษตร

เกษตรกร ชุมชน มีทางเลือกและรายได้ในการผลิตกัญชาและกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ 2. ผู้ป่วยสามารถเข้าถึงยา (ที่มีส่วนประกอบจากกัญชาและกระท่อม) ได้มากขึ้น เนื่องจากมีวัตถุดิบที่เพียงพอและราคาที่เหมาะสมต่อความต้องการของผู้ป่วย ส่งผลให้เกิดความมั่นคงทางยาของประเทศ

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1) เพื่อศึกษากัญชาและกระท่อมพันธุ์ที่มีสารสำคัญทางการแพทย์สูง

2) เพื่อศึกษาปัจจัยการเจริญเติบโตและสร้างสร้างสำคัญทางการแพทย์ของกัญชาและกระท่อม

3) เพื่อศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกัญชาและกระท่อมให้ได้สารสำคัญทางการแพทย์สูง

4) เพื่อศึกษารูปแบบวิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กัญชาที่เหมาะสม

5) เพื่อศึกษาวิธีการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษาในการรักษาคุณภาพกัญชาและกระท่อม รวมทั้งการพัฒนาบรรจุภัณฑ์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

ขอบเขตการศึกษา

ขอบเขตการศึกษาของโครงการวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ดำเนินการในปี 2565 ประกอบไปด้วย 2 โครงการย่อย ได้แก่ โครงการย่อยที่ 1 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบด้วย 7 กิจกรรม 15 การทดลอง โดยดำเนินการจำแนกสายพันธุ์กัญชา เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการพัฒนาสายพันธุ์ ตรวจสอบแหล่งที่มาของสายพันธุ์กัญชา และการศึกษาลักษณะการแสดงออกของยีนที่ผลต่อปริมาณสารสำคัญ ซึ่งจะเป็นข้อมูลในการพัฒนาสายพันธุ์กัญชาให้ได้สายพันธุ์ที่มีปริมาณสารสำคัญสูง ในส่วนของเทคโนโลยีการผลิต ได้แก่ การปลูกกัญชาในโรงเรือน การให้น้ำในปริมาณที่เหมาะสม การอารักขา และการขยายพันธุ์กัญชา เป็นการวิจัยและพัฒนาเพื่อให้ได้รูปแบบการผลิตกัญชาที่เหมาะสมในการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และสุดท้ายในส่วนของเทคโนโลยีการเก็บเกี่ยว เป็นการหาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวและกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อคงสภาพวัตถุดิบกัญชาให้มีคุณภาพและความปลอดภัย เพื่อนำไปสู่กระบวนการแปรรูปต่อไป จากการวิจัยและพัฒนาฯ ที่กล่าวมาข้างต้นจะส่งผลให้เกิดชุดเทคโนโลยีในการผลิตกัญชาเพื่อใช้ในทางการแพทย์ สามรถผลิตกัญชาที่มีคุณภาพ และมาตรฐานสู่การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และ 2. วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบด้วย 2 กิจกรรม 9 การทดลอง โดยดำเนินการ รวบรวม ทดสอบ และคัดเลือกสายต้น เพื่อให้ได้สายต้นที่มีสารสำคัญสูง ควบคู่กับการการจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาควบคู่กับการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการจำแนกสายต้น นอกจากทำให้ได้สายต้นที่มีสารสำคัญสูง และทำให้ทราบถึงรายละเอียดและลักษณะของสายต้นกระท่อมที่ทำการคัดเลือก และศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระท่อมที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสำคัญ ช่วยให้สามารถทำให้จัดการดูแลรักษากระท่อมในแปลงปลูกได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม รวมทั้งการศึกษาการเก็บเกี่ยวและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวกระท่อมที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตกระท่อมที่มีคุณภาพมีสารสำคัญทางการแพทย์ที่ต้องการในปริมาณสูงได้

กรมวิชาการเกษตร

นิยามศัพท์

พืชสกุลกัญชา	คือ พืชสกุล Cannabis ซึ่งมีชื่อทางพฤษศาสตร์ว่า *Cannabis sativa* L. ซึ่งสามารถจำแนกในระดับ species ย่อยตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological profiles) และลักษณะสารสำคัญ (Chemical profiles) โดยในที่นี้หมายถึงพืชกัญชาและกัญชง
กระท่อม	คือ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae โดยพืชกระท่อมเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง และพืชกระท่อมสร้างและสะสมสารเคมีในกลุ่มแอลคาลอยด์มากมายหลายชนิด โดยเฉพาะสารที่สำคัญ คือ สาร Mitragynine ที่มีฤทธิ์ในการรักษาอาการปวด
พันธุ์ดี	คือ พันธุ์พืชที่ปลูกแล้วให้ผลผลิตสูง มีคุณภาพ มีความเหมาะสมกับสภาพแวดล้อม และผลผลิตตรงตามความต้องการของตลาด
เทคโนโลยีการผลิต	คือ การนำองค์ความรู้ วิทยาการ และประสบการณ์มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตพืช เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการผลิตเพิ่มขึ้น
สารสำคัญ	คือ สารประกอบที่บ่งบอกความเฉพาะตัวของสมุนไพรหรือพืชที่นำมาใช้ประโยชน์ เป็นสารที่ก่อให้เกิดประโยชน์ทางใดทางหนึ่ง
การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์	คือ การนำผลผลิตที่ได้จากการผลิตพืชไปใช้ประโยชน์ พัฒนาในทางการแพทย์หรือสาธารณสุข เพื่อสนับสนุนการส่งเสริมสุขภาพ ป้องกันและควบคุมโรค รักษาโรค และฟื้นฟูสมรรถภาพ

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน

1.วิธีการดำเนินการวิจัย

<u>โครงการย่อยที่ 1</u> วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 1 การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์และการจำแนกกัญชาเพื่อรองรับการคุ้มครองพันธุ์พืช

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาคศาสตร์ และลักษณะประจำพันธุ์ของกัญชา (*Cannabis sativa*L.) พันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์การค้าต่างประเทศ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาสัณฐานวิทยาเพื่อจัดทำข้อมูลลักษณะพันธุ์พืช

1.1 โดยพิจารณาทั้งลักษณะที่ไม่เกี่ยวกับเพศ (vegetative characters) เช่น รูปร่างและความยาวของลำต้น เป็นต้น และลักษณะที่ใช้ในการสืบพันธุ์ (reproductive characters) เช่น ตำแหน่งของการออกดอก (ออกที่ปลายยอดหรือออกที่ข้างลำต้น) ช่วงระยะเวลาในการออกดอก (ออกดอกก่อนหรือหลังการผลัดใบ)

1.2 กำหนดข้อมูลลักษณะพันธุ์พืช (descriptor) เพื่อจัดทำข้อมูลบันทึกลักษณะพันธุ์พืช (passport data) และข้อมูลการเจริญเติบโตได้แก่ลักษณะต้น ใบ ดอก ผล ความยาวของใบ ความกว้าง ความสูง บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต เป็นต้น

1.3 วิเคราะห์ลักษณะทางปริมาณและลักษณะทางคุณภาพของกัญชา โครงสร้างรูปแบบการบันทึกข้อมูลเทียบเคียงแนวทางและขั้นตอนที่ดัดแปลงจาก UPOV Code: CANNB_SAT (2011) และ Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products (2009)

1.4 จัดทำข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์พันธุ์กัญชา

2. การศึกษากายวิภาคศาสตร์ของใบใบประดับช่อดอกเพศเมียและเพศผู้ของกัญชา

ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของใบ ใบประดับช่อดอกเพศเมียและเพศผู้ของกัญชา โดยนำตัวอย่างใบและใบประดับช่อดอกเพศเมียของกัญชาแต่ละชนิดจากแหล่งปลูก ชนิดละอย่างน้อย 5 ตัวอย่าง โดยนำใบในตำแหน่งลำดับที่ 2 จากด้านล่างสุด และใบประดับช่อดอกเพศเมีย มาตัดตามขวางโดยใช้วิธีฝังตัวอย่างในพาราฟิน (Paraffin embedding) และการลอกผิวใบ (Epidermal peeling) ทำเป็นสไลด์ถาวรตามวิธีของ Ruzin (1999) แล้วนำไปศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) เพื่อศึกษาลักษณะของโครงสร้างใบและใบประดับช่อดอกเพศเมีย เช่น ลวดลายของผิวเคลือบคิวทิน (cuticle) ประเภทของปากใบ (stomatal types) ชนิดของเซลล์และเนื้อเยื่อ รยางค์ เกล็ด หรือสิ่งปกคลุม รูปร่างของต่อม (gland) และไตรโคม (trichome)จำนวนความถี่ของต่อมต่อพื้นที่ใบ จำนวนชั้นเนื้อเยื่อและขนาดเซลล์ และสารสะสม (inclution) เป็นต้น รวมทั้งยืนยันความถูกต้อง ด้วยการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope)

3. การเก็บตัวอย่างพรรณไม้เพื่อการอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร

3.1 ศึกษาและจัดทำวิธีการจัดทำตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงของกัญชาที่ศึกษา ซึ่งจำเป็นต้องมีวิธีการเก็บตัวอย่าง การคัดเลือกตัวอย่าง ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการคัดเลือกและเก็บตัวอย่าง เพื่อนำมาสู่กระบวนการจัดทำตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิง

3.2 ตัวอย่างพรรณไม้แห้งของกัญชาที่ศึกษา คัดเลือกมาจำนวน พันธุ์ละ 2–3 ตัวอย่าง

บันทึกข้อมูลจากตัวอย่างพรรณไม้ ลงในระบบฐานข้อมูลพรรณไม้อ้างอิงของพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ โดยให้หมายเลขตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงตามรูปแบบตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงของกัญชาจำนวน 4 พันธุ์ ๆ ละ 2-3 สำเนาหมายเลข

4. จัดทำสรุปและรายงานผลการทดลอง

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาทางพฤกษเคมีของกัญชา (Cannabis sativa L.) พันธุ์พื้นเมืองที่และพันธุ์การค้าต่างประเทศ

วิธีดำเนินงานวิจัย

ทำการคัดเลือกกัญชาพันธุ์พื้นเมืองที่มีศักยภาพ 15 พันธุ์ เพื่อตรวจสอบและสกัดแยกสารสำคัญทางเคมี โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมตัวอย่าง โดยแยกส่วนของใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ ช่อดอกเพศเมีย และเมล็ด นำมาตากให้แห้ง

2. สกัดสารสำคัญจากพืช โดยชั่งน้ำหนักในแต่ละส่วนของพืช แล้วนำไปบดให้ละเอียด จากนั้นสกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์โดยการหมักเป็นเวลา 5-7 วัน ทำให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator จะได้สารสกัดหยาบแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก

3. การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น ได้แก่ แอลคาลอยด์ (alkaloids) ไกลโคไซด์ (gycosides) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) สารประกอบฟีนอลิค (phenolic compounds)ฯลฯ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น โดยใช้เทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทรกราฟี (Thin Layer Chromayography : TLC)

4. การสกัดและวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ canabidiol, delta-9-tetrahydrocannabinol แต่ละสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

การทดลองที่ 1.3 การวิเคราะห์ข้อมูลพันธุกรรมและดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับการจำแนกพันธุ์กัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

ปี 2565

1. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับอาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอด้วยเทคโนโลยี NGS (Next-generation sequenceing)

1.1 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับอาร์เอ็นเอด้วยเทคนิค RNA-seq

กรมวิชาการเกษตร

1.1.1 ตัวอย่างใบกัญชาจากต้นอายุประมาณ 2-3 เดือน จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์พื้นเมืองและสายพันธุ์จากต่างประเทศ

1.1.2 การสกัดอาร์เอ็นเอรวม

1.1.3 กำจัด rRNA (rRNA removal)

1.1.4 การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายผสม (cDNA synthesis)

1.1.5 นำตัวอย่าง cDNA ที่ได้ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Next Generation Sequencing

1.1.6 นำข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์เบื้องต้น เพื่อค้นหาตำแหน่ง SNPs และตำแหน่ง Ins/Del โดยใช้ชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ SNP/InDel

1.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับดีเอ็นเอด้วยวิธี GBS (Genome by sequencing)

1.2.1 ตัวอย่างใบกัญชาจากต้นอายุประมาณ 2-3 เดือน จำนวน 30 สายต้น ได้แก่ สายพันธุ์พื้นเมือง 15 สายต้น และสายพันธุ์จากต่างประเทศ จำนวน 15 สายต้น

1.2.2 การสกัดดีเอ็นรวม

1.2.2 นำตัวอย่างดีเอ็นแอที่ได้วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Next Generation Sequencing

1.2.3 นำข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์เบื้องต้น เพื่อหาตำแหน่ง SNPsและชิ้นส่วนจีโนม (Genome cotig) โดยใช้ชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ SNP/InDel

2. การทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างกัญชา

ทำการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างกัญชา จำนวน10ตัวอย่าง แบ่งเป็นสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 5 ตัวอย่าง และสายพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 5 ตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์จากยีนบนคลอโรพลาสต์จีโนมและนิวเคลียร์จีโนมอย่างน้อย 15 ตำแหน่ง ได้แก่ ITS, *accD,matK,ndhJ,rpoB, rpoC1,ycf,atpF-H,psbK-I,rbc,LrbcLa,trnH-psbA*, *trnL*(P6), THCA และ CBDA เป็นต้น เพื่อหาคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ และให้ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์มากที่สุด จำนวน 2-4 ตำแหน่ง จึงจะนำมาใช้กับตัวอย่างกัญชาทั้งหมดต่อไป มีลำดับขั้นตอน ดังนี้

2.1 การสกัดดีเอ็นของกัญชา

2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction)

2.3 การตรวจสอบแถบดีเอ็น

2.4 การทำชิ้นส่วนพีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ (PCR purification)

2.5 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

2.6 การวิเคราะห์ผลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGA7

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 2 การวิจัยยีนและการแสดงออกของยีนสำหรับพัฒนาสายพันธุ์กัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์

การทดลองที่ 2.1 การตรวจสอบยีนบ่งชี้สารสำคัญ THC (delta-9-tetrahydrocannabinol) และ CBD (Cannabidiol) เชิงปริมาณในกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตรวจสอบข้อมูลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC (delta-9-tetrahydrocannabinol) และ CBD (Cannabidiol) สืบค้นหาลำดับเบสของยีนแต่ละตัวโดยเลือกตำแหน่งอนุรักษ์ (conserve region) คัดเลือกไพร์เมอร์และโพรบเพื่อใช้ตรวจสอบยีนเชิงปริมาณในกัญชา

2. สกัดดีเอ็นเอกัญชา ด้วยวิธีการวิเคราะห์สินค้าพืชดัดแปรพันธุกรรม (Roger and Bendich, 1985)

3. ทดสอบความจำเพาะของไพร์เมอร์และโพรบกับดีเอ็นที่ของกัญชาด้วยปัจจัยดังต่อไปนี้

3.1 ทดสอบความจำเพาะ (Specificity) ของชุดไพร์เมอร์และโพรบที่ออกแบบมา กับตัวอย่างกัญชาและตัวอย่างพืชอื่นๆ เพื่อใช้ในการทดสอบความจำเพาะของปฏิกิริยาด้วยเครื่อง Digital Droplet PCR แบบ Simplex

3.2 ทดสอบความถูกต้อง (Trueness) ความแม่นยำ (Precision) และร้อยละความเบี่ยงเบน (% Bias) ในวิธีการยีนเชิงปริมาณข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม

3.3ทดสอบความทวนซ้ำได้ (Repeatability) และความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของกลุ่มยีนที่สามารถหาปริมาณได้อย่างน่าเชื่อถือ (Limit of quantification: LOQ) และเชิงคุณภาพ (Limit of Detection: LOD) ในวิธีการตรวจคัดกรองยีนเชิงปริมาณในกัญชา

3.4 ทดสอบความใช้ของวิธีดังกล่าวโดยนำมาตรวจคัดกรองยีนเชิงปริมาณในตัวอย่าง blind sample จำนวน 20 ตัวอย่าง

4. ตรวจสอบปริมาณสารสำคัญจากตัวอย่างกัญชาด้วยปัจจัยที่แตกต่างดังต่อไปนี้

4.1 สายพันธุ์ จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์พื้นเมืองและสายพันธุ์จากต่างประเทศ

4.2 ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน ได้แก่ ใบ ดอก ต้น และราก

4.3อายุของต้นกัญชาตั้งแต่อายุ 1, 2, 3, 4, 5 เดือน เป็นต้น

4.4 ต้นกัญชาที่ผ่านการกระตุ้นด้วยสิ่งเร้าต่าง ๆเช่น แสง สิ่งกระตุ้นที่เป็น abiotic หรือ biotic stress

4.5 ช่วงเวลาเก็บเกี่ยวกัญชาที่แตกต่างกัน 3 ระยะเวลา เช่น มีค. ถึง มิย., กค. ถึง ต.ค. พ.ย. ถึง กพ.

5. เปรียบเทียบการตรวจพบยีนเชิงปริมาณกับสารสำคัญ THC และ CBD ที่ตรวจสอบได้จากการทำ HPLC เพื่อใช้ในการออกแบบการปลูกกัญชาที่ให้ปริมาณสารสำคัญที่สูงสุด

การทดลองที่ 2.2 การวิจัยกลุ่มยีนสร้างสาร Terpene ในกัญชาสายพันธุ์ไทยเพื่อการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเปรียบเทียบยีนและการแสดงออกของยีนในกลุ่ม Terpeneในกัญชาสายพันธุ์ไทยด้วยเทคนิคทรานสคิปโตมิกส์ (Transcriptomics)

กรมวิชาการเกษตร

1.1 ตัวอย่างดอกกัญชาสายพันธุ์ไทย จำนวน 3 พันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ที่ผลิตสาร CBD สูง กลาง และต่ำ ที่ปลูกเลี้ยงในสภาวะเดียวกันภายใต้สภาวะตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น

1.2 การสกัดอาร์เอ็นเอรวม

1.3 กำจัด rRNA (rRNA removal)

1.4 การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายผสม (cDNA synthesis)

1.5 นำตัวอย่าง cDNA ที่ได้ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Next Generation Sequencing

1.6 ข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SNPs และ SSR โดยใช้ชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ SNP/InDel และวิเคราะห์การแสดงออกและเปรียบเทียบหน้าที่ของยีนจากฐานข้อมูล Swiss-Prot database, Gene Ontology (GO), Eukaryotic Orthologous Groups of protein (KOG) และ Kyoto Encyclopaedia of Genes and Genome (KEGG)

2. เตรียมตัวอย่างกัญชาและการวิเคราะห์สาร Terpene ด้วยวิธี LC-MS/MS

3. เปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในกลุ่ม Terpene ด้วยวิธี quantification real-time PCR

3.1 นำกัญชาสายพันธุ์ CBD สูงมาทดสอบการแสดงออกของยีนในกลุ่ม Terpene ที่ทำการคัดเลือกมาจากตัวแทนยีน (candidate genes) ของกลุ่ม terpene ที่สนใจ อย่างน้อย 2 ยีนโดยทดสอบการแสดงออกของยีนในสภาวะแวดล้อมต่างกัน คือ อุณหภูมิ และช่วงแสง อย่างน้อย 2 สภาวะ โดยวิธี quantification real-time PCR ร่วมกับการวิเคราะห์สาร Terpene ด้วยวิธี LC-MS/MS

3.2 สกัดอาร์เอ็นเอด้วยชุด Nucleo Spin kit® ยี่ห้อ MACHERY-NAGEL

3.3 สังเคราะห์ดีเอ็นเอสายผสมด้วยชุด RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit ยี่ห้อ Thermo

3.4 การตรวจสอบการแสดงออกของยีนในกลุ่ม Terpene ด้วยวิธี quantification real-time PCR

การทดลองที่ 2.3 การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสารกลุ่มแคนนาบินอยด์โดยการกระตุ้นการกลายพันธุ์แบบแม่นยำในกัญชาสายพันธุ์ไทย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นเนื้อเยื่อส่วนตาและแคลลัสกัญชา โดยนำกิ่งอ่อนต้นกัญชาสายพันธุ์ซึ่งได้รับรองจากกรมวิชาการเกษตร ที่สมบูรณ์แข็งแรงและปราศจากโรคและแมลงรบกวนอายุ 7 วันถึง 4 สัปดาห์ มาล้างทำความสะอาดโยผ่านน้ำไหล แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ที่มีความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เติมทวีน 20 2-3 หยด เป็นเวลา 15 นาที 2 ครั้ง แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที หลังจากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณยอดและกระตุ้นการพัฒนาแคลลัสตามวิธีการของ M. Feeney *et al.* (2003)

2. การสร้างชุดยีน CRISPR/CAS เพื่อกระตุ้นการกลายพันธุ์แบบจำเพาะเจาะจง

2.1 คัดเลือกส่วนของยีนบนจีโนมของเอนไซม์

2.2 สังเคราะห์ตำแหน่ง sgRNA (Single guide RNA) เพื่อกระตุ้นการกลายพันธุ์แบบแม่นยำ

2.3 เตรียม competent cell ของเชื้อ *E. coli*

กรมวิชาการเกษตร

2.4 ถ่ายพลาสมิดสายผสมเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย *E. coli*

2.5 การสกัดพลาสมิดของดีเอ็นสายผสม (recombinant DNA)

3. การทดสอบกลไกการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์แบบจำเพาะเจาะจง

3.1 เตรียม electrocompetent cell ของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens*

3.2 ถ่ายยีนเข้าสู่อะโกรแบคทีเรียมด้วยวิธีอิเลคโตรโพเรชั่น (electroporation)

4. การถ่ายชุดยีน CRISPR/CAS เข้าสู่แคคสัสกัญชาเพื่อ เพื่อกระตุ้นให้เกิด Gene editing

4.1 เตรียมเชื้ออะโกรแบคทีเรียมสำหรับการถ่ายยีน

4.2 ถ่ายยีนโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียมและการ Regeneration

4.3 สกัดสารประกอบเพื่อทดสอบเพื่อตรวจหาความเข้มข้นของ CBD และ THC ด้วยข้อจำกัดด้านกฎหมาย อาจนำเนื้อเยื่อหรือ ดอกของต้นกัญชาที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วส่งตรวจวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของ CBD และ THC โดยกรมการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข

กิจกรรมที่ 3 การทดสอบสายพันธุ์กัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือน

การทดลองที่ 3.1 ทดสอบพันธุ์กัญชาที่เหมาะสมในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิที่มีผลต่อผลผลิตกัญชาในพันธุ์ที่ใช้ทางการแพทย์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วางแผนการทดลองแบบ **Randomized Complete Block Design มี 10 กรรมวิธี** 3 ซ้ำ โดยเตรียมต้นกล้ากัญชาสายพันธุ์ไทยและสายพันธุ์ต่างประเทศที่จะใช้ในการทดลองจากวิธีการปักชำ ทั้งสิ้นจำนวน 90 ต้น ใช้กระถางกัญชาขนาด 30 ลิตร

2. โรงเรือนไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ (ไม่มี แอร์) ขั้นตอนการทดลอง

2.1 ปลูกกัญชาในกระถางขนาด 30 ลิตร ระยะห่าง 1*1 เมตร ใช้พื้นที่ทั้งหมด 100 ตร.ม.

2.2 ปลูกด้วยวัสดุ Peat moss ควบคุมความเป็นกรด - ด่างที่ 5.2 – 6.2

2.3 ต้นกัญชาในช่วงการเจริญเติบโตในระยะเวลา 2 เดือน ต้องได้รับแสงแดดร่วมกับแสงเสริม หลอด LED ความเข้มแสง 500 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที 18 ชั่วโมง และไม่ได้รับแสง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

2.4 ต้นกัญชาในระยะผลิตดอกเพื่อให้ต้นกัญชาออกดอกจึงต้องการแสงวันสั้นโดยต้องรับแสง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และไม่ได้รับแสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ประมาณ 46 วัน

2.5 ระหว่างการออกดอกหากพบว่ากัญชาออกดอกเพศผู้ควรกำจัดเสีย

2.6 หากในโรงเรือนมีอุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซียลเซียส ต้องมีระบบลดความร้อนเช่น ม่านพรางแสง

3. ดูแลรักษาโดยการให้ปุ๋ย ให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ และกำจัดศัตรูกัญชาตามความจำเป็น

4. บันทึกการเจริญเติบโตทุกเดือน

5. เก็บเกี่ยวผลผลิตมาบันทึกข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของ ลำต้น ราก ใบ และดอก ทุกกรรมวิธี

6. ส่งไปวิเคราะห์สารสำคัญ THC และ CBD ที่ห้องปฏิบัติการ

กรมวิชาการเกษตร

7. การบันทึกข้อมูล

7.1 การปฏิบัติงานต่าง ๆ ในแปลง เช่น วันปลูก การกำจัดวัชพืช การดูแลรักษา และการเก็บเกี่ยว

7.2 ผลผลิตได้แก่น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเป็นต้น

7.3 ปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ สาร CBD หรือ THC

7.4 ต้นทุนการผลิต รายได้และผลตอบแทน

การทดลองที่ 3.2 ทดสอบพันธุ์กัญชาที่เหมาะสมในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิที่มีผลต่อผลผลิตกัญชาในพันธุ์ที่ใช้ทางการแพทย์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 10 กรรมวิธี 3 ซ้ำ โดยเตรียมต้นกล้ากัญชาสายพันธุ์ไทยและต่างประเทศ ที่ใช้ในการทดลองจากวิธีการปักชำ จำนวน 90 ต้น ใช้กระถางขนาด 30 ลิตร

2. โรงเรือนสามารถควบคุมอุณหภูมิได้.

2.1 ปลูกกัญชาในกระถางขนาด30 ลิตร ระยะห่าง 0.5*0.5 เมตร ใช้พื้นที่ทั้งหมด 35 ตร.ม.

2.2 ปลูกด้วยวัสดุ Peat moss ควบคุมความเป็นกรด - ด่างที่ 5.2 – 6.2

2.3 ควบคุมอุณหภูมิ อยู่ระหว่าง 22-30 องศาเซลเซียส

2.4 ควบคุมความชื้นอยู่ระหว่าง 40-70 เปอร์เซนต์

2.5 ต้นกัญชาในช่วงการเจริญเติบโต อายุ 2 เดือน ได้รับแสงแดดร่วมกับแสงเสริม หลอด LED ความเข้มแสงประมาณ 500 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และไม่ได้รับแสง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

2.6 ต้นกัญชาในระยะผลิตดอกเพื่อให้ต้นกัญชาออกดอกจึงต้องการแสงวันสั้นโดยต้องรับแสง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และไม่ได้รับแสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ประมาณ 46 วัน

2.7 ระหว่างการออกดอกหากพบว่ากัญชาออกดอกเพศผู้ควรกำจัดเสีย

3. ดูแลรักษาโดยการให้ปุ๋ย ให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ และกำจัดศัตรูกัญชาตามความจำเป็น

4. บันทึกการเจริญเติบโตทุกเดือน

5. เก็บเกี่ยวให้เก็บผลผลิตมาบันทึกข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของ ลำต้น ราก ใบ และดอก ทุกกรรมวิธี

6. ส่งไปวิเคราะห์สารสำคัญ THC และ CBD ที่ห้องปฏิบัติการ

7. การบันทึกข้อมูล

7.1 การปฏิบัติงานต่าง ๆ ในแปลง เช่น วันปลูก การกำจัดวัชพืช การดูแลรักษา และการเก็บเกี่ยว

7.2 ผลผลิตได้แก่น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเป็นต้น

7.3 ปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ สาร CBD หรือ THC

7.4 ต้นทุนการผลิต รายได้และผลตอบแทน

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 4. การพัฒนาการผลิตต้นกล้ากัญชาคุณภาพเพื่อใช้ในทางการแพทย์

การทดลองที่ 4.1 การพัฒนาการผลิตต้นกล้ากัญชาโดยการปักชำ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมต้นพันธุ์ในการตัดชำ

1.1 นำต้นกล้ากัญชาที่ได้จากการคัดเลือก (ต้นตัวเมีย) อายุ 9 สัปดาห์ จำนวน 20 ต้น ซึ่งอยู่ในระยะ Vegetative growth เพื่อนำมาใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ในการตัดชำ

1.2 นำต้นแม่พันธุ์ มาทำการลดการสะสมไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในต้น โดยให้น้ำปริมาณ 2 เท่าของปริมาตรวัสดุปลูก เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำต้นแม่พันธุ์ไปใช้ในการขยายพันธุ์

2. การตัดชำต้นกล้า

2.1 ตัดกิ่งกัญชาจากต้นพันธุ์ที่เตรียมไว้ ทำการตัดกิ่ง ทำมุม 45 องศา มีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร และประกอบด้วยจำนวนใบที่กางเต็มที่ จำนวน 3 ใบ จากนั้นนำกิ่งไปแช่น้ำเปล่าทันทีหลังจากตัด เพื่อป้องกันกระบวนการเกิด xylem embolism ของกิ่งชำ

2.2 นำกิ่งพันธุ์แช่ในสาร Indole-3-butyric acid ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยให้โคนกิ่งพันธุ์จุ่มลงในสารละลาย 3 เซนติเมตร เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปปลูก

2.3 ปลูกลงในกระถางพลาสติกสี่เหลี่ยม ขนาด กว้าง x ยาว: 2 x 2 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูกพีทมอส และตัดกิ่งพันธุ์ลงในวัสดุปลูกประมาณ 3 เซนติเมตร ซึ่งรูปแบบการตัดชำมี 2 รูปแบบ คือ

- รูปแบบที่ 1 ระบบปิด โดยนำกระถางที่มีกิ่งชำมาบรรจุลงในกล่องเก็บความชื้น จำนวน 10 กระถาง/กล่อง โดยทำการรดน้ำ และปิดฝากล่อง จากนั้นทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 45 วัน จึงทำการย้ายกล้า
- รูปแบบที่ 2 ระบบเปิด โดยนำกระถางมาจัดวางในลักษณะเดียวกันกับรูปแบบที่ 1 จำนวน 10 กระถางทำการรดน้ำเช้า-เย็น และพ่นหมอกในช่วงเวลาเที่ยง เป็นระยะเวลา 45 วันจึงทำการย้ายกล้า

2.4 ทำการย้ายกล้าจากรูปแบบที่ 1 และ 2 ลงกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้ว และใส่ปุ๋ยออสโมโคส จำนวน 10 กรัมต่อกระถาง และวัดการเจริญเติบโตจนมีขนาด 45 เซนติเมตร

2.5 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของรูปแบบที่ 1 และ 2

3. การบันทึกข้อมูล 45 วัน/ครั้ง

- อัตราการรอดของกิ่งชำ
- การสร้างใบใหม่
- ความสูงของต้น และระยะเวลาที่ใช้ เมื่อต้นกล้าสูง 45 เซนติเมตร

การทดลองที่ 4.2 การขยายพันธุ์กัญชาด้วยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของข้อและยอดกัญชาพันธุ์ดี ที่มีปริมาณสาร THC น้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ โดยนำข้อและยอดของกัญชามาล้างทำความสะอาดแล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ Clorox ที่ระดับความเข้มข้น 10

กรมวิชาการเกษตร

เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที พอครบตามเวลานำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่าการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นนำไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 15 วัน บันทึกจำนวนยอดที่รอดชีวิต

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชุดทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ การทดลองนี้ใช้กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ขวดเพาะเลี้ยง

เริ่มจากนำปลายยอดจากต้นที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งชักนำให้เกิดยอด โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA และ TDZ ในปริมาณความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS + ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต
กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + BA 0.5 mg/l
กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + BA 1 mg/l
กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + BA 2 mg/l
กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + BA 3 mg/l
กรรมวิธีที่ 6 สูตรอาหาร MS + TDZ 0.1 mg/l
กรรมวิธีที่ 7 สูตรอาหาร MS + TDZ 0.2 mg/l
กรรมวิธีที่ 8 สูตรอาหาร MS + TDZ 0.3 mg/l
กรรมวิธีที่ 9 สูตรอาหาร MS + TDZ 0.4 mg/l

เพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ ในช่วงเวลาดังกล่าวมีการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 4 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลองโดยตรวจนับจำนวนยอดต่อชิ้น (นับยอดที่มีความยาวตั้งแต่ 0.5 เซนติเมตรขึ้นไป) วัดความยาวยอด และบันทึกภาพการ การทดลองนี้ใช้ 5 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำ คือ 1 ขวดเพาะเลี้ยง

กิจกรรมที่ 5. การวิจัยความต้องการน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของกัญชา

การทดลองที่ 5.1 การศึกษาสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บข้อมูลพื้นที่ เก็บตัวอย่างดิน/วัสดุปลูก วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และเคมี
2. วิธีการปฏิบัติการวิจัยในถัง Lysimeter ของสถานีทดลอง
   2.1 หาค่าการคายน้ำของพืชทุกๆวัน ($ET_{c\text{-}daily}$) ดังสมการ 1 (Allen et al., 1998)
   2.2 คำนวณหาการคายน้ำของพืชอ้างอิงรายวัน ($ET_{o\text{-}dialy}$) เพื่อเป็นค่าแนะนำการให้น้ำชลประทาน
3. การบันทึกข้อมูล
   3.1 วัดความชื้นในดินทุก 1 ครั้งต่อวัน (ปริมาณน้ำที่สะสมในดิน)

กรมวิชาการเกษตร

3.2 บันทึกข้อมูล อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์สูงสุด ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด ชั่วโมงแสง ความเร็วลม ปริมาณน้ำที่สูญเสียออกจากระบบรากพืชในรูปแบบการซาบซึมลึก (Deep percolation) ตลอดการปลูกจนกระทั่งกัญชาให้ผลผลิตในถัง Lysimeter

3.3 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต เช่น ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ผลผลิต ปริมาณสารสำคัญ และความยาวราก ตลอดจนวิเคราะห์ดินทั้งสมบัติทางกายภาพและเคมีก่อนและหลังการทดลอง

การทดลองที่ 5.2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อดัชนีความเครียดกับสมดุลน้ำในผลิตกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บข้อมูลพื้นที่ โดยเก็บตัวอย่างดินวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และสมบัติทางเคมี
2. ปฏิบัติการวิจัยในถัง Lysimeter ของสถานีทดลอง
3. การบันทึกข้อมูล

3.1 วัดความชื้นในดินทุก 3 ครั้งต่อสัปดาห์ (ปริมาณน้ำที่สะสมในดิน)

3.2 บันทึกข้อมูล อุณหภูมิ อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์สูงสุด ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด ชั่วโมงแสง และความเร็วลม

3.3 หาค่าความจุความชื้นสนาม (Fc) และจุดเหี่ยวถาวร (PWP) ของ Lysimeter แต่ละตัว

3.4 วัดอัตราการและช่วงเวลาการเปิดปิดปากใบของพืช ทุกสัปดาห์

3.5 หาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นดินต่อการเปิดปิดปากใบของกัญชา

3.6 ผลที่ได้จากการทดลองได้แก่ (Depletion Factor, p) (Crop water stress, K_s) (Filed Capacity, FC) (Permanent wilting point, PWP) (Soil moisture content) และการเจริญเติบโตของกัญชานำมาใช้วิเคราะห์สัดส่วนพิกัดบนของปริมาณปริมาณน้ำในดินที่ง่ายต่อการนำไปใช้ของกัญชา (Upper of Depletion Factor) และวิเคราะห์สัดส่วนพิกัดล่างของปริมาณปริมาณน้ำในดินที่ง่ายต่อการนำไปใช้ของกัญชา (Lower of Depletion Factor) มาใช้ประกอบกับโปรแกรม Aquacrop เพื่อทำแบบจำลองสมดุลน้ำในกัญชา

3.7 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต เช่น ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ผลผลิต ปริมาณสารสำคัญ และความยาวราก ตลอดจนวิเคราะห์ดินทั้งสมบัติหลังการทดลอง

การทดลองที่ 5.3 การศึกษาความถี่และปริมาณการให้น้ำที่ระดับต่างๆต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บข้อมูลพื้นที่ เก็บตัวอย่างดินไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และสมบัติทางเคมี
2. วิธีการปฏิบัติการวิจัย เมื่อได้ค่าสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชา (K_c) และค่าปัจจัยการอนุญาตในการพร่องน้ำของดิน (Depletion factor, p) แล้วสามารถนำมาคำนวณความถี่และปริมาณการให้น้ำกับกัญชาดังนี้

1) ในกรณีที่มีความถี่การให้น้ำปานกลางถึงมากแต่ปริมาณน้ำที่ให้มีปริมาณน้อยถึงปานกลาง (พืชไม่แสดงความเครียดจากการขาดน้ำโดยสัมประสิทธิ์การขาดน้ำของพืช K_s = 1.00)

กรมวิชาการเกษตร

2) ในกรณีที่มีความถี่การให้น้ำน้อยแต่ปริมาณน้ำที่ให้มีปริมาณมาก (พืชแสดงความเครียดจากการขาดน้ำโดยสัมประสิทธิ์การขาดน้ำของพืช $K_s < 1.00$)

จากเงื่อนไขการให้น้ำดังกล่าวสามารถวางแผนการทดลองเป็นสุ่มแบบสมบูรณ์ภายในบล๊อค (RCB) ประกอบด้วยตำรับการทดลอง 3 ตำรับการทดลอง จำนวนซ้ำ 7 ซ้ำ ดังนี้

1) ให้น้ำกับพืชเมื่อความชื้นในดินลดลงน้อยกว่าปัจจัยการพร่องของน้ำในดิน 20 เปอร์เซ็นต์ (ความชื้นดิน < p factor, ความถี่ในการให้น้ำมากแต่ปริมาณน้ำที่ให้น้อย)

2) ให้น้ำกับพืชเมื่อความชื้นในดินลดลงเท่ากับปัจจัยการพร่องของน้ำในดิน (ความชื้นดิน = p factor, ความถี่ในการให้น้ำปานกลาง และปริมาณน้ำที่ให้ปานกลาง) ทั้ง 2 ตำรับการทดลองพืชไม่เกิดสภาวะความเครียดจากการขาดน้ำ

3) ให้น้ำกับพืชเมื่อความชื้นในดินลดลงมากกว่าปัจจัยการพร่องของน้ำในดิน 20 เปอร์เซ็นต์ (ความชื้นดิน > p factor, ความถี่ในการให้น้ำน้อยแต่ปริมาณน้ำที่ให้มาก) พืชเกิดสภาวะความเครียดจากการขาดน้ำเพื่อนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ตามลำดับ

3. การบันทึกข้อมูล

3.1 วัดความชื้นในดินทุก 3 ครั้งต่อสัปดาห์ (ปริมาณน้ำที่สะสมในดิน)

3.2 บันทึกข้อมูล อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์สูงสุด ความชื้นสมพัทธ์ต่ำสุด ชั่วโมงแสง ความเร็วลม และปริมาณน้ำฝนที่ตกในพื้นที่ตลอดการปลูกจนกระทั่งกัญชาให้ผลผลิต

3.3 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต เช่น ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ผลผลิต ปริมาณสารสำคัญ ประสิทธิภาพการใช้น้ำของพืช (Water use efficiency, WUE) และประสิทธิภาพการใช้น้ำชลประทานของพืช (Irrigation water use efficiency, IWUE) และวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีก่อนและหลังการทดลอง

กิจกรรมที่ 6 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขากัญชาในสภาพการปลูกแบบภายในอาคาร

การทดลองที่ 6.1 การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สุ่มเก็บตัวอย่างไรบนใบกัญชาจากแปลงปลูกกัญชาในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ อุดรธานี เชียงใหม่ และแปลงปลูกกัญชาในระบบปิด โดยการเขี่ยตัวอย่างไรลงในขวดดองแอลกอฮอล์ 70 % หรือโดยการเก็บใบ กิ่ง ผล หรือส่วนต่าง ๆ ของพืช ที่แสดงอาการผิดปกติลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บตัวอย่างไร บันทึกข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)

2. การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน ส่วนไรตัวผู้ให้จัดท่าทางในลักษณะตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover glass นำสไลด์ขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อนเพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ยืดออก และเพื่อไล่ฟองอากาศ นำเข้าตู้อบที่

กรมวิชาการเกษตร

อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ cover glass ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

3. นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง compound microscope จำแนก ชนิด จากตำราต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 สถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

4.2 รายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสี

4.3 เขตการแพร่กระจาย

การทดลองที่ 6.2 การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติในกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

1.1 สืบค้นข้อมูลแหล่งปลูกกัญชาทั้งระบบเปิดและระบบปิด

1.2 สำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูในกัญชา โดยทำการสำรวจทุกระยะการเจริญเติบโตของกัญชา โดยวิธีการเก็บ 2 สัปดาห์ต่อครั้ง จำนวน 24 ครั้ง รวบรวมแตกต่างกันในแมลงแต่ละชนิด เช่น ตัดกิ่งหรือใบที่มีแมลงติด ใช้สวิงโฉบ ใช้มือจับ ใช้การเคาะตามยอด ใบ ดอก นำดองในแอลกอฮอล์ หรือน้ำยาที่ใช้ดองเฉพาะชนิด เช่น AGA รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่มีชีวิตด้วย ถ่ายภาพและบันทึกรายละเอียดต่างๆ

1.3 การบันทึกข้อมูล

- สถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง
- รายละเอียด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสี
- เขตการแพร่กระจาย

2. การศึกษาอนุกรมวิธานด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.1 นำตัวอย่างแมลงศัตรูกัญชาทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ

- ตัวเต็มวัยจัดรูปร่างตามวิธีการของแต่ละชนิด
- ตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโตตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่างและอบให้แห้งรอการจำแนกชนิดต่อไป

2.2 นำแมลงที่ผ่านการจัดรูปร่าง และอบแห้ง หรือทำสไลด์เรียบร้อยแล้วไปตรวจวิเคราะห์ชนิด

2.3 จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดโดยแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานแต่ละชนิดโดยใช้ภาพวาดหรือภาพถ่าย

2.4 บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง

2.5 นำตัวอย่างแมลงเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร

2.6 การบันทึกข้อมูล

- สถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วัน/เดือน/ปี ที่เก็บ ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย และชื่อผู้เก็บ
- ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญของแมลงศัตรูธรรมชาติแต่ละชนิด

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 6.3 การใช้ไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) ในการควบคุมไรศัตรูกัญชาโดยชีววิธี

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมผลิตขยายไรตัวห้ำ *Amblyseius longispinosus* (Evans) เทคนิคของมานิตาและคณะ (2535, 2536)

1. วิธีการเลี้ยงไรแดงหม่อนและไรตัวห้ำ เพื่อใช้เป็นแม่พันธุ์ในการขยายพันธุ์บนต้นถั่วจากการศึกษา

เก็บไรแดงหม่อนจากต้นถั่วฝักยาวหรือมันสำปะหลังมาเลี้ยงบนใบหม่อนที่มีอายุ 2-3 สัปดาห์ ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้พู่กันขนาดเล็กเขี่ยไรแดงใส่บนด้านใต้ใบ วางใบหม่อนบนสำลีซึ่งอยู่ในถาดอะลูมิเนียมหรือพลาสติกขนาด 12 x 12 นิ้ว หล่อน้ำให้ท่วมสำลี นำถาดไปวางบนชั้นที่ใช้หลอดฟลูออเรสเซนส์ให้แสงนาน 9 ชั่วโมงต่อวัน ปล่อยทิ้งให้ไรแดงหม่อนเจริญพันธุ์ขยายประชากรจนใบหม่อนเริ่มเหี่ยว จึงทำการขยายไรแดงหม่อนต่อไปยังใบหม่อนใหม่ โดยตัดใบหม่อนที่เหี่ยวแล้วเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปวางบนใบใหม่

ส่วนการเลี้ยงไรตัวห้ำเพื่อเป็นแม่พันธุ์ ทำการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกับการเลี้ยงไรแดงหม่อน โดยเขี่ยไรตัวห้ำ *A. longispinosus* ลงบนใบหม่อนที่มีไรแดงหม่อนอยู่เต็มแล้ว ด้วยวิธีการนี้ไรตัวห้ำจะสามารถขยายจำนวนประชากรได้โดยปริมาณประชากรจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอาหารและสภาพใบหม่อน วิธีการเปลี่ยนจากใบที่อาหารหมดหรือเหี่ยวเฉาไปยังใบใหม่ ใช้วิธีการตัดใบเก่าที่มีไรตัวห้ำอยู่เต็มแล้วไปวางทาบบนใบใหม่ที่มีอาหารอยู่เต็ม ให้ไรตัวห้ำเติมลงไปกินอาหารบนใบใหม่เอง ซึ่งใบเก่า 1 ใบ สามารถขยายต่อไปยังใบใหม่ได้ 3-4 ใบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณไรตัวห้ำและไรอาหารบนใบหม่อน

2. วิธีการเลี้ยงขยายไรแดงหม่อนให้ได้ปริมาณมากบนต้นถั่ว

ขั้นตอนนี้จะปฏิบัติการในเรือนเพาะชำที่มีหลังคาใสป้องกันฝน และมุ้งตาข่ายด้านข้างเพื่อป้องกันแมลงศัตรูพืช ใช้เมล็ดถั่วพุ่มหรือถั่วเขียวผิวมันชนิดใดชนิดหนึ่งปลูกในดินผสมปุ๋ยคอก ซึ่งบรรจุในถุงเพาะชำขนาด 22 x 42 เซนติเมตร จำนวน 30 เมล็ดต่อถุง นำถุงเหล่านั้นใส่ในตะกร้าตะกร้าละ 6 ถุง จะได้ถั่วทั้งสิ้น 180 ต้นต่อตะกร้า วางตะกร้าบนขาตั้งและหล่อน้ำเพื่อป้องกันมดซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญของไรแดงหม่อน วิธีการเพาะปลูกถั่วในตะกร้านี้จะทำให้สะดวกในการเคลื่อนย้ายต้นถั่วและดูแลรักษา เมื่อต้นถั่วอายุ 2-3 สัปดาห์ ใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยวิทยาศาสตร์สูตร 16-16-16 เพื่อบำรุงให้ต้นถั่วแข็งแรง

เมื่อถั่วอายุได้ 3 สัปดาห์ จึงนำไรแดงหม่อนที่เป็นแม่พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงไว้มาปล่อยขยายบนต้นถั่ว โดยใช้แว่นขยายนับไรแดงบนใบหม่อนอย่างคร่าว ๆ ประมาณ 700 – 800 ตัว จากนั้นตัดแบ่งใบหม่อนเป็นชิ้นเล็ก ๆ วางทาบลงบนใบถั่วให้กระจายทั่วตะกร้า ซึ่งเฉลี่ยแล้วต้นถั่ว 1 ต้น จะมีไรประมาณ 3-4 ตัว ปล่อยให้ไรแดงหม่อนขยายจำนวนประชากรบนต้นถั่วประมาณ 2 สัปดาห์ ซึ่งพบว่าเป็นระยะเวลาที่ไรแดงหม่อนขยายพันธุ์ได้มากที่สุด คือ ประมาณ 130,000 ตัวต่อตะกร้า จากนั้นจึงตัดใบถั่วเก็บไรแดงหม่อนไปใช้เลี้ยงไรตัวห้ำต่อไป

3. การเลี้ยงขยายไรตัวห้ำให้ได้เป็นปริมาณมากบนต้นถั่ว

ทำการเลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำเช่นกัน แต่จะต้องแยกออกจากโรงเรือนเพาะเลี้ยงไรอาหารเพื่อป้องกันมิให้ไรตัวห้ำเข้าไปเป็นอุปสรรคในการผลิตไรอาหาร ขั้นตอนการเลี้ยงขยายเริ่มจากการปลูกถั่วพุ่มหรือถั่วเขียวผิวมันในถุงเพาะชำ โดยวิธีการเช่นเดียวกับการปลูกถั่วเพื่อเพาะเลี้ยงไรแดงหม่อน เมื่อถั่วมีอายุได้ 3 สัปดาห์ จึงเริ่มนำไปใช้เลี้ยงขยายไรตัวห้ำ โดยนำไรแดงหม่อนปล่อยลงบนต้นถั่วจำนวน 1,000 ตัวต่อตะกร้า จากนั้นนำไรตัวห้ำที่

กรมวิชาการเกษตร

เป็นแม่พันธุ์ปล่อยตามลงไปประมาณ 25-50 ตัวต่อตะกร้า ซึ่งคิดเป็นอัตราไรตัวห้ำต่อไรแดงหม่อน (อาหาร) ประมาณ 1:20 – 1:40 ปล่อยให้ไรตัวห้ำขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จึงนำไรตัวห้ำไปใช้ ซึ่งในเวลาดังกล่าวจะได้ไรตัวห้ำ ประมาณ 17 ตัวต่อใบถั่วหนึ่งใบ หรือประมาณ 27,500 ตัวต่อถั่วหนึ่งตะกร้า อนึ่ง ในการผลิตไรตัวห้ำให้ได้ปริมาณมากจำเป็นต้องมีการปลูกถั่ว เพื่อขยายไรอาหารอย่างต่อเนื่องและต้องให้เวลาสอดคล้องกับการปลูกถั่วเพื่อเลี้ยงขยายไรตัวห้ำด้วย

การทดลองที่ 6.4 การใช้มวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัส *Cardiastethus exiguus* Poppius) ในการควบคุม แมลงศัตรูกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเลี้ยงมวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัส *C. exiguus* เพื่อใช้ในการศึกษา

เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยนำมวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัส ระยะตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ระยะละ 50 ตัว เลี้ยงในกล่องพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 9.5x14.5x5.5 เซนติเมตร ใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* เป็นอาหาร จำนวน 0.5 กรัมต่อกล่อง โดยให้อาหารสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ตัดกระดาษชำระขนาด 8x10 เซนติเมตร จำนวน 5 แผ่น ใส่ลงในกล่องเพื่อให้มวนตัวห้ำวางไข่บนกระดาษ เพื่อเพาะเลี้ยงให้เพียงพอเพื่อนำไปใช้ในการทดลอง

2. เตรียมไข่ผีเสื้อข้าวสาร *C. cephalonica* ที่เป็นอาหารสำหรับมวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัส

เลี้ยงผีเสื้อข้าวสาร ด้วยรำข้าวที่อบด้วยสารฟอสฟีนเพื่อฆ่าแมลง นาน 5-7 วัน นำรำข้าวที่ผ่านการอบใส่กล่องพลาสติก (20x30x10 เซนติเมตร) โรยไข่ของผีเสื้อข้าวสารให้ทั่วใน อัตราไข่ 0.1 กรัม (ประมาณ 2,000+106 ฟอง) ปิดผากล่องแล้วนำมาเลี้ยงบนชั้นเลี้ยงแมลง เลี้ยงจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย (อายุ 30-40 วัน) แยกตัวเต็มวัยผีเสื้อข้าวสารมาเลี้ยงในถุง ผ้าไนลอนแล้วนำไปแขวนบนชั้นในแนวดิ่ง ด้านล่างมีถาดรองรับไข่ที่ร่วง เก็บรวบรวมไข่ผีเสื้อข้าวสารที่ได้มา ร่อนทำความสะอาด จากนั้นนำไปยูวีด้วยแสง นาน 20 นาที เพื่อป้องกันไข่ฟักออกมาเป็นตัวหนอน จากนั้นนำไปใช้ในการเลี้ยงมวนตัวห้ำเอ็กซีกูอัสต่อไป

การทดลองที่ 6.5 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชในกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในสภาพห้องปฏิบัติการ

1. วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1	เชื้อราโรคแมลง	ไอโซเลท 1 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 2	เชื้อราโรคแมลง	ไอโซเลท 2 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 3	เชื้อราโรคแมลง	ไอโซเลท 3 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 4	เชื้อราโรคแมลง	ไอโซเลท 4 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.
กรรมวิธีที่ 5	เชื้อราโรคแมลง	ไอโซเลท 5 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราโรคแมลง ไอโซเลท 6 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราโรคแมลง ไอโซเลท 7 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราโรคแมลง ไอโซเลท 8 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 9 เชื้อราโรคแมลง ไอโซเลท 9 เข้มข้น 1 x 10^8 โคนิเดีย/มล.

กรรมวิธีที่ 10 น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง โดยเลี้ยงเชื้อราโรคแมลง จำนวน 9 ไอโซเลท บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงตัดชิ้นวุ้น PDA ที่เลี้ยงเชื้อราโรคแมลง ขนาด 1 x 1 ซ.ม. ใส่ลงในถุงอาหารข้าวโพดบดหยาบ คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3°ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำเชื้อราโรคแมลงที่จะใช้ทดสอบแต่ละกรรมวิธีมาผสมน้ำและสารจับใบ เพื่อเตรียมทดสอบ

3. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

3.1 ตัดใบหม่อนเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. จำนวน 4 ใบ วางบนจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. ที่รองด้วยสำลีชุบน้ำ จากนั้นเขี่ยตัวเต็มวัยลงบนใบหม่อน 10 ตัว/ใบ ทดสอบ 4 ซ้ำๆ ละ 2 จาน

3.2 นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราโรคแมลงที่เตรียมไว้ในแต่ละกรรมวิธีพ่นลงบนใบหม่อน

3.3 สังเกตการเป็นโรคของไรศัตรูพืช ตรวจนับจำนวนไรศัตรูพืชทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน หรือจนกว่าตัวเต็มวัยจะตาย

4. การบันทึกข้อมูล

- จำนวนตัวเต็มวัยไรศัตรูพืชที่ตายและติดเชื้อราโรคแมลง

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ศึกษาชนิดและอัตราของเชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมไรศัตรูพืชของกัญชาในห้องปฏิบัติการ

1. วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราโรคแมลง unknown 1 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราโรคแมลง unknown 1 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราโรคแมลง unknown 1 อัตรา 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราโรคแมลง unknown 2 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราโรคแมลง unknown 2 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราโรคแมลง unknown 2 อัตรา 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราโรคแมลง unknown 3 อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราโรคแมลง unknown 3 อัตรา 400 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 9 เชื้อราโรคแมลง unknown 3 อัตรา 600 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 10 น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราโรคแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 จำนวน 3 ไอโซเลท เลี้ยงขยายบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 200 กรัม เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงตัดชิ้นวุ้น PDA ที่เลี้ยงเชื้อราโรคแมลง ขนาด 1 x 1 ซ.ม. ใส่ลงในถุงอาหารข้าวโพดบดหยาบ คลุกให้เชื้อกระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 3°ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำเชื้อราโรคแมลงที่จะใช้ทดสอบแต่ละกรรมวิธีมาผสมน้ำและสารจับใบ เพื่อเตรียมทดสอบ

3. การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

3.1 ตัดใบหม่อนเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. จำนวน 4 ใบ วางบนจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. ที่รองด้วยสำลีชุบน้ำ จากนั้นเขี่ยตัวเต็มวัยลงบนใบหม่อน 10 ตัว/ใบ ทดสอบ 4 ซ้ำ ๆ ละ 2 จาน

3.2 นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราโรคแมลงที่เตรียมไว้ในแต่ละกรรมวิธีพ่นลงบนใบหม่อน

3.3 สังเกตการเป็นโรคของไรศัตรูพืช ทำการตรวจนับไรศัตรูพืชทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน หรือจนกว่าตัวเต็มวัยจะตาย

4. การบันทึกข้อมูล

- จำนวนตัวเต็มวัยไรศัตรูพืชที่ตายและติดเชื้อราโรคแมลง

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีการทางสถิติที่เหมาะสม

กิจกรรมที่ 7 เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวกัญชา

การทดลองที่ 7.1 ศึกษาวิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างใบและดอกกัญชา จากแหล่งปลูกที่ได้รับอนุญาต และเก็บข้อมูลเริ่มต้น (ความชื้น ปริมาณสาร THC และ CBD) ก่อนนำไปลดความชื้น

2. ลดความชื้นตัวอย่างกัญชา ให้เหลือ 10-12% ตามกรรมวิธี โดยวางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 5 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ลดความชื้นด้วยแสงแดด (sun drying)

กรรมวิธีที่ 2 อบในตู้อบลมร้อน 30 °C

กรรมวิธีที่ 3 อบในตู้อบลมร้อน 40 °C

กรรมวิธีที่ 4 อบในตู้อบลมร้อน 50 °C

กรรมวิธีที่ 5 อบในตู้อบลมร้อน 60 °C

กรมวิชาการเกษตร

3. บันทึกข้อมูลระยะเวลาในการอบ และปริมาณความชื้นสุดท้ายหลังการอบ

4. นำตัวอย่างกัญชามาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ (น้ำ เมทานอล เอทานอล และเฮกเซน)

5. ตรวจสอบปริมาณสารสำคัญในกัญชาหลังการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

การทดลองที่ 7.2 บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อการรักษาปริมาณสารสำคัญในกัญชา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างใบ และดอกกัญชา จากแหล่งปลูกที่ได้รับอนุญาตอย่างถูกต้องตามกฎหมาย และเก็บข้อมูลเริ่มต้น (ความชื้น ปริมาณสาร THC และ CBD) ก่อนนำไปลดความชื้น

2. ลดความชื้นตัวอย่างกัญชา ให้เหลือ 10-12% ตามกรรมวิธี โดยวางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 5 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ลดความชื้นด้วยแสงแดด (sun drying)

กรรมวิธีที่ 2 อบในตู้อบลมร้อน 30 °C

กรรมวิธีที่ 3 อบในตู้อบลมร้อน 40 °C

กรรมวิธีที่ 4 อบในตู้อบลมร้อน 50 °C

กรรมวิธีที่ 5 อบในตู้อบลมร้อน 60 °C

3. บันทึกข้อมูลระยะเวลาในการอบ และปริมาณความชื้นสุดท้ายหลังการอบ

4. นำตัวอย่างกัญชามาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ (น้ำ เมทานอล เอทานอล และเฮกเซน)

5. ตรวจสอบปริมาณสารสำคัญในกัญชาหลังการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

<u>โครงการย่อยที่ 2</u> วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชกระท่อมใเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

<u>กิจกรรมที่ 1</u> ศึกษาสายพันธุ์กระท่อมที่ให้ปริมาณสารสำคัญสูงและการขยายพันธุ์กระท่อม เพื่อรองรับการความต้องการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

การทดลองที่ 1.1 การรวบรวมและคัดเลือกกระท่อมจากแหล่งธรรมชาติในพื้นที่ภาคใต้ (ปี 2565)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับแหล่งกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ จากคนในพื้นที่และเจ้าหน้าที่อุทยานแห่งชาติ

2. สำรวจและบันทึกลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ถ่ายภาพกระท่อมที่คัดเลือก บันทึกข้อมูลสภาพแวดล้อมที่กระท่อมเจริญเติบโต ตลอดจนการนำไปใช้ประโยชน์ของคนในพื้นที่

3. กำหนดรหัสต้นพันธุ์ที่คัดเลือก ก่อนนำไปเสียบยอดกับต้นตอที่เตรียมไว้

4. เตรียมต้นตอจากเมล็ด

5. นำยอดพันธุ์ดีที่คัดเลือก มาเสียบยอดต้นตอที่เตรียมไว้

6. ปลูกสร้างแปลงรวบรวมพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ในการปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ต่อไป

7. การบันทึกข้อมูล

กรมวิชาการเกษตร

- บันทึกข้อมูลสภาพการเจริญเติบโตของกระท่อมในต้นที่เก็บตัวอย่าง
- บันทึกข้อมูลและถ่ายภาพลักษณะของต้นที่ทำการเก็บตัวอย่าง

การทดลองที่ 1.2 การเปรียบเทียบสายต้นกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ที่ให้สารสำคัญสูง สำหรับใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ (ปี 2565-2567)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. คัดเลือกสายต้นกระท่อมที่มีลักษณะเด่นจากการสอบถาม คือ เมื่อบริโภคแล้วสามารถทำงานได้เป็นเวลานานขึ้น คาดการณ์ว่าน่าจะมีสารสำคัญสูง จำนวนอย่างน้อย 10 สายต้น

2. เตรียมต้นตอจากเมล็ด และนำสายต้นที่ปลูกทดสอบมาเสียบยอดและอนุบาลไว้ 1 เดือนหรือจนต้นแข็งแรง และนำมาปลูกเปรียบเทียบตามกรรมวิธีที่วางแผนการทดลองไว้

3. เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต และข้อมูลอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

4. วิเคราะห์สาร Mitragynine เมื่อต้นกระท่อมอายุ 1, 1.5, 2 และ 2.5 ปี

5. การบันทึกข้อมูล

5.1) การเจริญเติบโต

- วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นจากระดับเหนือรอยเสียบยอด 15 เซนติเมตร
- วัดการเจริญเติบโตของกระท่อมทุกเดือน

5.2) โรคและแมลง

- ชนิดและลักษณะอาการ ส่วนที่เป็น/ถูกทำลาย

5.3) ข้อมูลอุตุนิยมวิทยา เช่น ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์

7. วิเคราะห์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1.3 การจำแนกพันธุ์กระท่อมจากสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม (ปี 2565)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สำรวจข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับกระท่อมจากแหล่งปลูกในพื้นที่จังหวัดชุมพร ระนอง พังงา ภูเก็ต กระบี่ นครศรีธรรมราชและสุราษฎร์ธานี โดยอาศัยข้อมูลจากเกษตรตำบล เกษตรกร และปราชญ์ชาวบ้าน ในพื้นที่เพื่อให้ทราบแหล่งปลูกกระท่อม

2. คัดเลือกสายต้นกระท่อมจากทุกพื้นที่ของภาคใต้ตอนบน กำหนดรหัสสายต้นที่คัดเลือก พร้อมจับพิกัดและบันทึกภาพสภาพแหล่งปลูก

3. เก็บตัวอย่างกิ่งกระท่อมยาวประมาณ 30-45 เซนติเมตรจากปลายกิ่ง สายต้นละ 3-5 กิ่ง เลือกกิ่งที่ไม่เป็นโรคหรือถูกแมลงทำลาย โดยให้มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ ใบ ดอก และผล หากดอกหรือผลหลุดร่วง เก็บดอกหรือผลใส่ซองกระดาษ พร้อมบันทึกวันที่เก็บ ผู้เก็บ และสถานที่เก็บตัวอย่าง โดยติดป้ายที่ตัวอย่างทุกกิ่งที่เก็บ

กรมวิชาการเกษตร

4. อัดตัวอย่างพรรณไม้ โดยนำตัวอย่างจัดเรียงบนกระดาษหนังสือพิมพ์ซึ่งประกบด้วยกระดาษลูกฟูก ตัดแต่งกิ่งและใบส่วนที่เกินออกนอกกระดาษ จัดเรียงให้ใบคว่ำและหงายปะปนกัน ปิดกระดาษหนังสือพิมพ์และกระดาษลูกฟูก ทำการอัดตัวอย่างชิ้นต่อไปเช่นเดียวกับชิ้นแรกจนหมด ไม่ควรซ้อนกันหนาเกินไป ปิดทับด้วยแผงอัดพรรณไม้ทั้งสองด้าน ใช้เชือกมัดหัวท้ายแผงอัดโดยกดให้แน่น นำแผงอัดที่ได้ไปเข้าตู้อบหรือตากแดดให้แห้งทันที เมื่อตัวอย่างแห้งดีแล้วนำตัวอย่างใส่ซองกระดาษและใส่กล่องที่ปิดมิดชิด

5. ศึกษาสัณฐานของใบ ดอก ผล ในห้องปฏิบัติการ บันทึกลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสายต้นกระท่อมและจัดทำคำบรรยายลักษณะพฤกษศาสตร์

6. การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลภาพถ่ายและข้อมูลทางพฤษศาสตร์เบื้องต้นในพื้นที่สำรวจ

การทดลองที่ 1.4 การประเมินลักษณะทางพันธุกรรมและดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับการจำแนกสายพันธุ์กระท่อม (ปี 2565-2567)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับ RNA และ DNA ด้วยเทคโนโลยี NGS

1.1 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับอาร์เอ็นเอด้วยเทคนิค RNA-seq

1.1.1 ตัวอย่างใบกระท่อมจากต้นกล้า จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ กระท่อมสายพันธุ์ก้านเขียว และกระท่อมสายพันธุ์ก้านแดง

1.1.2 สกัดอาร์เอ็นเอรวม

1.1.3 กำจัด rRNA (rRNA removal)

1.1.4 การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายผสม (cDNA synthesis)

1.1.5 นำตัวอย่าง cDNA ที่ได้ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Next Generation Sequencing

1.1.6 นำข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์เบื้องต้น เพื่อค้นหาตำแหน่ง SNPs และตำแหน่ง Ins/Del โดยใช้ชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ SNP/InDel

1.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับดีเอ็นเอด้วยวิธี GBS (Genome by sequencing)

1.2.1 ตัวอย่างใบกระท่อมที่ผ่านการประเมินพันธุ์ อย่างน้อยจำนวน 20 สายต้น

1.2.2 สกัดดีเอ็นรวม

1.2.3 นำตัวอย่างดีเอ็นแอที่ได้ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Next Generation Sequencing

1.2.4 นำข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์เบื้องต้น เพื่อหาตำแหน่ง SNPs และชิ้นส่วนจีโนม (Genome cotig) โดยใช้ชีวสารสนเทศ (bioinformatics) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ SNP/InDel

2. การทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างกระท่อม

ทำการทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างกระท่อมอย่างน้อยจำนวน 10 ตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์จากยีนบนคลอโรพลาสต์จีโนมและนิวเคลียร์จีโนม อย่างน้อย 6

กรมวิชาการเกษตร

ตำแหน่ง เช่น ITS, accD, matK, rpoB, rpoC1, atpF-H, psbK-I, rbc,L rbcLa, trnH-psbA, และ trnL(P6) เป็นต้น เพื่อหาคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ และให้ความหลากหลายของลำดับ นิวคลีโอไทด์มากที่สุด จำนวน 2-4 ตำแหน่ง จึงจะนำมาใช้กับตัวอย่างกระท่อมทั้งหมดต่อไป มีลำดับขั้นตอนดังนี้

2.1 สกัดดีเอ็นของกระท่อม โดยนำใบกระท่อมมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ตามวิธีการในข้อที่ 1.2.2

2.2 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction)

2.3 ตรวจสอบแถบดีเอ็น

2.4 ทำชิ้นส่วนพีซีอาร์ให้บริสุทธิ์ (PCR purification)

2.5 วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ จากตัวอย่างกระท่อม 10 ตัวอย่าง เพิ่มปริมาณยีนด้วยไพร์เมอร์ จำนวน 15 ตำแหน่ง จะได้ตัวอย่างที่จะนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวนทั้งหมด 150 เส้น

2.6 วิเคราะห์ผลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGA7

3. การวิเคราะห์ตำแหน่ง SNPs สำหรับการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด และตำแหน่ง Ins/Del สำหรับการจำแนกชนิด/สายพันธุ์ โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยนำข้อมูลความแตกต่างของทั้งจีโนมในกระท่อมทั้ง 30 สายพันธุ์ ที่ผ่านการกรองข้อมูล ซึ่งเป็นข้อมูลชุดเดียวกับการดำเนินงานในปี 2564 มาวิเคราะห์การจัดกลุ่มโดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมโดยวิธี genetic distance และวาดเป็นรูปแผนภูมิต้นไม้ด้วยโปรแกรม Tree view รวมทั้งวิเคราะห์โครงสร้างประชากรด้วยโปรแกรม STRUCTURE (Pritchard *et al*., 2000; Falush *et al*., 2003) โดยใช้ค่า burn-in length เท่ากับ 10,000 และค่า run length (Markov Chain Monte Carlo: MCMC) เท่ากับ 100,000 ตั้งค่าจำนวนประชากรตั้งแต่ 1 ถึง 10 และให้โปรแกรมวิเคราะห์ซ้ำเป็นจำนวน 10 ซ้ำ โดยใช้ชนิดหุ่นจำลองของ admixture และ correlated allele frequencies

จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่ง SNP และ Ins/Del ที่ได้กับลักษณะประจำพันธุ์ ด้วยวิธี Mixed linear model (MLM) โดยโปรแกรม TASSEL (WWW.maizegenetics.net/tassel) แล้วนำตำแหน่ง SNPs และ Ins/Del มาออกแบบ สังเคราะห์ และทดสอบไพรเมอร์ที่ได้จากการวิเคราะห์ เบื้องต้น กับตัวอย่างดีเอ็นเอของกระท่อมด้วยวิธีพีซีอาร์

4. การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยนำตัวอย่างกระท่อมที่เก็บรวบรวมไว้ทั้งหมด มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์โดยใช้ยีนที่เหมาะสมจำนวน 4 ยีน โดยมีขั้นตอนและวิธีการเช่นเดียวกันกับข้อ 2 ดังนี้

5. พัฒนาวิธีการตรวจสอบและจำแนกชนิดและ/หรือสายพันธุ์กระท่อมอย่างง่ายและรวดเร็ว โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอจากตำแหน่ง SNPs และ Ins/Del ที่วิเคราะห์ได้

6. จัดเก็บข้อมูลพันธุกรรมของกระท่อมบนเว็บไซต์หน่วยงานกรมวิชาการเกษตร และการลงทะเบียนดีเอ็นเอบาร์โค้ดกับฐานข้อมูล NCBI เพื่อนำหมายเลข accession มาประกอบในการจัดทำข้อมูลพันธุกรรมของกระท่อม

กรมวิชาการเกษตร

<u>กิจกรรมที่ 2</u> การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของกระท่อมสำหรับใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของพืชกระท่อม (ปี 2565-2567)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาข้อมูลพื้นที่ในการเก็บตัวอย่างดินที่ปลูกกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้

ดำเนินการคัดเลือกพื้นที่ศึกษาโดยพิจารณาข้อมูลดินในสนามร่วมกับการใช้แผนที่ดิน มาตราส่วน 1: 100,000 ของกรมพัฒนาที่ดิน (กองสำรวจดิน, 2516) และแผนที่สภาพภูมิประเทศมาตรา ส่วน 1: 50,000 ของกรมแผนที่ทหาร (กรมแผนที่ทหาร, 2540) ร่วมกับบันทึกข้อมูลสภาพภูมิอากาศ เพื่อคัดเลือกพื้นที่การแพร่กระจายของกระท่อมที่ต่างกัน จำนวน 7 จังหวัดๆ จังหวัดละไม่น้อยกว่า 5 แหล่งปลูก รวมทั้งสิ้นไม่น้อยกว่า 35 ตัวอย่าง

2. การปฏิบัติงานภาคสนามและเก็บตัวอย่างดิน

2.1 ศึกษาสภาพแวดล้อมเชิงพื้นที่และลักษณะของดินในภาคสนาม ศึกษาและบันทึกข้อมูลดินในสนาม ประกอบด้วย ศึกษาสภาพแวดล้อมของดิน ได้แก่ ตำแหน่งพิกัดทางภูมิศาสตร์ ระดับความสูงของพื้นที่ ลักษณะสภาพภูมิประเทศ ความลาดชัน และสภาพพืชพรรณของแปลงปลูกรวมทั้งข้อมูลการจัดการดินในแปลงในช่วง 2 ปีที่ผ่านมาโดยการ สอบถาม และศึกษาลักษณะของดินบนโดยใช้เครื่องมือสำรวจดินภาคสนามขุดดินเป็นหลุมลึกไม่น้อยกว่า 50 เซนติเมตรจากผิวหน้าดิน บันทึกโครงสร้างดินของชั้นผิวดินตามวิธีการศึกษาสัณฐานวิทยาของดินในภาคสนาม (เอิบ, 2547)

2.2 การเก็บตัวอย่างดิน เก็บตัวอย่างดินในบริเวณที่ปลูกกระท่อม เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติดินทางกายภาพและเคมีในห้องปฏิบัติการ โดยแบ่งเก็บเป็น 3 ช่วงระดับความลึก คือ ชั้นดินบน (Ap) แบ่งเป็นความลึก 0-10 (ชั้น ผิวดิน) และ 10-25 และชั้นดินล่าง (Bt) 25-50 เซนติเมตร และเก็บตัวอย่างดินเป็น 3 แบบ ได้แก่

- ตัวอย่างดินที่ถูกรบกวน โดยเก็บต้นละ 4 จุด (สุ่มแบบ X-Shape) รอบทรงพุ่ม นำดินแต่ละจุดคลุกเคล้ากัน แบ่งดินมาบางส่วนเพื่อเป็นตัวแทนของแต่ละแปลง สำหรับนำไปศึกษาสมบัติทางกายภาพ และทางเคมี

- ตัวอย่างดินสภาพธรรมชาติ เก็บต้นละ 2 จุด โดยใช้กระบอกเก็บตัวอย่าง (core) เพื่อศึกษาค่าสัมประสิทธิ์การนาน้ำของดินที่อิ่มตัว (saturated hydraulic conductivity) ความหนาแน่นรวม (bulk density) ความจุในการอุ้มน้ำของดิน (water holding capacity)

- การเก็บตัวอย่างดิน เพื่อจัดทำแบบจำลองหน้าตัดดิน (soil profile) โดยใช้วิธีการทำคำบรรยายหน้าตัดดินแบบสากลทางด้านปฐพีวิทยา

3. การเตรียมตัวอย่างดินและการวิเคราะห์ดินทางกายภาพและเคมี

นำตัวอย่างดินที่ถูกรบกวนมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นเตรียมตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ โดยการร่อนดินผ่านตะแกรง 3 แบบ ได้แก่

กรมวิชาการเกษตร

3.1 ร่อนผ่านตะแกรงขนาดช่องเปิด 2 มม. นำไปวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน (soil pH) โดยใช้น้ำในอัตราส่วนดินต่อน้ำเท่ากับ 1:5 (จำเป็น และจักรกฤษณ์, 2555) การกระจายของอนุภาคดิน (particle size distribution) โดยวิธี Pipette method (Gee and Bauder, 1986) ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ นำมาแจกแจง ประเภทของดิน (soil textural class) โดยการเปรียบเทียบกับชนิดดินตามเกณฑ์ของกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกา (USDA textural class) (Soil Survey Staff, 2006) และความหนาแน่นอนุภาค (particle density) (Blake and Hartge, 1986b) และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยวิธี Kjeldahl วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โดยวิธี Bray II วิเคราะห์โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สกัดได้ โดยการสกัดด้วย Ammonium acetate 1N pH7

3.2 ร่อนผ่านตะแกรงขนาดช่องเปิด 0.5 มม. นำไปหาอินทรียวัตถุ (organic matter) โดย วิเคราะห์คาร์บอนอินทรีย์โดยวิธี Walkley and Black (จำเป็น และจักรกฤษณ์, 2555)

นำตัวอย่างดินสภาพธรรมชาติมาศึกษา ค่าสัมประสิทธิ์การนำน้ำของดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำโดยวิธี Falling head method (Klute and Dirksen, 1986) ความหนาแน่นรวม (bulk density) โดยวิธี core method (Blake and Hartge, 1986a)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระท่อม

4.2 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดินต่อการแพร่กระจายของกระท่อม และความแตกต่างของสายต้นกระท่อม

5. การบันทึกข้อมูล

5.1 บันทึกข้อมูลกายภาพและเคมีของดินในภาคสนาม

5.2 บันทึกสภาพการเจริญเติบโตของกระท่อมในต้นที่เก็บตัวอย่าง

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาความเข้มข้นของธาตุอาหารต่อการสร้างสารสำคัญในใบกระท่อม (ปี 2565)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างใบกระท่อมที่อายุ 1, 3, 5, 10, 15 ปี จำนวนปีละอย่างน้อย 5 ต้น จากแหล่งปลูกในพื้นที่ภาคใต้ โดยเก็บใบคู่ที่ 3 4 5 จากยอด รอบทรงพุ่ม (4 ด้าน) นำมารวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่างตามตำแหน่งใบ

2. การวิเคราะห์ใบห้องปฏิบัติการ

2.1 นำตัวอย่างใบวิเคราะห์ปริมาณสาร Mitragynine

2.2 นำตัวอย่างใบวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร N P K Ca Mg S Fe Mn Zn และ Cu

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างธาตุอาหารในใบและปริมาณสารสำคัญ

3.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งใบต่อปริมาณธาตุอาหารและสารสารสำคัญ

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.3 การจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพผลผลิตกระท่อม (ปี 2566-2567)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เตรียมต้นกล้ากระท่อมสำหรับใช้ในการทดลอง

2. การเตรียมแปลงปลูกทดลอง จำนวน 3 ไร่ โดยไถพรวนดิน และเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์สมบัติดินและปริมาณธาตุอาหารก่อนการทดลอง รวมทั้งวางระบบน้ำ

3. การเตรียมต้นพันธุ์กระท่อมที่มีอายุ 6 เดือนขึ้นไป และมีขนาดใกล้เคียงกัน

4. การปลูก โดยใช้ระยะปลูก 3 x 3 เมตร ขุดหลุมปลูกขนาด 50 X 50 X 50 เซนติเมตร ก่อนปลูกรองก้นหลุมด้วยปุ๋ยคอก อัตรา 5 กิโลกรัมต่อหลุม

5. วางแผนการทดลองแบบ RCB 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี (Control 1)

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 15-15-15 อัตรา 2 กก./ต้น/ปี (Control 2)

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยผสมที่มีธาตุ N P K ในอัตราเท่ากับอัตราประเมิน (จากการทดลอง 2.2)

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยผสมที่มีธาตุ N P K ในอัตราน้อยกว่าอัตราประเมิน 25 %

กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยผสมที่มีธาตุ N P K ในอัตรามากกว่าอัตราประเมิน 25 %

กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยผสมที่มีธาตุ N P K ในอัตรามากกว่าอัตราประเมิน 50 %

6. หลังปลูกกระท่อม 1 เดือน ใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ โดยแบ่งใส่ 3 ครั้ง/ปี และดูแลรักษาต้นกระท่อม เช่น การให้น้ำ การกำจัดวัชพืช การกำจัดโรคและแมลงเหมือนกันทุกกรรมวิธี

7. การวัดการเจริญเติบโตของกระท่อมในแปลงทดลองทุกเดือน ได้แก่ ความสูงลำต้น เส้นรอบวงลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม ความยาวยอด ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนใบ เป็นต้น

8. การเก็บตัวอย่างใบกระท่อมอายุครบ 1 ปี หลังปลูก โดยตำแหน่งใบที่เก็บตัวอย่างจากผลการทดลองที่ 2.2) โดยเก็บรอบทรงพุ่ม (4 ด้าน) นำมารวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่าง

9. วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร และสารสำคัญในห้องปฏิบัติการ

10. วิเคราะห์ข้อมูลข้อมูลทางสถิติ

11. การบันทึกข้อมูล

- บันทึกการปฏิบัติการภายในแปลงทดลอง
- บันทึกการเจริญเติบโต
- บันทึกปริมาณน้ำฝนและจำนวนวันที่ฝนตก

กรมวิชาการเกษตร

การทดสองที่ 2.4 การศึกษารูปแบบการตัดแต่งกิ่งกระท่อมที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตและการเก็บเกี่ยว (ปี 2565-2567)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เตรียมต้นกล้ากระท่อมสำหรับใช้ในการทดลอง

2. การเตรียมแปลงปลูกทดลอง จำนวน 3 ไร่ โดยไถพรวนดิน และเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์สมบัติดินและปริมาณธาตุอาหารก่อนการทดลอง รวมทั้งวางระบบน้ำ

3. การเตรียมต้นพันธุ์กระท่อมที่มีอายุ 6 เดือนขึ้นไป และมีขนาดใกล้เคียงกัน

4. วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่มีการตัดแต่งกิ่ง (Control)

กรรมวิธีที่ 2 ตัดแต่งกิ่ง โดยให้เหลือกิ่งข้าง (ชุดที่ 1) 3 กิ่ง โดยตัดแต่งให้มีความยาวไม่เกิน 50 เซนติเมตร และไว้กิ่งที่ออกจากกิ่งข้าง (ชุดที่ 2) จำนวน 4 กิ่ง โดยควบคุมระยะทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร และความสูงไม่เกิน 150 เซนติเมตร

กรรมวิธีที่ 3 ตัดลำต้นที่ความสูง 50 เซนติเมตร จากนั้น 3 เดือนต่อมา ตัดแต่งกิ่งที่ออกจากลำต้นให้เหลือ จำนวน 3 กิ่ง โดยตัด 3 กิ่งที่เหลือให้มีความยาว 50 เซนติเมตร และควบคุมความสูงของทรงพุ่มที่ 80 เซนติเมตร ระยะทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร และเพิ่มความสูงของทรงพุ่มปีละ 30 เซนติเมตร และหยุดความสูงของทรงพุ่มไว้ที่ 150 เซนติเมตร ในปีที่ 3

กรรมวิธีที่ 4 ตัดลำต้นที่ความสูง 50 เซนติเมตร จากนั้น 3 เดือนต่อมา ตัดแต่งกิ่งที่ออกจากลำต้นให้เหลือ จำนวน 3 กิ่ง โดยตัด 3 กิ่งที่เหลือให้มีความยาว 50 เซนติเมตร และควบคุมความสูงของทรงพุ่มที่ 150 เซนติเมตร ระยะทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร

5. การปลูก โดยใช้ระยะปลูก 3 x 3 เมตร ขุดหลุมปลูกขนาด 50 X 50 X 50 เซนติเมตร ก่อนปลูกรองก้นหลุมด้วยปุ๋ยคอก อัตรา 5 กิโลกรัมต่อหลุม

6. ดูแลรักษาต้นกระท่อมเหมือนกันทุกกรรมวิธี

7. ทำการตัดแต่งกิ่งตามกรรมวิธี หลังจากต้นกระท่อมอายุ 6 เดือน

8. เก็บข้อมูลผลผลิตใบกระท่อม โดยนับจำนวนใบและน้ำหนักใบ

9. วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในห้องปฏิบัติการ

10. วิเคราะห์ข้อมูลข้อมูลทางสถิติ

11. การบันทึกข้อมูล

- บันทึกการปฏิบัติการภายในแปลงทดลอง
- บันทึกการเจริญเติบโตและข้อมูลผลผลิต
- บันทึกปริมาณน้ำฝนและจำนวนวันที่ฝนตก

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.5 ศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยาของโรคและแมลงศัตรูกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ (ปี 2565-2567)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคและแมลงกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออก และฝั่งตะวันตก ของต้นกระท่อมระยะเจริญเติบโตต่างๆ โดยทำการสำรวจทุกเดือน

2. ตรวจวินิจฉัยโรคและจำแนกชนิดแมลงศัตรูพืชที่พบ โดยเก็บตัวอย่างและส่งตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิดไปจำแนก ณ สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

3. สำรวจความเสียหายจากการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูกระท่อมที่พบ

4. การบันทึกข้อมูลปริมาณประชากรแมลงศัตรูที่สำคัญในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของกระท่อม ซึ่งมีวิธีการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจนับแมลง ดังนี้

- ระยะใบอ่อน สุ่มสำรวจแมลงและโรคศัตรูพืชแปลงละ 10 ต้นๆ ละ 5 ยอด แต่ละยอดกำหนดความยาวประมาณ 15 เซนติเมตร เลือกยอดที่มีใบอ่อนมากกว่า 5 ใบ
- ระยะใบแก่ สุ่มสำรวจแมลงและโรคศัตรูพืชแปลงละ 10 ต้นๆ ละ 10 ใบ
- ระยะดอก สุ่มสำรวจแมลงและโรคศัตรูพืชแปลงละ 10 ต้นๆ ละ 5 ช่อดอก แต่ละช่อดอกกำหนดความยาวประมาณ 15 เซนติเมตร
- ระยะผลอ่อนและผลแก่ สุ่มสำรวจแมลงและโรคแปลงละ 10 ต้นๆ ละ 10 ผล

ในระยะแตกใบอ่อนและดอก แมลงศัตรูที่มีขนาดเล็กอาจมองเห็นด้วยตาเปล่าไม่ชัดเจน ใช้วิธีเคาะใบและดอกลงบนกระดาษขาว แล้วนับจำนวนแมลง เก็บบันทึกข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

- ชนิดและปริมาณของแมลงศัตรูและศัตรูธรรมชาติ
- ลักษณะการเข้าทำลายและความเสียหายที่เกิดกับพืชของแมลงและโรคศัตรู และประโยชน์ของแมลงศัตรูธรรมชาติแต่ละชนิด

การทดลองที่ 2.6 ศึกษาช่วงระยะเก็บเกี่ยวใบกระท่อมต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสำคัญ (ปี 2566-2567)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บเกี่ยวตัวอย่างตามระยะการพัฒนาของใบ วางแผนการเก็บเกี่ยว 2 ช่วง คือ ฤดูร้อน และฤดูฝน โดยเก็บเกี่ยวจากระยะใบเพสลาด และเก็บเกี่ยวระยะที่ใบมีอายุมากขึ้นทุก ๆ 7 วัน จนถึงระยะใบเพสลาด + 28 วัน ดังนี้

วิธีที่ 1 ตัวอย่างใบกระท่อมที่เก็บเกี่ยวใน ระยะใบเพสลาด

วิธีที่ 2 ตัวอย่างใบกกระท่อมที่เก็บเกี่ยวใน ระยะใบเพสลาด + 7 วัน

วิธีที่ 3 ตัวอย่างใบกกระท่อมที่เก็บเกี่ยวใน ระยะใบเพสลาด + 14 วัน

วิธีที่ 5 ตัวอย่างใบกกระท่อมที่เก็บเกี่ยวใน ระยะใบเพสลาด + 21 วัน

วิธีที่ 6 ตัวอย่างใบกกระท่อมที่เก็บเกี่ยวใน ระยะใบเพสลาด + 28 วัน

2. นำตัวอย่างที่เก็บเกี่ยวแต่ละระยะไปวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ

3. การวิเคราะห์ข้อมูลข้อมูลทางสถิติ

กรมวิชาการเกษตร

4. การบันทึกข้อมูล

- บันทึกระยะของใบที่เก็บเกี่ยว
- ลักษณะของใบที่เก็บเกี่ยว ได้แก่ สี น้ำหนัก ความสดของใบ

การทดลองที่ 2.7 ศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสำคัญสำคัญ (ปี 2566-2567)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เก็บเกี่ยวตัวอย่างตามระยะการพัฒนาของใบ วางแผนการเก็บเกี่ยว 2 ช่วง คือ ฤดูร้อน และฤดูฝน โดยเก็บเกี่ยวจากระยะใบเพสลาด และมีวิธีการเก็บรักษา 2 วิธี คือ 1. ตัวอย่างแบบสด และ

2. ตัวอย่างแบบอบแห้ง

2.1) ดำเนินการจัดเก็บตัวอย่างแบบสดและแบบแห้งสำหรับตัวอย่างของใบกระท่อมที่จะนำมาศึกษาปริมาณสารสำคัญตามขั้นตอนดังนี้

2.1.1) การเก็บตัวอย่างแบบสด แบ่งตัวอย่างบรรจุในถุงพลาสติก (LDPE) โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนเก็บรักษา เก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

2.1.2 การเก็บตัวอย่างแบบอบแห้ง แบ่งตัวอย่างสดบรรจุในซองกระดาษ ชั่งน้ำหนักของตัวอย่างแล้วนำเข้าตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้งสนิท ก่อนนำออกมาบรรจุใส่ถุงซิป แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

3. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษา 6 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 ตัวอย่างใบกระท่อมภายหลังจากการเก็บเกี่ยวทันที (day 0)

ระยะที่ 2 ตัวอย่างใบกระท่อมภายหลังจากการเก็บรักษา 7วัน(day 7)

ระยะที่ 3 ตัวอย่างใบกระท่อมภายหลังจากการเก็บรักษา 14วัน (day 14)

ระยะที่ 5 ตัวอย่างใบกระท่อมภายหลังจากการเก็บรักษา 14วัน (day 21)

ระยะที่ 6 ตัวอย่างใบกระท่อมภายหลังจากการเก็บรักษา 28วัน (day 28)

4. นำตัวอย่างมาวิเคราะห์สารสำคัญภายหลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ

5. การบันทึกข้อมูล

- ลักษณะใบกระท่อมภายหลังการเก็บรักษา ได้แก่ สี น้ำหนัก ความสดของใบ
- ปริมาณสารสำคัญที่ตรวจพบ

3. การปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

☑ ไม่มี ❑ มี ได้รับอนุมัติเมื่อวันที่..... (โปรดแสดงหลักฐานในภาคผนวก)

❑ เปลี่ยนแปลงงบประมาณ โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

❑ เปลี่ยนแปลงวัตถุประสงค์/ผลผลิต โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ผลการดำเนินงานของโครงการ

โครงการวิจัยและพัฒนาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบด้วย 2 โครงการวิจัยย่อย ได้แก่ โครงการย่อยที่ 1 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบด้วย 7 กิจกรรม 15 การทดลอง และโครงการวิจัยย่อยที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบด้วย 2 กิจกรรม 9 การทดลอง มีผลการดำเนินงาน ดังนี้

โครงการย่อยที่ 1 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 1 ศึกษาลักษณะประจำพันธุ์และการจำแนกกัญชาเพื่อรองรับการคุ้มครองพันธุ์พืช

การทดลองที่ 1.1 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาคศาสตร์ และลักษณะประจำพันธุ์ของกัญชา (*Cannabis sativa* L.) พันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์การค้าต่างประเทศ

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือลักษณะประจำพันธุ์ที่สามารถนำมาใช้ในการแบ่งกลุ่มหรือจัดจำแนกสายพันธุ์ของกัญชาพันธุ์พื้นเมืองของไทย จำนวน 5 พันธุ์และกัญชงพันธุ์การค้าจากต่างประเทศ 6 พันธุ์ มีอยู่ด้วยกัน 5 ลักษณะ ได้แก่ ความสูงเฉลี่ยของลำต้น ลักษณะองศาของการแตกกับลำต้น จำนวนเฉลี่ยของการแตกกิ่ง ขนาดความยาวของใบ สีที่ปรากฏบนลำต้น ใบ และใบประดับช่อดอกเพศเมีย เป็นต้น ซึ่งผลจากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาในครั้งนี้สอดคล้องกับ International union for the protection of new varieties of plants (UPOV- CANNB_SAT, 2011) ที่รายงานว่า การจัดจำแนกพันธุ์กัญชาหรือกัญชงสามารถใช้ขนาดหรือความลึกของแฉกใบ สีของใบประดับเพศเมีย ความสูงของต้น หรือลักษณะสัณฐานวิทยาอื่น ๆ เช่น สีของเมล็ด มาใช้ในการจัดจำแนกได้ รวมทั้งสอดคล้องกับการศึกษาของ Raman *et al.* (2017) และ Spitzer-Rimon *et al.* (2019) ที่พบว่า สิ่งปกคลุมบนใบหรือช่อดอก ขนาดความสูงของต้น หรือขนาดของใบ สามารถนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ของกัญชงหรือกัญชาได้

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์นั้น ไม่สามารถนำมาใช้ในการแบ่งกลุ่มหรือจัดจำแนกสายพันธุ์กัญชงหรือกัญชาได้ เนื่องมาจาก ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของทั้งกัญชงและกัญชามีโครงสร้างที่ค่อนข้างคล้ายคลึงกัน ต่างกันเพียงปริมาณความหนาแน่นของต่อมที่สร้างสารในช่วงที่มีการสร้างดอกเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของลิลลี่และคณะ (2549) ที่ได้ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานและกายวิภาคของกัญชงที่ปลูกในประเทศไทย พบว่ากัญชงทุกพันธุ์มีลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ที่คล้ายคลึงกัน ไม่สามารถนำมาใช้ในการแบ่งกลุ่มได้ รวมทั้งสอดคล้องกับ Anderson (1974) และ Raman *et al.* (2017) ที่พบว่าทางกายวิภาคศาสตร์ของกัญชาและกัญชงสามารถแปรผันได้ตามสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาทางพฤกษเคมีของกัญชา (*Cannabis sativa* L.) พันธุ์พื้นเมืองที่และพันธุ์การค้าต่างประเทศ

จากการวิเคราะห์พฤกษเคมีในดอกกัญชา 4 พันธุ์ ได้แก่ Blues Blue's Tune และ Blunami โดยวิธี Liquid Chromatography (LC) อ้างอิงจากวิธีการ TE-CH-418 on Journal of AOAC International ผลการวิเคราะห์สาร CBD และ THC เป็นดังนี้

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์สาร CBD และ THC ในดอกกัญชา 4 พันธุ์ ได้แก่ Blues Blue's Tune และ Blunami โดยวิธี Liquid Chromatography (LC)

สายพันธุ์	**ผลการทดสอบ Cannabinoids**	
	Cannabidiol (CBD) (%w/w)	Tetrahydrocannabinol (THC) (%w/w)
Blues	3.702	0.135
Blue's	5.335	0.192
Blunami	5.569	0.216
Tune	3.447	0.134
2 – 3 (4) พันธุ์ฝอยทอง	0.026	2.115
2 (3) - 7 พันธุ์ฝอยทอง	0.027	1.446
2 (8) – 1 พันธุ์ฝอยทอง	0.035	2.126
2 (8) – 4 พันธุ์ฝอยทอง	0.042	2.571
3 (5) – 7 พันธุ์หางกระรอก	0.029	4.083
3 (5) – 8 พันธุ์หางกระรอก	0.025	4.040
D2 (3) – 5 DOA5	0.031	2.376
D3 (5) – 2 DOA1	0.037	3.844
D3 (5) - 4 DOA1	0.030	4.691
D3 (5) - 5 DOA1	0.030	5.911
D3 (5) - 6 DOA1	0.029	5.112
D3 (8) - 5 DOA3	0.033	6.250
D6 (4) - 7 DOA19	0.015	1.696
D6 (4) - 8 DOA19	0.015	2.440

กรมวิชาการเกษตร

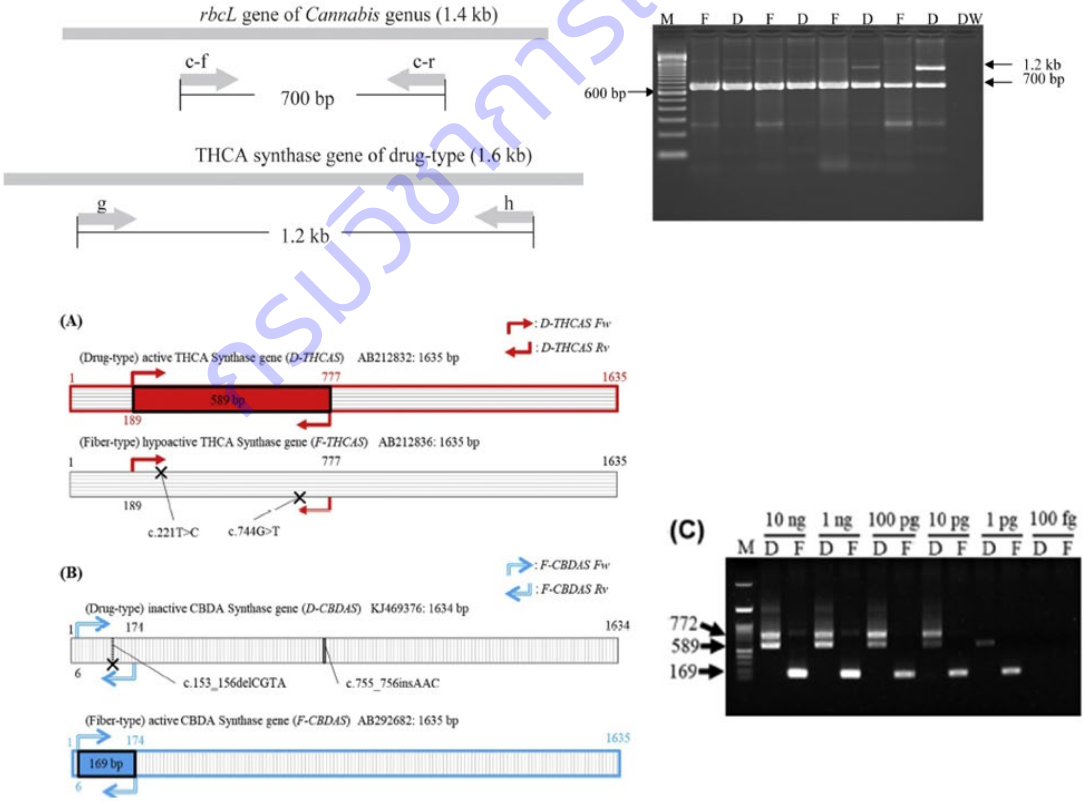
การจำแนกสายพันธุ์พืชสกุลกัญชา ตามลักษณะสารสำคัญ (chemical profile) สามารถแบ่งตามลักษณะของสารสำคัญ คือ สารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (Tetrahydrocannabinol ,THC) และสารแคนนาบิไดออล (Cannabidiol, CBD) ซึ่งประเทศไทยใช้ปริมาณของสาร THC เป็นเกณฑ์ในการจำแนกระหว่างกัญชากับกัญชง ในพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ ฉบับที่ 7 พ.ศ. 2562 โดย กัญชา มีปริมาณสาร THC มากกว่าร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก และกัญชง มีปริมาณสาร THC ไม่เกินร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก

สารแคนนาบินอยด์ เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ความเข้มข้นของสารแคนนาบินอยด์แตกต่างกันไปตามส่วนต่างๆ ของพืช โดยจะพบมากในส่วนดอก จากผลการทดลองเบื้องต้น พบว่า ปริมาณสาร THC ในพืช น้อยกว่าร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก จัดเป็นพืชกัญชง และ THC สูงกว่าร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก จัดเป็นพืชกัญชา นอกจากนี้ข้อมูลสารสำคัญเบื้องต้นยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ได้อีกด้วย ทั้งนี้ต้องอ้างอิงถึงเกณฑ์ที่ได้รับอนุญาตนำไปใช้และความปลอดภัยทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 2 วิจัยยีนและการแสดงออกของยีนสำหรับพัฒนาสายพันธุ์กัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์

การทดลองที่ 2.1 การตรวจสอบยีนบ่งชี้สารสำคัญ THC (delta-9-tetrahydrocannabinol) และCBD (Cannabidiol) เชิงปริมาณในกัญชา

1. จากการการตรวจสอบข้อมูลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD จากฐานข้อมูล ncbi รหัส GeneBank ID KJ469374 (fiber-type CBDAS-cultivar Carmen) รหัส KJ469378 (drug-type THCAS) (Weiblen *et al*., 2015) และฐานข้อมูลวิชาการ พบว่าสามารถตรวจจับตำแหน่งที่มีความต่างกันของกัญชาและกัญชง คือยีน THC ขนาด 1200 คู่เบส และยีนอ้างอิงกัญชา (rbcL gene) ขนาด 700 คู่เบส ที่มีทั้งในกัญชาและกัญชง แต่สำหรับบริเวณของยีน CBD ไม่สามารถแยกกัญชาและกัญชงได้อย่างชัดเจน



ภาพที่ 1 แสดงตำแหน่งของยีน THC (delta-9-tetrahydrocannabinol) ขนาด 1200 คู่เบส ที่มีเฉพาะในกัญชา และยีนอ้างอิงกัญชา (rbcL gene) ขนาด 700 คู่เบส ที่มีทั้งในกัญชาและกัญชง

กรมวิชาการเกษตร

Cannabis sativa clone ABC67 THCA synthase gene, partial cds

>KT876047.1 Cannabis sativa clone ABC67 THCA synthase gene, partial cds
ATGAATTGCTCAGCATTTTCCTTTTGGTTTGTTTGCAAAATAATATTTTTCTTTCTCTCATTCCATATCC
AAATTTCAATAGCTAATCCTCGAGAAAACTTCCTTAAATGCTTCTCAAAACATATTCCCAACAATGTAGC
AAATCCAAAACTCGTATACACTCAACACGACCAATTGTATATGTCTATCCTGAATTCGACAATACAAAAT
CTTAGATTCATCTCTGATACAACCCCAAAACCACTCGTTATTGTCACTCCTTCAAATAACTCCCATATCC
AAGCAACTATTTTATGCTCTAAGAAAGTTGGCTTGCAGATTCGAACTCGAAGCGGTGGCCATGATGCTGA
GGGTATGTCCTACATATCTCAAGTCCCATTTGTTGTAGTAGACTTGAGAAACATGCATTCGATCAAAATA
GATGTTCATAGCCAAACTGCGTGGGTTGAAGCCGGAGCTACCCTTGGAGAAGTTTATTATTGGATCAATG
AGAAGAATGAGAATCTTAGTTTTCCTGGTGGGTATTGCCCTACTGTTGGCGTAGGTGGACACTTTAGTGG
AGGAGGCTATGGAGCATTGATGCGAAATTATGGCCTTGCGGCTGATAATATTATTGATGCACACTTAGTC
AATGTTGATGGAAAAGTTCTAGATCGAAAATCCATGGGAGAAGATCTGTTTTGGGCTATACGTGGTGGTG
GAGGAGAAAACTTTGGAATCATTGCAGCATGGAAAATCAAACTGGTTGCTGTCCCATCAAAGTCTACTAT
ATTCAGTGTTAAAAAGAACATGGAGATACATGGGCTTGTCAAGTTATTTAACAAATGGCAAAATATTGCT
TACAAGTATGACAAAGATTTAGTACTCATGACTCACTTCATAACAAAGAATATTACAGATAATCATGGGA
AGAATAAGACTACAGTACATGGTTACTTCTCTTCAATTTTTCATGGTGGAGTGGATAGTCTAGTCGACTT
GATGAACAAGAGCTTTCCTGAGTTGGGTATTAAAAAAACTGATTGCAAAGAATTTAGCTGGATTGATACA
ACCATCTTCTACAGTGGTGTTGTAAATTTTAACACTGCTAATTTTAAAAAGGAAATTTTGCTTGATAGAT
CAGCTGGGAAGAAGACGGCTTTCTCAATTAAGTTAGACTATGTTAAGAAACCAATTCCAGAAACTGCAAT
GGTCAAAATTTTGGAAAAATTATATGAAGAAGATGTAGGAGCTGGGATGTATGTGTTGTACCCTTACGGT
GGTATAATGGAGGAGATTTCAGAATCAGCAATTCCATTCCCTCATCGAGCTGGAATAATGTATGAACTTT
GGTACACTGCTTCCTGGGAGAAGCAAGAAGATAATGAAAAGCATATAAACTGGGTTCGAAGTGTTTATAA
TTTTACGACTCCTTATGTGTCCCAAAATCCAAGATTGGCGTATCTCAATTATAGGGACCTTGATTTAGGA
AAAACTAATCATGCGAGTCCTAATAATTACACACAAGCACGTATTTGGGGTGAAAAGTATTTTGGTAAAA
ATTTTAACAGGTTAGTTAAGGTGAAAACTAAAGTTGATCCCAATAATTTTTTTAGAAACGAACAAAGTAT
CCCACCTCTTCCACCGCATCATCAT

Cannabis sativa chloroplast partial rbcL gene

>AJ390068.1 Cannabis sativa chloroplast partial rbcL gene
CTAAAGCAAGTGTTGGATTCAAAGCTGGTGTTAAAGATTATAAATTGACTTATTACACTCCGGAATATCA
AACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTTCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCCCCTGAAGAAGCA
GGGGCTGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACTGTATGGACTGATGGGCTTACCAGCC
TTGATCGCTACAAAGGTCGATGCTACCACATCGAGCCCGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATTTATTCGTTA
TGTAGCTTATCCYTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAAT
GTATTTGGGTTCAAGGCCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAAGATTTGAGAATCCCTACTTCTTATACTAAAA
CTTTCCAAGGACCGCCTCATGGGATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAACAAGTATGGTCGCCCACTATT
GGGATGTACTATTAAACCTAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAATTACGGTAGAGCANGTTATGAATGTCTT
CGCGGTGGACTTGATTTTACCAAAGATGATGAGAACGTAAATTCCCAACCATTTATGCGTTGGAGAGACC
GTTTCTTATTTTGTGCAGAAGCAATTTATAAATCACAGTCTGAAACAGGGGAAATCAAAGGACATTACTT
GAATGCTACTGCAGGTACATGTGAAGAAATGATGAAAAGGGCTGTATTTGCCAGAGAATTGGGAGTTCCT
ATCGTAATGCATGATTACTTAACAGGAGGATTCACTGCAAATACTAGTCTGGCTCATTATTGTCGAGATA
ATGGTCTACTTCTTCACATCCACCGTGCAATGCATGCGGTTATTGATAGACAAAAGAATCATGGTATACA
CTTCCGTGTACTAGCTAAAGCGTTACGTATGTYTGGTGGAGATCATATNNATTCAGGTAYTGTRGTAGGT
AAAYTTGAAGGGGAAAGAGAAATTAYTTTAGGYTTTGTTGATTTACTACGTGATGATTTTATTGAAAAAG
ATCGAAGCCGTGGTATTTATTTCACTCAAGATTGGGTCTCTCTACCAGGTGTTMTGCCTGTGGCTTCAGG
GGGTATTCACGTTTGGCATATGCCTGCTTTGACCGAGATCTTTGGAGATGATTCCGTACTACAATTTGGT
GGAGGAACTTTAGGACATCCTTGGGGAAATGCACCCGGTGCTGTCGCTAATCGAGTAGCTCTAGAAGCAT
GTGTACAAGCTCGTAATGAGGGACGTGATCTTGCTCGTGAGGGTAATGAAATTATTCGTGAGGCTTGTAA
ATGGAGTCCTGAACTAGCTGCTGCTTGTGAAGTTTGGAAGGAAATCAAATTTGAATTTGAAGCAATGGAT
ACGTTGTAA

Research Forms

ภาพที่ 2 แสดงลำดับเบสและตำแหน่งไพรเมอร์ของ ยีน THC (delta-9-tetrahydrocannabinol) ขนาด 1200 คู่เบส ที่มีเฉพาะในกัญชาและยีนอ้างอิงกัญชา (rbcL gene) ขนาด 700 คู่เบส ที่มีทั้งในกัญชาและกัญชง

2. การสกัดดีเอ็นเอกัญชา ด้วยวิธีการตามห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สินค้าพืชดัดแปรพันธุกรรม (Roger and Bendich, 1985) ทำการสกัดดีเอ็นเอจากทั้งหมด 20 ตัวอย่าง โดยตรวจวัดปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ MultiskanGO (ThermoFisher Scientific, Finland) ผลการทดสอบการสกัดดีเอ็นเอพบว่า วิธีการสกัดดีเอ็นเอกัญชาด้วยวิธีที่ดัดแปลงตามกรรมวิธีของห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์สินค้าพืชดัดแปลงพันธุกรรมได้ดีเอ็นเอเฉลี่ยมากกว่า 2000 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตรที่ได้ 50 ไมโครลิตร คุณภาพของดีเอ็นเอคำนวณค่า 260/280 เฉลี่ย 1.93±0.13 ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า วิธีการดังกล่าวเหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดดีเอ็นเอกัญชาและกัญชง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นและค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอกัญชาและกัญชง

ชนิดตัวอย่าง	ตัวอย่าง	ซ้ำ	Concentration (ng\/ul)	Ratio A260/280
ใบกัญชา	3(5)	1	2680.24	1.9
		2	3241.88	1.6
		3	2762.45	1.9
	3(8)	1	2175.43	2.0
		2	2108.41	2.0
		3	2364.38	2.0
	4(7)	1	2067.26	2.0
		2	2451.30	2.0
		3	1942.16	2.0
	5(1)	1	1765.24	2.1
		2	1828.22	2.0
		3	2009.66	2.0
	2(3)	1	979.66	2.0
		2	1220.14	2.0
		3	1437.84	2.0
ใบกัญชง	8(2)	1	2467.60	2.0
		2	2121.83	2.0
		3	1683.65	2.0
	C7	1	2106.25	2.0
		2	2631.63	1.9
		3	2607.98	1.9
	7(1)	1	1486.92	2.0
		2	3296.44	1.5
		3	2754.04	2.0
	Flower	1	2078.27	2.0
		2	2974.52	1.9
		3	2921.06	1.9
	Earlg	1	2970.48	1.9
		2	2442.31	2.0
		3	1674.62	2.1
	C6	1	3181.83	1.7
		2	1033.56	2.0
		3	3243.85	1.7

กรมวิชาการเกษตร

3. ทดสอบความจำเพาะของไพร์เมอร์และโพรบกับดีเอ็นที่ของกัญชาด้วยปัจจัยดังต่อไปนี้

ทดสอบความจำเพาะ (Specificity) ของชุดไพร์เมอร์และโพรบที่ออกแบบมา กับตัวอย่างกัญชาและตัวอย่างพืชอื่นๆ เพื่อใช้ในการทดสอบความจำเพาะของปฏิกิริยาด้วยเทคนิค PCR โดย ใช้ความเข้มข้น DNA ของตัวอย่างที่สกัดได้ที่ 100 นาโนกรัม/ไมโครลิตร โดยใช้ Primer 2 คู่ ในการทดสอบ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 3 คู่ไพรเมอร์สำหรับตรวจสอบยีนบ่งชี้สารสำคัญ THC และ CBD และ rbcL

Primer	Specific gene	Nucleotide sequence (5'-3-)	Product size (bp)
คู่ที่ 1	rbcL (Cannabos)	CGCTCTACGTCTGGAAGATTTGAG	700 bp (Cannabis marker)
		CTTGAGTGAAATAAATACCACGGCTTC	
คู่ที่ 2	THCA synthase (drug-type)	AATAACTCCCATATCCAAGCA	1200 bp (drug-type marker)
		AGGACTCGCATGATTAGTTT	

และใช้ปฏิกิริยาสังเคราะห์ดังต่อไปนี้

ปฏิกิริยาในการสังเคราะห์

1) Pre-denaturation 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

2) Three step-cycling 35 cycles

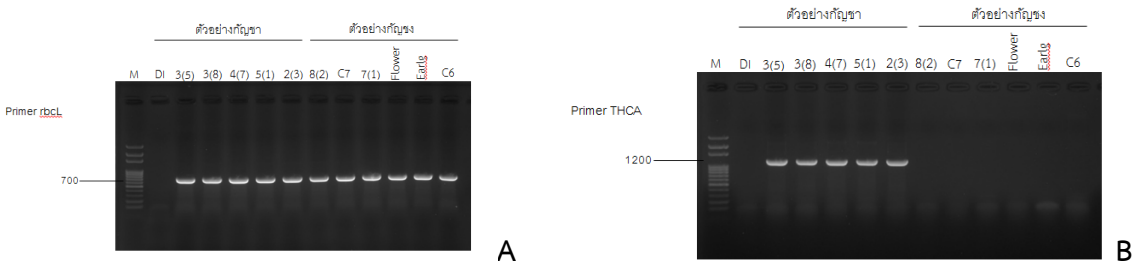
Denaturation 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที

Annealing 58 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที

Extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที

3) Final extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

การทดสอบความจำเพาะ (Specificity) ของชุดไพร์เมอร์ที่ออกแบบ 2 ยีนคือ *THC* (delta-9-tetrahydrocannabinol) และยีนอ้างอิงกัญชา (*rbc*L gene) กับดีเอ็นเอของกัญชาและกัญชง ด้วยเทคนิค PCR พบว่า ไพรเมอร์ของแต่ละยีนมีความจำเพาะต่อการตรวจสอบยีนโดยสามารถตรวจพบยีน *rbc*L ได้ทั้งในกัญชาและกัญชงในขณะที่ยีน *THC* สามารถตรวจพบได้เฉพาะกัญชาเท่านั้น และเมื่อตรวจสอบความจำเพาะเจาะจงของไพรเมอร์จากความถูกต้องของสายพันธุ์ แล้วนำมาหาค่า False negative rate และ False positive rate จากวิธีของ Broeder *et al*., (2014) พบว่า ไพร์เมอร์ที่ใช้มีความจำเพาะและสามารถแยกกัญชาและกัญชงได้ 100 เปอร์เซ็นต์

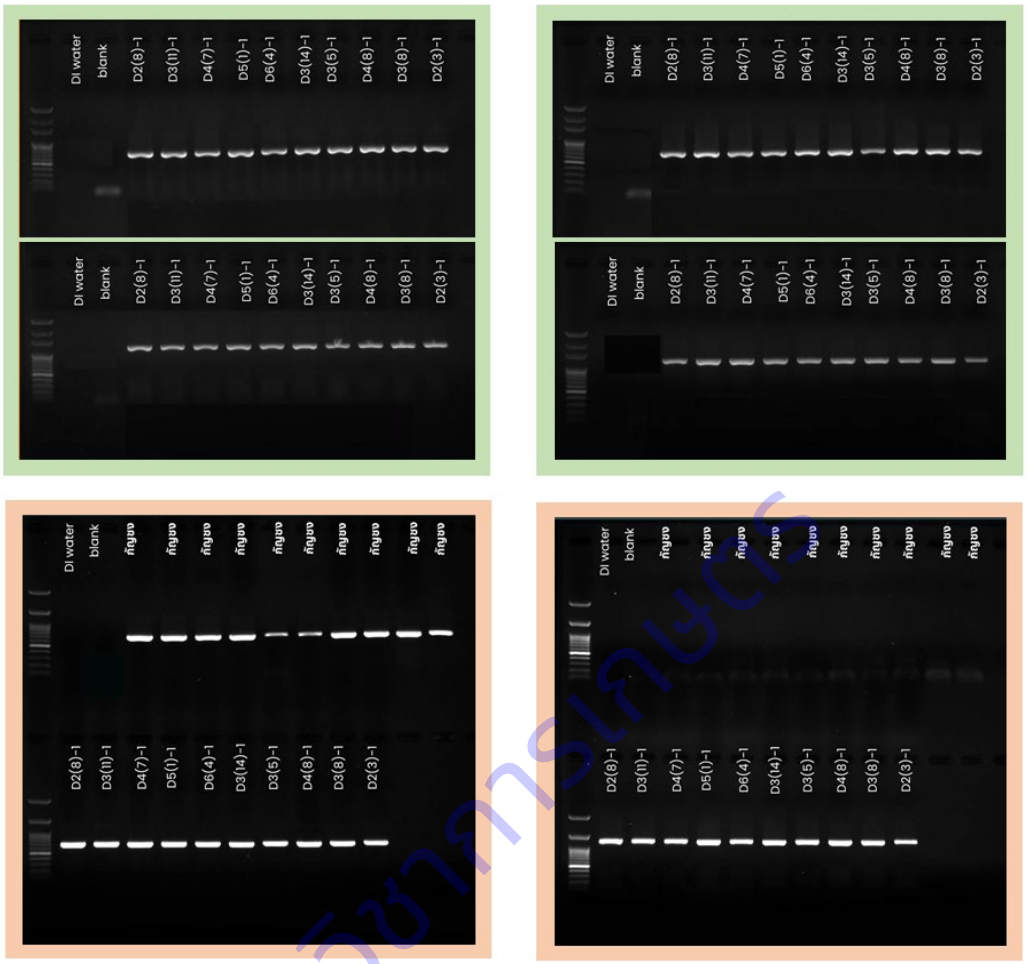


ภาพที่ 3 ผลการตรวจสอบยีน rbcL ขนาด 700 คู่เบส (A) และการตรวจสอบยีน THC (B) ในตัวอย่างกัญชาและกัญชา

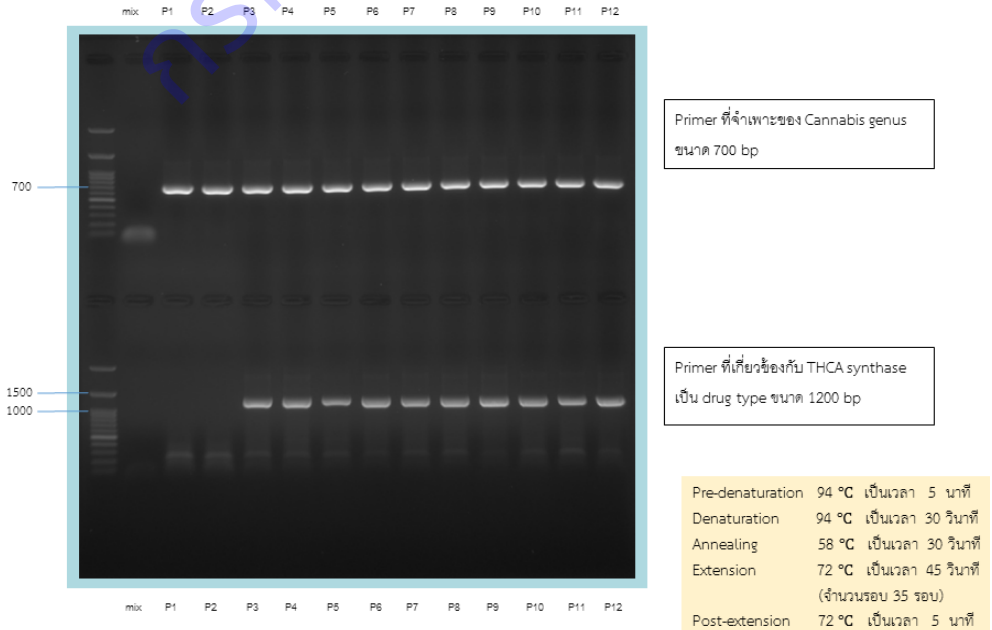
กรมวิชาการเกษตร

หลังจากนั้นดำเนินการทดสอบไพรเมอร์คู่ดังกล่าวในส่วนของชิ้นส่วนพืชที่แตกต่างกัน พบว่า คู่ไพรเมอร์ให้ผลการแยกต้นกัญชาและกัญชงได้ในทุกส่วนของพืช ดังภาพที่ 4

- ส่วนยอดกัญชา
- ส่วนใบกัญชา



การศึกษาความแตกต่างของต้นกัญชา และต้นกัญชง



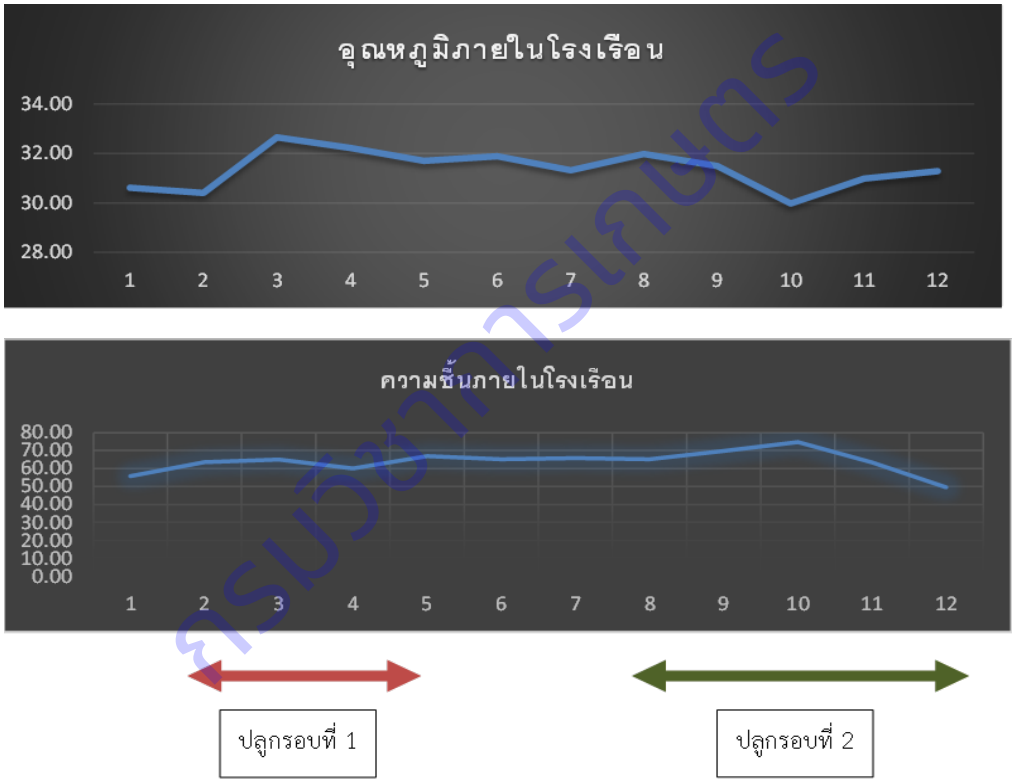
ภาพที่ 4 ผลการตรวจสอบยีน *rbc*L ขนาด 700 คู่เบส และยีน *THC* ในตัวอย่างยอด ต้น และใบกัญชาและกัญชง

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 3 ทดสอบสายพันธุ์กัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือน

การทดลองที่ 3.1 ทดสอบพันธุ์กัญชาที่เหมาะสมในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิที่มีผลต่อผลผลิตกัญชาในพันธุ์ที่ใช้ทางการแพทย์

ผลการทดสอบการปลูกต้นกัญชาสายพันธุ์ไทย ในโรงเรือนแบบที่ไม่ควบคุมสภาพอากาศ ได้ดำเนินการปลูกสายพันธุ์ไทย 10 สายต้น ได้แก่ สายต้น 2(3) 2(8) 3(5) 3(8) 3(11) 3(14) 4(7) 4(8) 5(1) และ 6(4) เริ่มปลูกเมื่อวันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2565 ด้วยวิธีการปักชำจากต้นแม่พันธุ์ที่ได้รับคัดเลือก และบันทึกข้อมูลสภาพอากาศตั้งแต่เดือน มกราคม 2565 ถึง เดือนธันวาคม 2565 พบว่า อุณหภูมิในโรงเรือนในช่วงเดือนมีนาคม 2565 เฉลี่ยสูงสุด 32.65 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุด 29.98 องศาเซลเซียสในช่วงเดือนตุลาคม 2565 สำหรับความชื้นภายในโรงเรือนสูงสุดในช่วงเดือนตุลาคม 2565 มีความชื้น 74.72 เปอร์เซ็นต์ และ ในช่วงเดือนธันวาคม 2565 มีความชื้นต่ำสุด 49.62 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 อุณหภูมิและความชื้นภายในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิช่วงการปลูกทดสอบ

ปลูกกัญชาสายพันธุ์ไทยที่ได้คัดเลือกแล้วจำนวน 10 สายต้น สายต้นละ 10 ต้น นำมาปลูกในโรงเรือนแบบไม่ควบคุมสภาพอากาศ ครั้งที่ 1 เมื่อวันที่ 25 ก.พ. 2565 พบว่า ขนาดของลำต้น สายต้น 3(8) มีขนาดต้นใหญ่สูงสุด มีขนาดต้นเฉลี่ย 12.82 มิลลิเมตร และ สายต้น 4(7) มีขนาดต้นเล็กที่สุด มีขนาด 7.42 มิลลิเมตร ด้านความสูงของต้น สายต้น 2(8) สูงที่สุด 128.6 เซนติเมตร และต้นที่ความสูงต่ำสุดคือสายต้น 4(7) มีความสูงต้นเฉลี่ย 100 เซนติเมตร ด้านระยะห่างระหว่างกิ่ง มีระยะห่างระหว่างกิ่งยาวที่สุดคือสายต้น 3(11) มีระยะห่างระหว่างกิ่ง 7.66 เซนติเมตร และสั้นที่สุดสายต้น 6(4) คือ 3.01 เซนติเมตร จำนวนข้อสายต้น 4(8) มีจำนวนข้อ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

สูงสุด 30 ข้อ ส่วนสายพันธุ์ 2(3) จำนวนข้อน้อยที่สุด 15.8 ข้อ จำนวนใบย่อย สายต้น 2(3) มีจำนวนใบย่อยสูงสุด 8 ใบย่อย ส่วนใบย่อยที่น้อยที่สุดคือ สายต้น 5(1) มีจำนวนใบย่อยน้อยที่สุด คือ 6 ใบย่อย ด้านขนาดใบ สายต้น 2(3) ที่มีใบกว้างมากที่สุด คือ 3.20 เซนติเมตร สายต้นที่มีใบแคบที่สุดคือสายต้น 5(1) มีขนาด 1.76 เซนติเมตร ด้านความยาวใบ มีความยาวมากที่สุด คือสายต้น 2(3) มีขนาด 13.66 เซนติเมตร ส่วนสายต้นที่มีขนาดสั้นที่สุด 4(8) มีขนาด 8.36 เซนติเมตร สำหรับการออกดอก หลังจากหยุดให้แสงไฟเพิ่มเติม พบว่า ส่วนใหญ่เริ่ม ออกดอก วันที่ 11 เมษายน 2565 แต่มี 2 สายพันธุ์ที่ออกดอกก่อน คือ สายต้น 6(4) ออกดอกวันที่ 29 มีนาคม 2565 และ สายพันธุ์ 5(1) ออกดอกหลังสุดคือวันที่ 18 เมษายน 2565 ซึ่งหลังจากปลูกไป 2 เดือน โดนเชื้อราทำลายจึงไม่สามารถเก็บดอกไปวิเคราะห์ได้ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ข้อมูลการเจริญเติบโตของพืชสกุลกัญชาพันธุ์ไทย (ปักชำ) ครั้งที่ 1 ปลูกเมื่อวันที่ 25 ก.พ. 2565

ลำดับ	สายต้น	ขนาดต้น	ความสูง	ระยะระหว่างกิ่ง	จำนวนข้อ	จำนวนใบ	ความกว้างใบ	ความยาวใบ	วันออกดอก
1	2(3)	7.48^{b}	108.4	7.57^{ab}	15.8^{d}	8^{a}	3.20^{a}	13.66^{a}	11 เม.ย. 65
2	2(8)	9.26^{ab}	128.6	5.81^{bcd}	21.8^{bc}	7.6^{ab}	2.49^{bc}	12.65^{ab}	11 เม.ย. 65
3	3(5)	8^{b}	108.8	6.20^{abc}	18.4^{cd}	7.6 ^{ab}	2.44^{bc}	9.34^{c}	11 เม.ย. 65
4	3(8)	12.82^{a}	106.3	4.24^{def}	23.4^{b}	6.4 ^{ab}	2.21^{bc}	10.98^{bc}	11 เม.ย. 65
5	3(11)	9.78^{ab}	113.4	7.66^{a}	16.6^{d}	7.2 ^{ab}	2.68^{ab}	11.01^{bc}	11 เม.ย. 65
6	3(14)	9.62^{ab}	110.8	4.30^{def}	19.2^{cd}	6.6 ^{ab}	2.35^{bc}	10.82^{bc}	11 เม.ย. 65
7	4(7)	7.42^{b}	100	5.07^{cdf}	18.0^{cd}	6.8 ^{ab}	1.86^{c}	9.03^{c}	11 เม.ย. 65
8	4(8)	9.04^{ab}	100.2	3.24^{ef}	30.0^{a}	6.57 ^{ab}	2.07^{bc}	8.36^{c}	11 เม.ย. 65
9	5(1)	8.86^{b}	115.6	3.79^{ef}	23.4^{b}	6^{b}	1.76^{c}	9.54^{c}	18 เม.ย. 65
10	6(4)	9.94^{ab}	117.8	3.01^{f}	23.6^{b}	6.2 ^{ab}	2.32^{bc}	10.73^{bc}	29 มี.ค. 65
cv		**21.7**	**11.3**	**19.51**	**11.11**	**14.57**	**16.15**	**13.75**	

ดำเนินการปลูกกัญชาสายพันธุ์ไทยที่ได้คัดเลือกแล้วจำนวน 10 สายต้น สายต้นละ 10 ต้น ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 25 ก.ค. 2565 พบว่า ด้านขนาดต้น สายต้น 3(11) มีขนาดต้นใหญ่ที่สุด มีขนาดต้นเฉลี่ย 11.2 มิลลิเมตร และ สายต้น 4(8) มีขนาดต้นเล็กที่สุด มีขนาด 7 มิลลิเมตร ด้านความสูงของต้น สายต้น 5(1) สูงที่สุด 131 เซนติเมตร และต้นที่ความสูงต่ำสุดคือสายต้น 4(8) มีความสูงต้นเฉลี่ย 85 เซนติเมตร ด้านระยะห่างระหว่างกิ่ง มีระยะห่างระหว่างกิ่งมากที่สุดสายต้น 2(8) และ 3(11) เฉลี่ย 4.8 เซนติเมตร จำนวนข้อสายต้น 5(1) มีจำนวนข้อสูงสุด 27 ข้อ ส่วนสายพันธุ์ 2(8) จำนวนข้อน้อยที่สุด 18 ข้อ จำนวนใบย่อย สายต้น 2(8) และ 3(8) มีจำนวนใบย่อยสูงสุด 8 ใบย่อย ส่วนใบย่อยที่น้อยที่สุดคือ สายต้น 3(5) มีจำนวนใบย่อยน้อยที่สุด คือ 5 ใบย่อย ด้านขนาดใบ สายต้น 2(3) ที่มีใบกว้างที่สุด คือ 3.40 เซนติเมตร สายต้นที่มีใบแคบที่สุดคือสายต้น 4(8) มีขนาด 1.7 เซนติเมตร ด้านความยาวใบ มีความยาวมากที่สุด คือสายต้น 2(8) มีขนาด 19.1 เซนติเมตร ส่วนสายต้นที่มีขนาดสั้นที่สุด 5(1) มีขนาด 12.2 เซนติเมตร สำหรับการออกดอก หลังจากหยุดให้แสงไฟเพิ่มเติม พบว่า สายต้น 2(3) ออกดอก

กรมวิชาการเกษตร

วันที่ 11 กันยายน 2565 สายต้น 2(8) 3(5) 3(8) และ 5(1) ออกดอก 12 ตุลาคม 2565 สายต้น 3(11) 3(14) 4(7) และ 4(8) ออกดอก 4 พฤศจิกายน 2565 ส่วนสายต้น 6(4) ออกดอก 26 สิงหาคม 2565 (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ข้อมูลการเจริญเติบโตของพืชสกุลกัญชาพันธุ์ไทย (ปักชำ) ครั้งที่ 2 ปลูกเมื่อวันที่ 25 ก.ค. 2565

ลำดับ	สายต้น	ขนาดต้น (cm)	ความสูง (cm)	ระยะห่างกิ่ง (cm)	จำนวนข้อ	จำนวนใบ	ความกว้างใบ (cm)	ความยาวใบ (cm)	วันออกดอก
1	2(3)	11	121	4.7	20	7	3.4	17.1	11 ก.ย.65
2	2(8)	8.9	108	4.8	18	8	3.1	19.1	12 ต.ค.65
3	3(5)	9.7	117	4.6	21	5	3.0	15.4	12 ต.ค.65
4	3(8)	10.7	103	3.7	22	8	2.5	16.7	12 ต.ค.65
5	3(11)	11.2	120	4.8	21	6	2.5	15.7	4 พ.ย.65
6	3(14)	9.1	103	4.2	21	7	2.6	15.9	4 พ.ย.65
7	4(7)	8.3	116	4.5	23	7	2	13.1	4 พ.ย.65
8	4(8)	7	85	3.1	23	7	1.7	12.2	4 พ.ย.65
9	5(1)	10.1	131	3.7	27	7	2.1	12.7	12 ต.ค.65
10	6(4)	9.4	110	3.8	25	7	3.2	15.7	26 ส.ค.65
CV		**10**	**110.4**	**4.19**	**22**	**7**	**2.61**	**15.36**	

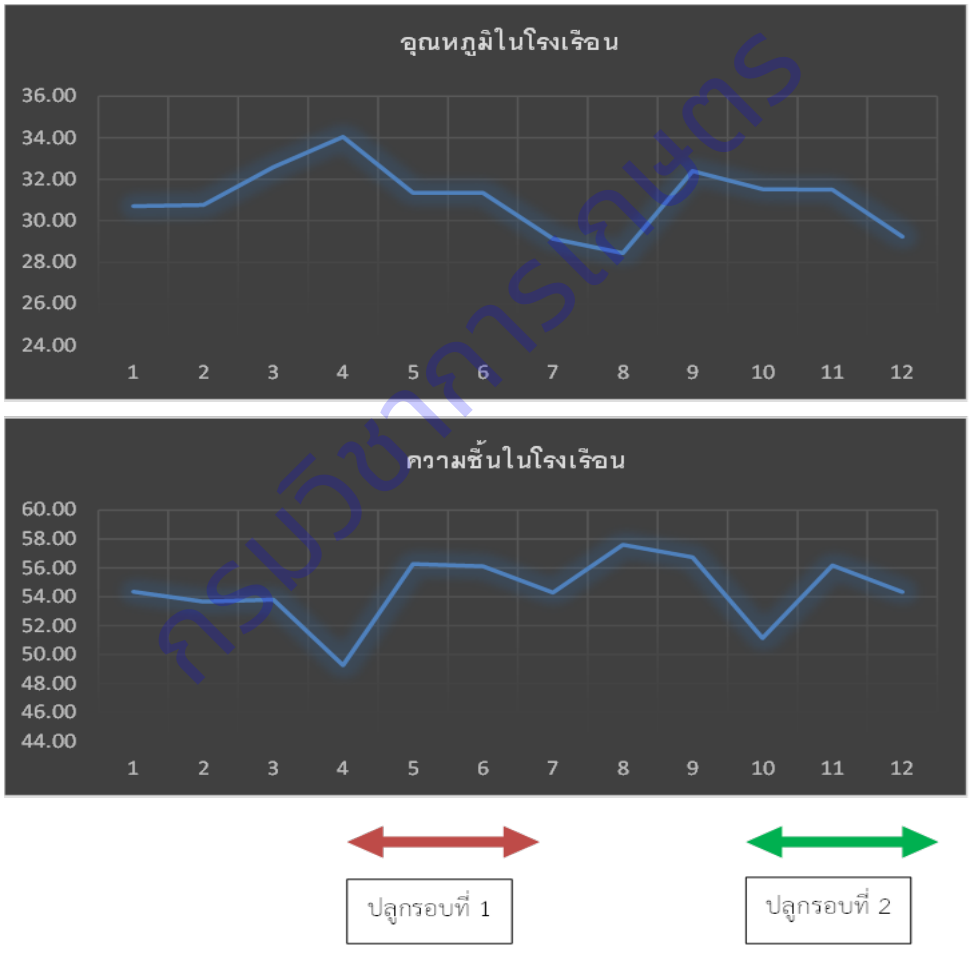
การทดลองที่ 3.2 ทดสอบพันธุ์กัญชาที่เหมาะสมในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิที่มีผลต่อผลผลิตกัญชาในพันธุ์ที่ใช้ทางการแพทย์

ผลการวิจัยในการทดสอบการปลูกต้นกัญชาสายพันธุ์ไทย ในโรงเรือนแบบควบคุมสภาพอากาศ ดำเนินการปลูกกัญชาสายพันธุ์ต่างประเทศ 5 สายพันธุ์ เริ่มปลูกเมื่อวันที่ 3 เมษายน 2565 ด้วยวิธีการเพาะเมล็ด หลังจากปลูกได้บันทึกข้อมูล สภาพอากาศ ตั้งแต่เดือน มกราคม 2565 ถึง เดือนธันวาคม 2565 พบว่า อุณหภูมิในโรงเรือนสูงสุดในช่วงเดือนเมษายน 2565 เฉลี่ย 34.05 องศาเซลเซียส และต่ำสุด 28.45 องศาเซลเซียส ในช่วงเดือนสิงหาคม 2565 สำหรับความชื้นภายในโรงเรือนสูงสุดในช่วงเดือนสิงหาคม 2565 มีความชื้น 74.72 เปอร์เซ็นต์ และมีความชื้นต่ำสุด 49.62 เปอร์เซ็นต์ ช่วงเดือนเมษายน 2565 (ภาพที่ 6)

จากการวัดความเจริญเติบโต พบว่า ด้านขนาดต้น สายพันธุ์ flower cluster มีขนาดต้นใหญ่ที่สุด มีขนาดต้นเฉลี่ย 7.26 มิลลิเมตร และสายพันธุ์ T1 มีขนาดต้นเล็กที่สุด 6.7 มิลลิเมตร ด้านความสูงของต้น สายพันธุ์ Siskiyou สูงที่สุด 81.80 เซนติเมตร และต้นที่ความสูงต่ำสุด คือสายพันธุ์ Early remedy มีความสูงต้นเฉลี่ย 56.2 เซนติเมตร จำนวนข้อสายพันธุ์ CBG มีจำนวนข้อสูงสุด 16.3 ข้อ ส่วนสายพันธุ์ T1 จำนวนข้อน้อยที่สุด 14.5 ข้อ จำนวนใบ สายพันธุ์ Early remedy มีจำนวนใบสูงสุด 12.8 ใบย่อย ส่วนใบย่อยที่น้อยที่สุดคือ สายพันธุ์ CBG มีจำนวนใบย่อยน้อยที่สุด คือ 6 ใบย่อย ด้านขนาดใบ สายพันธุ์ T1 ที่มีใบยาวมากที่สุด คือ 5.5 เซนติเมตร สายต้นที่มีใบสั้นที่สุดคือสายต้น สายพันธุ์ CBG มีขนาด 3.27 เซนติเมตร ด้านความกว้างใบ มีความยาวมากที่สุด คือสายพันธุ์ Siskiyou มีขนาด 3.3 เซนติเมตร ส่วนสายต้นที่มีขนาดแคบที่สุด สายพันธุ์ Early remedy มีขนาด 2.36 เซนติเมตร หลังจากปลูกไป 2 เดือน โดนเชื้อราทำลายจึงไม่สามารถเก็บดอกไปวิเคราะห์ได้ (ตารางที่ 6)

กรมวิชาการเกษตร

ดำเนินการปลูกครั้งที่ 2 ในช่วงเดือน สิงหาคม 2565 พบว่า ด้านขนาดต้น สายพันธุ์ Siskiyou มีขนาดต้นใหญ่ที่สุด มีขนาดต้นเฉลี่ย 10.32 มิลลิเมตร และ สายพันธุ์ Early remedy มีขนาดต้นเล็กที่สุด มีขนาด 6.76 มิลลิเมตร ด้านความสูงของต้น สายพันธุ์ CBG ต้นมีขนาดสูงสุด 98 เซนติเมตร และต้นที่ความสูงต่ำสุดคือสายพันธุ์ Early remedy มีความสูงต้นเฉลี่ย 73.4 เซนติเมตร จำนวนข้อสายพันธุ์ Early remedy มีจำนวนข้อสูงสุด 16.4 ข้อ ส่วนสายพันธุ์ CBG จำนวนข้อน้อยที่สุด 14.4 ข้อ จำนวนใบ สายพันธุ์ CBG มีจำนวนใบสูงสุด 15.33 ใบย่อย ส่วนใบย่อยที่น้อยที่สุดคือ สายพันธุ์ Early remedy และ Flower cluster มีจำนวนใบย่อยน้อยที่สุด คือ 10.6 ใบย่อย ด้านขนาดใบ สายพันธุ์ Flower cluster ที่มีใบยาวมากที่สุด คือ 15.17 เซนติเมตร สายต้นที่มีใบสั้นที่สุดคือสายต้น สายพันธุ์ Siskiyou มีขนาด 10.25 เซนติเมตร ด้านความกว้างใบ มีความกว้างมากที่สุด คือสายพันธุ์ Flower cluster มีขนาด 4.32 เซนติเมตร ส่วนสายต้นที่มีขนาดแคบที่สุด สายพันธุ์ Siskiyou มีขนาด 2.92 เซนติเมตร (ตารางที่ 7)



ภาพที่ 6 อุณหภูมิและความชื้นภายในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิช่วงการปลูกทดสอบ

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 6 ผลการเจริญเติบโตพันธุ์กัญชาที่เหมาะสมในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิปลูก ครั้งที่ 1 วันที่ 3 เมษายน 2565

ลำดับ	พันธุ์	ความสูง (cm)	เส้นผ่าศูนย์กลางโคนต้น (cm)	สีโคนต้น	ระยะห่างข้อ	จำนวนข้อ	จำนวนการแตกกิ่ง	สีใบ	จำนวนใบ	ความยาวใบ (cm)	ความกว้างใบ (cm)
1	CBG	61.67	7.2	สีม่วงเล็กน้อย	ปกติ	16.3	3	เขียวเข้ม	10.3	3.27	2.5
2	Early remedy	56.2	6.92	สีม่วงเล็กน้อย	ปกติ	15	3	เขียวเข้ม	12.8	4.12	2.36
3	Siskiyou	81.80	7.14	สีม่วงเล็กน้อย	ปกติ	14.8	3	เขียวเข้ม	12.2	4.23	3.3
4	flower cluster	66.8	7.26	สีม่วงเล็กน้อย	ปกติ	14.6	3	เขียวเข้ม	12.2	4.5	2.56
5	T1	75	6.7	สีม่วงเล็กน้อย	ห่าง	14.5	3	เขียวเข้ม	12	5.5	2.96

ตารางที่ 7 ผลการเจริญเติบโตพันธุ์กัญชาที่เหมาะสมในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิปลูก ครั้งที่ 2 วันที่ 10 สิงหาคม 2565

ลำดับ	พันธุ์	ความสูง (cm)	เส้นผ่าศูนย์กลางโคนต้น (cm)	สีโคนต้น	ระยะห่างข้อ	จำนวนข้อ	จำนวนการแตกกิ่ง	สีใบ	จำนวนใบ	ความยาวใบ (cm)	ความกว้างใบ (cm)
1	CBG	98	6.85	สีม่วงเล็กน้อย	ห่าง	14.4	1	เขียวเข้ม	15.33	11.18	3.2
2	Early remedy	73.4	6.76	สีม่วงเล็กน้อย	ปกติ	16.4	1	เขียวเข้ม	10.6	12.27	3.18
3	Siskiyou	95.8	10.32	สีม่วงเล็กน้อย	ห่าง	16	1	เขียวเข้ม	13	10.25	2.92
4	Flower cluster	82.2	7.66	สีม่วงเล็กน้อย	ปกติ	15.6	1	เขียวเข้ม	10.6	15.17	4.32
5	T1	92.8	7.76	สีม่วงเล็กน้อย	ปกติ	15	1	เขียวเข้ม	14.8	13.55	3.63

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 4 การพัฒนาการผลิตต้นกล้ากัญชาคุณภาพเพื่อใช้ในทางการแพทย์

การทดลองที่ 4.1 การพัฒนาการผลิตต้นกล้ากัญชาโดยการปักชำ

ดำเนินการเพาะเมล็ดกัญชาสายพันธุ์ไทย จำนวน 20 เมล็ด และปลูกเลี้ยงภายใต้สภาพโรงเรือนเป็นเวลา 45 วัน โดยมีการให้แสงสว่างโดยใช้หลอดไฟ Led ขนาด 50 วัตต์ ในช่วงเวลากลางคืนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง/วัน จากนั้นภายหลัง 45 วัน หยุดให้แสงสว่างเป็นเวลา 10 วัน ต้นกัญชาจะแสดงลักษณะต้นตัวผู้และต้นตัวเมีย จากนั้นจึงคัดเลือกต้นตัวเมียนำไปลเลี้ยงภายใต้สภาพโรงเรือนโดยมีการให้แสงสว่างโดยใช้หลอดไฟ Led ขนาด 50 วัตต์ ในช่วงเวลากลางคืน เพื่อให้ต้นแม่พันธุ์เข้าสู่ระยะ Vegetative stage เพื่อใช้ในการทดสอบ และทำการทดสอบการตัดชำจะเปรียบเทียบการใช้กิ่งชำที่มีการตัดพื้นที่ใบออก 50% ของกิ่งชำกับกิ่งที่ไม่มีการตัดพื้นที่ใบ โดยคัดเลือกกิ่งยอดที่ประกอบด้วย 4 ตาใบ (1ยอด 4 ตาใบ) นำมาปลูกในกระถางขนาด 2 นิ้ว โดยใช้วัสดุพีทมอส

เพอร์ไรท์ เวอร์มิคูไรท์ อัตราส่วน 7: 2: 1 โดยปริมาตร และนำกิ่งชำมาเปรียบเทียบกันระหว่างการตัดใบและไม่ตัดใบ ภายใต้สภาวะการปักชำแบบควบแน่น โดยให้แสงสว่างอยู่ในช่วง 75 PPFD เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 14 วัน จากนั้นจึงย้ายลงกระถางขนาด 4 นิ้ว และวัดการเจริญเติบโตทุก 3 วัน โดยวัดการเจริญเติบจนต้นกล้ามีความสูง 20 เซนติเมตร พบว่า ทั้ง 2 วิธีการมีอัตราการรอดของกิ่งชำ และอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันเล็กน้อย โดยทั้ง 2 วิธีมีอัตราการรอด 100% และจำนวนวันที่ใช้ในการเจริญเติบจนต้นกล้ามีความสูง 20 เซนติเมตรตั้งแต่การตัดชำจนถึงขนาด 20 เซนติเมตร ไม่แตกต่างกัน โดยในวิธีการที่ไม่ตัดใบใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 29 และวิธีการที่ตัดใบใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 32 วัน อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวจำเป็นต้องมีการพัฒนาในส่วนของวิธีการตัดชำเพิ่มเติม เพื่อให้สามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการตัดชำ ซึ่งจะพัฒนาไปสู่ในเชิงการค้าต่อไป

ภาพที่ 7 ขั้นตอนการตัดชำกล้ากัญชา

การทดลองที่ 4.2 เทคโนโลยีการขยายพันธุ์กัญชา (*Cannabis sativa*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. ฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของข้อและยอดกัญชาพันธุ์ดี และเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ

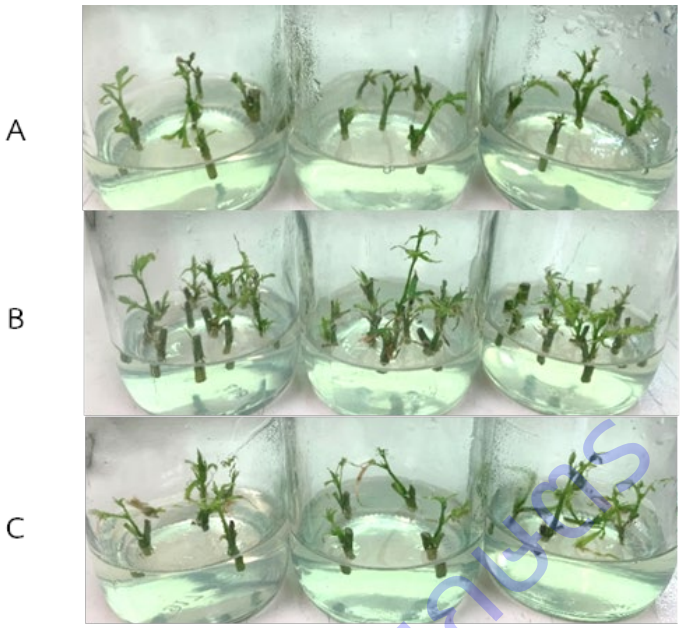
จากการฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนข้อกัญชาพันธุ์ดีจำนวน 3 พันธุ์ ด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (ไฮเตอร์®) ที่ระดับความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที พบว่าหลังจากผ่านไป 2 สัปดาห์ชิ้นส่วนข้อและยอดกัญชาพันธุ์ดีมีอัตราการรอดชีวิตคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ จากชิ้นส่วนเริ่มต้นจำนวน 30 ชิ้น ลักษณะข้อและยอดของทั้ง 3 พันธุ์ที่รอดชีวิตมีสีเขียว บางข้อเริ่มมียอดอ่อนเกิดขึ้น สำหรับชิ้นส่วนยอดกัญชาของทั้ง 3 สายพันธุ์ ลักษณะยอดที่รอดชีวิตมีลักษณะที่สมบูรณ์สีเขียว และเริ่มมีใบอ่อนเกิดขึ้นจำนวน 2-3 ใบ (ภาพที่ 8) หลังจากนี้จะนำข้อและยอดที่ปลอดเชื้อไปเพิ่มปริมาณเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป 2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา

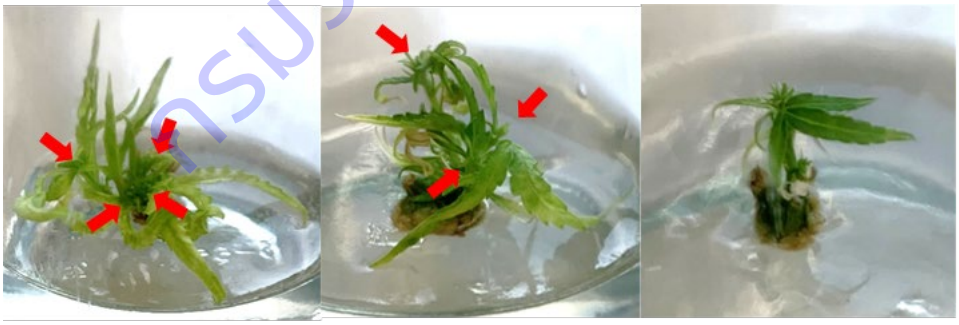
หลังจากนำยอดกัญชาสายพันธุ์ดีพันธุ์ที่ 2 ไปเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดจำนวนมากบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 mg/l เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายอดกัญชาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทั้ง 6 สูตร เริ่มเกิดยอดใหม่ขนาดเล็กและเริ่มเจริญเติบโตเต็มที่และยอดพัฒนาจนเห็นได้ชัดเจนใน 4 สัปดาห์ โดยยอดกัญชาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l ยอดใหม่เริ่มมีการเจริญเติบโตมากขึ้น และให้จำนวนการเกิดยอดใหม่ 4 ยอดหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ (ภาพที่ 9A) สำหรับยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 mg/l หลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ ยังไม่มีการเกิดยอดใหม่ แต่หลังจาก

กรมวิชาการเกษตร

เพาะเลี้ยงไป 8 สัปดาห์ พบว่าเริ่มมียอดใหม่เกิดขึ้นแต่จำนวนยอดน้อยโดยมีจำนวนยอดมากที่สุด 3 ยอด (ภาพที่ 9B) ส่วนยอดกัญชาพันธุ์ดีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 0 mg/l หรือไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีการพัฒนาของยอดจำนวน 1 ยอด (ภาพที่ 9C)



ภาพที่ 8 ลักษณะชิ้นส่วนข้อกัญชาพันธุ์ดีที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้ออายุ 2 สัปดาห์ พันธุ์ที่ 1 (A) พันธุ์ที่ 2 (B) พันธุ์ที่ 3 (C) เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 55 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 9 ตัวอย่างลักษณะยอดใหม่ที่เกิดขึ้นของกัญชาพันธุ์ดี พันธุ์ที่ 2 อายุ 8 สัปดาห์ หลังจากนำไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในสภาพแสง 55 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

A: สูตรอาหาร MS+BA 0.5 mg/l

B: สูตรอาหาร MS+BA 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 mg/l

C: สูตรอาหาร MS+BA 0 mg/l

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 5 การวิจัยความต้องการน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของกัญชา

ชื่อการทดลองที่ 5.1 การศึกษาสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชา

จากการดำเนินงานการศึกษาสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชา พบว่า เมื่อผสมวัสดุปลูกระหว่างพีทมอส เพอร์ไลท์ และเวอร์มิคูไลท์ในอัตราส่วน (50:25:25) โดยน้ำหนักมีค่าการระบายน้ำของวัสดุมากที่สุดเท่ากับ 16.9 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) เหมาะสมสำหรับการปลูกกัญชาในโรงเรือน เนื่องจากกัญชาเป็นพืชที่ชอบวัสดุปลูกที่มีการระบายน้ำ และอากาศที่ดีเพื่อการเจริญเติบโตของรากกัญชา นอกจากนี้เมื่อความสูง และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของกัญชาพันธุ์ฝอยทองตั้งแต่อายุ 1 เดือน ถึง 5.5 เดือนเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 13.1 ถึง 187.8 เซนติเมตร และ 1.2 ถึง 15.9 มิลลิเมตร ส่งผลทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชาเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.3 ถึง 8.8 ประกอบกับมีค่าการคายน้ำของกัญชาแท้จริง (ETc) อยู่ในช่วง 32.0 มิลลิเมตรต่อสัปดาห์ ถึง 871.1 มิลลิเมตรต่อเดือน รวมทั้งการคายน้ำของพืชอ้างอิง (ETo) ที่ได้จากข้อมูลสภาพภูมิอากาศภายในโรงเรือนโดยคำนวณจากสมการ Penman-Monteith อยู่ในช่วง 3.18 ถึง 3.63 มิลลิเมตรต่อวันตามลำดับ (ตารางที่ 9, 10 และ 11) ส่งผลทำให้กัญชาพันธุ์ควรมีการให้น้ำอยู่ในช่วง 0.32 ถึง 2.01 ลิตรต่อพื้นที่กระถางปลูก (0.071 ตารางเมตร) ต่อวัน (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยสมบัติทางกายภาพบางประการของวัสดุปลูกในสัดส่วนที่ต่างกันจำนวน 5 ซ้ำ

ส่วนผสมวัสดุปลูก	% FC[1/] (by weight)	% PWP[2/] (by weight)	% AWC[3/] (by weight)	BD[4/] (g cm^{-3})	AWC[5/] (mm cm^{-1})	% Water Drainage (by weight)
พีทมอส	84.2[6/]	62.8	21.4 a[7/]	0.15	0.31	15.8
(100)	83.1-84.6	60.7-64.5	22.4-20.0	0.14-0.15	0.28-0.34	15.4-16.9
พีทมอส: เพอร์ไลท์: เวอร์มิคูไลท์	83.1	65.3	17.8 b	0.16	0.28	16.9
(50:25:25)	82.3-84.8	63.6-68.0	16.7-18.6	0.14-0.16	0.26-0.29	15.2-17.7
พีทมอส: เพอร์ไลท์: เวอร์มิคูไลท์	84.0	62.4	21.6 a	0.14	0.31	16.0
(60:20:20)	82.7-85.1	60.6-64.3	20.3-22.1	0.14-0.15	0.30-0.33	14.9-17.3
พีทมอส: เพอร์ไลท์: เวอร์มิคูไลท์	83.9	64.0	19.9 ab	0.15	0.29	16.1
(70:15:15)	82.6-85.5	58.3-69.8	15.7-24.3	0.14-0.15	0.23-0.34	14.5-17.4
F-test (df error=16)	1.31^{ns}	1.34^{ns}	4.23*	2.33^{ns}	1.13^{ns}	1.35^{ns}
% CV	1.10	3.93	9.33	4.27	10.58	5.70

[1/] FC = ความชื้นที่ระดับความจุความชื้นสนาม (Field capacity, FC)

[2/] PWP =ความชื้นที่ระดับจุดเหี่ยวเฉาถาวร (Permanent wilting point, PWP)

[3/] AWC = ความชื้นที่เป็นที่เป็นประโยชน์ FC-PWP

[4/] BD = ความหนาแน่นรวม (Bulk density)

[5/] AWC = ความชื้นที่เป็นประโยชน์ (มิลลิเมตรต่อเซนติเมตร) คำนวณจาก % AWC x BD X 0.1

[6/] = ค่าเฉลี่ย

[7/] ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยวิธีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (Least significant difference, LSD) *=แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) **=แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) ns= ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 9 การคายน้ำของพืชแท้จริงรายเดือน (ETc) ในโรงเรือนทดลอง จำนวน 5 ต้น ตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565

เดือน	ความชื้นวัสดุที่เปลี่ยนแปลง(mm)	ปริมาณน้ำซาบซึมลึก (mm)	ปริมาณน้ำที่ให้ (mm)	การคายน้ำของพืช (ETc) (mm)
25-31 ม.ค. 65	8.9	44.5	67.6	32.0
ก.พ. 65	-11.5	55.4	315.5	248.6
มี.ค. 65	3.7	6.6	540.8	537.9
เม.ย.65	8.3	2.3	845.1	851.1
พ.ค. 65	17.1	19.2	873.2	871.1
1-4 มิ.ย. 65	8.8	10.6	112.7	110.9

ตารางที่ 10 สัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชาในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น ตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565

เดือน	การคายน้ำของพืชแท้จริง (ETc) (mm)	การคายน้ำของพืชอ้างอิง (ETo) (mm)	สัมประสิทธิ์การใช้น้ำกัญชา (Kc)
25-31 ม.ค. 65	32.0	25.4	1.3
ก.พ. 65	248.6	93.5	2.7
มี.ค. 65	537.9	111.7	4.8
เม.ย.65	851.1	117.8	7.2
พ.ค. 65	871.1	98.7	8.8
1-4 มิ.ย. 65	110.9	21.7	5.1

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตทางลำต้นของกัญชาสายพันธุ์ฝอยทอง

เริ่มปลูกกัญชา 25 ม.ค. 65	ความสูงของต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นจากโคนต้นกัญชา8 cm (mm)
25-31 ม.ค. 65	13.1	1.2
ก.พ. 65	54.5	4.3
มี.ค. 65	136.0	10.6
เม.ย.65	170.3	13.7
พ.ค. 65	181.2	14.9
1-8 มิ.ย. 65	187.8	15.9

ตารางที่ 12 สัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชาในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น ตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565

เดือน	การคายน้ำของพืชแท้จริง (ETc) (mm)	ควรมีการให้น้ำกับกัญชา (Liters/ 0.071 m^2/day)
25-31 ม.ค. 65	32.0	0.32
ก.พ. 65	248.6	0.63
มี.ค. 65	537.9	1.23
เม.ย.65	851.1	2.01
พ.ค. 65	871.1	2.00
1-4 มิ.ย. 65	110.9	1.97

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 5.2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อดัชนีความเครียดกับสมดุลน้ำในผลิตกัญชา

เนื่องจากการปลูกกัญชาทำในโรงเรือนโดยการปลูกในกระถางเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ความสูง 40 เซนติเมตร และบรรจุวัสดุปลูกกัญชาสูง 32 เซนติเมตร ดังนั้นการเจริญเติบโตของรากกัญชาจึงถูกจำกัดไว้ที่ความลึกเพียง 32 เซนติเมตร พบว่าในช่วงที่กัญชาพันธุ์ฝอยทองอายุตั้งแต่ 1 ถึง 5.5 เดือน มีการเจริญเติบโตทางลำต้นของกัญชาที่เพิ่มขึ้นมีความสูงอยู่ในช่วง 10.2 ถึง 176.8 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นกัญชาอยู่ในช่วง 1.4 ถึง 16.6 มิลลิเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 13) โดยมีค่าปัจจัยการพร่องน้ำของดิน (Depletion factor, p) อยู่ในช่วง 0 ถึง 19 เปอร์เซ็นต์ และมีการคายน้ำแท้จริงของกัญชาอยู่ในช่วง 32.0 มิลลิเมตรต่อสัปดาห์ ถึง 866.2 มิลลิเมตรต่อเดือน คิดเป็นการคายน้ำแท้ของกัญชาของกัญชาอยู่ในช่วง 5.3 ถึง 28.2 มิลลิเมตรต่อวัน (ตารางที่ 14 และ 15)

ตารางที่ 13 การคายน้ำของพืชแท้จริงรายเดือน (ETc) ในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น

เดือน	ความชื้นวัสดุที่เปลี่ยนแปลง (mm)	ปริมาณน้ำซาบซึมลึก (mm)	ปริมาณน้ำที่ให้ (mm)	การคายน้ำของพืช (ETc) (mm)
25-31 ม.ค. 65	8.9	45.5	67.6	32.0
ก.พ. 65	-2.1	90.2	315.5	223.2
มี.ค. 65	3.7	6.6	540.8	537.9
เม.ย.65	5.7	4.6	845.1	846.2
พ.ค. 65	25.8	32.8	873.2	866.2
1-4 มิ.ย. 65	8.8	10.6	112.7	110.9

ตารางที่ 14 ค่าปัจจัยการพร่องน้ำ (Depletion factor, p) ของกัญชาในโรงเรือนทดลองกัญชา จำนวน 5 ต้น

เดือน	การคายน้ำของพืชแท้จริง (ETc) (mm/month)	การคายน้ำของพืชแท้จริง (ETc) (mm/day)	ค่าปัจจัยการพร่องน้ำ (p)
25-31 ม.ค. 65	32.0	5.3	0.19
ก.พ. 65	223.2	8.0	0.08
มี.ค. 65	537.9	17.4	0.00
เม.ย.65	846.2	28.2	0.00
พ.ค. 65	866.2	27.9	0.00
1-4 มิ.ย. 65	110.9	27.7	0.00

ตารางที่ 15 การเจริญเติบโตทางลำต้นของกัญชา

เริ่มปลูกกัญชา 25 ม.ค. 65	ความสูงของต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นจากโคนต้นกัญชา 8 cm (mm)
25-31 ม.ค. 65	10.2	1.4
ก.พ. 65	41.6	3.8
มี.ค. 65	94.9	7.9
เม.ย.65	165.2	14.1
พ.ค. 65	175.2	15.6
1-4 มิ.ย. 65	176.8	16.6

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 5.3 การศึกษาความถี่และปริมาณการให้น้ำที่ระดับต่างๆต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของกัญชา

จากการทดลองความถี่ และปริมาณการให้น้ำกับต้นกัญชาที่แตกต่างกันเมื่อเริ่มปลูกตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565 ถึง 7 มี.ค. 2565 พบว่า เมื่อมีการให้น้ำกับกัญชาทุกวันตามด้วยการให้น้ำ 90 เปอร์เซ็นต์ของการให้น้ำ (T1) มีค่าการคายน้ำของกัญชาที่แท้จริง (ETc) อยู่ในช่วง 76.5 มิลลิเมตรต่อสัปดาห์ ถึง 783.8 มิลลิเมตรต่อเดือน ตามด้วยการให้น้ำกับกัญชาเว้น 1 วัน ตามด้วยการให้น้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ของการให้น้ำ (T2) มีค่าการคายน้ำของกัญชาที่แท้จริงอยู่ในช่วง 33.9 มิลลิเมตรต่อสัปดาห์ ถึง 690.2 มิลลิเมตรต่อเดือน และการให้น้ำกับกัญชาเว้น 2 วันตามด้วยการให้น้ำ 70 เปอร์เซ็นต์ของการให้น้ำ (T3)) มีค่าการคายน้ำของกัญชาที่แท้จริงอยู่ในช่วง 19.7 มิลลิเมตรต่อสัปดาห์ ถึง 619.4 มิลลิเมตรต่อเดือน (ตารางที่ 16) จากผลดังกล่าวส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของกัญชาเมื่อมีการให้น้ำกับกัญชาทุกวันตามด้วยการให้น้ำ 90 เปอร์เซ็นต์ของการให้น้ำ (T1) มีความสูงอยู่ในช่วง 13.4 ถึง 161.8 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นอยู่ในช่วง 1.4 ถึง 20.1 มิลลิเมตร ตามด้วยเมื่อมีการให้น้ำกับกัญชาเว้น 1 วันตามด้วยการให้น้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ของการให้น้ำ (T2) มีความสูงอยู่ในช่วง 13.4 ถึง 147.3 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นอยู่ในช่วง 1.4 ถึง 20.1 มิลลิเมตร และเมื่อมีการให้น้ำกับกัญชาเว้น 2 วันตามด้วยการให้น้ำ 70 เปอร์เซ็นต์ของการให้น้ำ (T3) มีความสูงอยู่ในช่วง 13.4 ถึง 141.3 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นอยู่ในช่วง 1.4 ถึง 18.1 มิลลิเมตรตามลำดับ (ตารางที 17)

ตารางที่ 16 การคายน้ำของพืชแท้จริงรายเดือน (ETc) ในโรงเรือนทดลอง จำนวน 9 ต้น ตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 2565

เดือน	ตำรับการทดลอง	ความชื้นวัสดุที่เปลี่ยนแปลง (mm)	ปริมาณน้ำที่ให้ (mm)	การคายน้ำของพืช (ETc) (mm)
25-31 ม.ค. 65	1	25.9	67.6	93.5
	2	26.1	67.6	93.7
	3	24.6	67.6	92.2
ก.พ. 65	1	3.8	315.5	319.3
	2	10.3	315.5	325.8
	3	15.1	315.5	330.6
1-7 มี.ค.65	1	-8.0	84.5	76.5
	2	-7.9	84.5	76.6
	3	-3.3	84.5	81.2
8 -15 มี.ค. 65 ให้น้ำเว้นวัน	1 ทุกวัน*	1.5	140.8	142.3
	2 เว้น 1 วัน**	-16.8	50.7	33.9
	3 เว้น 2 วัน***	-14.1	33.8	19.7
16-31 มี.ค. 65	1 ให้น้ำ 90 %	5.9	342.3	348.2
	2 ให้น้ำ 80 %	15.4	297.2	312.6
	3 ให้น้ำ 70 %	13.6	273.2	286.8
เม.ย. 65	1 ให้น้ำ 90 %	18.9	760.6	779.5
	2 ให้น้ำ 80 %	14.1	676.1	690.2
	3 ให้น้ำ 70 %	27.9	591.5	619.4

กรมวิชาการเกษตร

	1 ให้น้ำ 90 %	-2.1	785.9	783.8
พ.ค. 65	2 ให้น้ำ 80 %	-25.9	698.6	672.7
	3 ให้น้ำ 70 %	-32.3	611.3	579.0
	1 ให้น้ำ 90 %	7.2	101.4	108.6
1-4 มิ.ย.65	2 ให้น้ำ 80 %	7.7	90.1	97.8
	3 ให้น้ำ 70 %	4.5	78.9	83.4

หมายเหตุ: * ต้นกัญชามีลักษณะปกติ, ** ต้นกัญชามีลักษณะเหี่ยว และ *** ต้นกัญชามีลักษณะเหลือง เนื่องจากการปลูกในกระถางทดลองทำให้รากของต้นกัญชามีเจริญเติบโตอย่างจำกัด

ตารางที่ 17 การเจริญเติบโตทางลำต้นของกัญชา

เริ่มปลูกกัญชา 25 ม.ค. 65	ตำรับการทดลอง	ความสูงของต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นจากโคนต้นกัญชา 8 cm (mm)
25-31 ม.ค. 65	ทุกตำรับ	13.4	1.4
	1	41.6	4.6
ก.พ. 65	2	32.8	4.3
	3	36.4	4.2
1-7 มี.ค. 65 ให้น้ำทุกวัน (ทุกตำรับการ	1 ให้น้ำทุกวัน90 %	117.5	12.0
ทดลอง) 8 -15 มี.ค. 65 ให้น้ำเว้นวัน16-31	2 ให้น้ำเว้น 1 วัน 80 %	95.8	11.0
มี.ค. 65 ให้น้ำ 70-90 %	3 ให้น้ำเว้น 2 วัน 70 %	110.3	11.2
	1 ให้น้ำ 90 %	145.9	15.8
เม.ย. 65	2 ให้น้ำ 80 %	124.2	15.4
	3 ให้น้ำ 70 %	132.1	14.5
	1 ให้น้ำ 90 %	157.5	18.5
พ.ค. 65	2 ให้น้ำ 80 %	138.2	18.4
	3 ให้น้ำ 70 %	141.0	16.4
	1 ให้น้ำ 90 %	161.8	20.1
1-8 มิ.ย. 65	2 ให้น้ำ 80 %	147.3	20.1
	3 ให้น้ำ 70 %	141.3	18.1

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 6 การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในกัญชา (ภาคผนวก 1.3)

การทดลองที่ 1 การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในกัญชา

จากการสำรวจไรศัตรูพืชในแปลงกัญชาบนพื้นที่ทั้งหมด 30 แปลง พบไรศัตรูพืชทั้งหมด 25 แปลง 13 จังหวัด 17 อำเภอ โดยสำรวจระหว่างเดือนตุลาคม 2564 - กันยายน 2565 ที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน นนทบุรี อยุธยา กรุงเทพ ตรัง อุทัยธานี นครสวรรค์ ชัยนาท กาญจนบุรี อุดรธานี ขอนแก่น และบุรีรัมย์ จำแนกชนิดได้ไรศัตรูพืชทั้งหมด 7 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Tarosonemidae จำนวน 1 ชนิด คือ *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) ทำให้ยอดใบกัญชา มีขนาดเล็กลง ใบหงิกงอ วงศ์ Tetranychida 6 ชนิด คือ *Eotetranychus suvipakiti* Ehara, *Tetranychus kanzawai* Kishida, *Tetranychus truncatus* Ehara, *Tetranychua* sp. และ *Tetranychus phaselus* Ehara ซึ่งไรแดงทั้ง 6 ชนิด ในวงศ์ Tetranychidae นี้เข้าทำลายบริเวณใต้ใบ

กัญชา ทำให้ใบกัญชามีสีซีด ต่อมาใบจะเหลือง และแห้ง ไรทั้งสองชนิดสร้างเส้นใย โดยพบว่าไร *Tetranychus phaselus* Ehara. ที่สำรวจพบที่ จ.บุรีรัมย์ เป็น new record อยู่ระหว่างส่งตีพิมพ์ลงวารสารกีฏและสัตววิทยา

การทดลองที่ 2 การศึกษาชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในกัญชา

จากการสำรวจแมลงศัตรูกัญชาในพื้นที่ปลูกแบบโรงเรือน จากแปลงเกษตรกรและวิสาหกิจชุมชนที่ได้รับอนุญาตปลูกกัญชาในประเทศไทย จำนวน 25 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร สิงห์บุรี อุทัยธานี ชัยนาท นครสวรรค์ กาญจนบุรี ราชบุรี ลำพูน ลำปาง เชียงใหม่ ชลบุรี ระยอง บุรีรัมย์ นครราชสีมา ชัยภูมิ ขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ ศรีสะเกษ ร้อยเอ็ด สกลนคร ชุมพร สตูล พัทลุง และตรัง ช่วงเดือนตุลาคม 2564 – กันยายน 2565 จำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ผลการศึกษาพบแมลงในกัญชา 24 ชนิด แบ่งตามลักษณะการทำลาย เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แมลงทำลายพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงและแมลงทำลายพืชโดยการกัดกิน แมลงทำลายพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยง พบจำนวน 15 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *S. dorsalis* เพลี้ยไฟถั่วลิสง *C. phaseoli* เพลี้ยไฟฝ้าย *T. palmi* เพลี้ยไฟขอบปล้องหยัก *M. abdominalis* เพลี้ยอ่อนกัญชา *P.cannabis* เพลี้ยอ่อนฝ้าย *A. gossypii* เพลี้ยอ่อนถั่วสีดำ *A. fabae* เพลี้ยแป้งลาย *F. virgate* แมลงหวี่ขาวยาสูบ *B.tabaci* แมลงหวี่ขาวใยเกลียว *A. disperses* เพลี้ยหอยหลังเต่า *Drepanococcus* sp. มวนถั่วเขียว *P. hybneri* มวนดำถั่ว *B. subaeneus* เพลี้ยกระโดดปีกขาว *L. conspersa* เพลี้ยจักจั่นแดง *B. indistincta* และพบแมลงทำลายพืชโดยการกัดกิน จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ หนอนม้วนใบถั่ว *A. micaceana* หนอนกระทู้ผัก *S. litura* หนอนเจาะสมอฝ้าย *H. armigera* หนอนบุ้งดำ *T. flavolimbata* หนอนบุ้งเหลือง *O. postica* หนอนปลอกเล็ก *Acanthopsyche* sp. หนอนปลอกใหญ่ *Eumeta* sp. แมลงค่อมทอง *H. squamosus* และแมลงวันหนอนชอนใบ *Liriomyza* sp. โดยมีจำนวน 10 ชนิดที่จัดเป็นศัตรูสำคัญในกัญชา ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *S. dorsalis* เพลี้ยไฟถั่วลิสง *C. phaseoli* เพลี้ยไฟฝ้าย *T. palmi* เพลี้ยอ่อนกัญชา *P. cannabis* เพลี้ยอ่อนฝ้าย *A. gossypii* เพลี้ยแป้งลาย *F.virgate* แมลงหวี่ขาวยาสูบ *B. tabaci* เป็นแมลงที่พบได้บ่อยที่สุดและสร้างความเสียหายโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช ในขณะที่หนอนม้วนใบถั่ว *A. micaceana* หนอนกระทู้ผัก *S. litura* และหนอนเจาะสมอฝ้าย *H. Armigera*

กิจกรรมที่ 7 เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวกัญชา

การทดลองที่ 7.1 ศึกษาวิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในกัญชา

ผลจากการทดสอบวิธีการลดความชื้นใบกัญชาให้เหลือน้อยกว่า 12% ตามกรรมวิธี ได้แก่ ผึ่งในที่ร่ม ใช้แสงแดด และอบในตู้อบลมร้อน (40 50 60 70 และ 90 °C) พบว่า การอบใบกัญชาที่ 90 และ 70°C นาน 2 ชั่วโมง จะทำให้ความชื้นเริ่มต้น 67.37% ลดเหลือ 6.55 และ 7.91% ตามลำดับ ในขณะที่การอบ 60 °C นาน 4 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 7.92% การอบ 50 °C นาน 6 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 9.63% การอบ 40 °C นาน 12 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 10.15% การลดความชื้นด้วยการผึ่งแดดนาน 52 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 9.63% และการนำใบกัญชาผึ่งในที่ร่ม นาน 120 ชั่วโมง ทำให้ความชื้นเหลือ 11.36% ส่วนปริมาณสาร THC และ CBD อยู่ในระหว่างการรอผลวิเคราะห์

กรมวิทยาศาสตร์

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

กิจกรรมที่ 1 วิจัยและพัฒนาสายพันธุ์กระท่อมที่ให้ปริมาณสารสำคัญสูงและการขยายพันธุ์กระท่อม เพื่อรองรับการความต้องการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

การทดลองที่ 1.1 การรวบรวมและคัดเลือกกระท่อมจากแหล่งธรรมชาติในพื้นที่ภาคใต้

การกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ พบว่า มีการกระจายพันธุ์อยู่ในทุกจังหวัดในภาคใต้ และได้ดำเนินการสำรวจ เก็บข้อมูล และเก็บตัวอย่างพืชกระท่อมในจังหวัดระนอง นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี ชุมพร ปทุมธานี นนทบุรี สงขลา และตรัง จำนวน 76 สายต้น (ตารางที่ 18) พบว่ามีสาร Mitragynine อยู่ระหว่าง 0.29 - 2.15 เปอร์เซ็นต์ ต้นกระท่อมที่พบหลากหลายลักษณะ ได้นำไปจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการทดลองที่ 1.3 และจำแนกทางชีวโมเลกุลในการทดลองที่ 1.4 และปลูกรวบรวมพันธุ์ไว้ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 7 จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ตารางที่ 18 ข้อมูลสายต้นกระท่อมที่สำรวจและรวบรวม จำนวน 76 สายต้น

No	Province	Latitude		Elevation (m)	Tree characteristics			% Mitragynine
		X	Y		Circumference (cm)	Heigh (m)	Canopy width (m)	
1	ชุมพร	507961	1172258	26	45	8	6.6	0.62
2	ชุมพร	507961	1172258	26	41	7	7	0.68
3	ชุมพร	507961	1172258	26	42	7	6.6	0.755
4	ชุมพร	507961	507961	26	42.5	7	6.6	0.7
5	นครศรีธรรมราช	546694	935527	53	99	10	8	0.925
6	นครศรีธรรมราช	545873	935853	80	40	5	5	0.952
7	นครศรีธรรมราช	545019	939896	66	9.5	2.3	1.8	1.15
8	นครศรีธรรมราช	545019	939896	66	15	2	1	1.12
9	นครศรีธรรมราช	546779	937474	59	49	8	4	1.33
10	นครศรีธรรมราช	558788	945802	53	28	4	5.2	0.67
11	นครศรีธรรมราช	558816	945800	53	53	5	5	0.565
12	นครศรีธรรมราช	632977	910814	4	49	5	6	0.78
13	นครศรีธรรมราช	633127	912607	4	35.5	6	5.6	0.29
14	นครศรีธรรมราช	633128	912606	4	47.5	6	4.7	0.45
15	ชุมพร	501557	1158473	59	20	2.5	3	0.925
16	ชุมพร	501557	1158473	59	19	4.5	4.3	0.98
17	กระบี่	510857	920869	60	53	8	5	1.15
18	กระบี่	510804	920831	58	42	8	5	1.51
19	กระบี่	507961	1172258	60	57	12	7.6	1.08
20	ปทุมธานี	711119	1559676	6	8	2.5	3	0.765
21	ปทุมธานี	706495	1560119	2	8	2.5	3	0.86

กรมวิชาการเกษตร

22	ปทุมธานี	652985	1551186	3	35	3.5	4	1.02
23	ปทุมธานี	652985	1551186	3	3.5	2	4	0.68
24	นนทบุรี	639558	1556443	5	83	8	7	0.68
25	นนทบุรี	639370	555599	4	30	4	3.5	0.965
26	นนทบุรี	639370	1555599	4	49.5	8	6.6	0.72
27	ปทุมธานี	679380	1562310	4	38	5	2.4	0.88
28	ปทุมธานี	679380	1562310	4	40	5	2.8	0.86
29	สุราษฎร์ธานี	587707	1010683	22	43	12	6	1.195
30	สุราษฎร์ธานี	522526	1016607	5	65	6	4	1.08
31	สุราษฎร์ธานี	522526	1016607	5	38	6	4	0.96
32	สุราษฎร์ธานี	519302	1020628	6	60	8	6	1.06
33	สุราษฎร์ธานี	519302	1020628	6	60	8	6	1.33
34	สุราษฎร์ธานี	569511	1013663	22	78	11	8	1.61
35	สุราษฎร์ธานี	524699	1007472	5	30	10	4	0.75
36	สุราษฎร์ธานี	524317	1007946	10	33	10	4	0.405
37	สุราษฎร์ธานี	533650	968718	23	64	15	7	1.515
38	สุราษฎร์ธานี	533650	968718	23	60	7	4	0.955
39	สุราษฎร์ธานี	533771	968299	25	30	9	4	0.96
40	สงขลา	717131	738838	22	42	13	5.2	1.09
41	สงขลา	717131	738838	22	77	9	4	1.335
42	สงขลา	723597	735655	53	50	15	5	1.39
43	สงขลา	723835	735445	45	55	8	5	0.99
44	สงขลา	723835	735445	45	43	4.5	4	0.805
45	สงขลา	692329	728287	74	40	6	2.3	1.225
46	สงขลา	692329	728287	74	77	12	4	1.185
47	สงขลา	692111	725164	104	57	11	3.9	0.965
48	สงขลา	692111	725164	104	50	9	3	1.275
49	พัทลุง	605219	870104	20	33	11.5	3.9	1.035
50	พัทลุง	605219	870104	20	40	5	3.9	1.275
51	พัทลุง	600505	866838	36	35	15	6	1.42
52	พัทลุง	599777	866366	38	54	8	5.3	1.36
53	พัทลุง	599777	866366	38	40	6	4	0.78
54	พังงา	433064	958044	46	43	5	4	0.42
55	พังงา	427781	948900	24	52	9	4	1.07
56	พังงา	427781	948900	24	27	8	2.7	0.805
57	พังงา	430584	951598	37	44	10	7	1.335

กรมวิชาการเกษตร

58	พังงา	425509	979967	20	34	8	4.6	0.785
59	พังงา	436254	982311	27	70	12	4.3	1.545
60	พังงา	420048	976428	20	47	9	5	1.34
61	ภูเก็ต	429109	872979	23	33	6	5	1.56
62	ภูเก็ต	425589	876594	40	45	7	5.2	1.86
63	ภูเก็ต	426654	881385	43	23	7	3	0.71
64	ระนอง	472830	1133270	15	43	7	3	0.895
65	ระนอง	472545	1132677	33	20	10	3.5	1.235
66	ระนอง	472545	1132677	18	30	6	3	1.28
67	ระนอง	472694	1135085	34	35	7	3.5	1.995
68	ระนอง	473348	1135583	17	20	3.5	2	2.11
69	ระนอง	473348	1135583	10	40	7	3	1.705
70	กระบี่	525987	863105	30	6.4	7	7.2	1.195
71	กระบี่	524794	862822	23	60	12	6.5	1.275
72	กระบี่	79639	907368	55	15	5	3	1.57
73	กระบี่	472985	918417	25	39	8	3.8	1.35
74	กระบี่	474991	915673	49	41	11	5.9	0.865
75	กระบี่	473269	912320	11	20	4	3	1.605
76	กระบี่	473269	912320	11	17	3	2.5	0.805

การทดลองที่ 1.2 การเปรียบเทียบสายต้นกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ที่ให้สารสำคัญสูง สำหรับใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

คัดเลือกสายต้นกระท่อมที่มีสาร Mitragynine สูง และลักษณะเด่นแตกต่างจากสายต้นอื่น จำนวน 10 สายต้น จากการสำรวจและรวบรวมในการทดลองที่ 1.1 (ตารางที่ 18) นำมาปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ สำหรับพัฒนาสายพันธุ์กระท่อมที่มีผลผลิตและสาร Mitragynine สูง สำหรับใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ก่อนการปลูกดำเนินการเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์สมบัติบางประการของดิน เพื่อปรับปรุงดินและเป็นข้อมูลประกอบการวิจารณ์ผลการทดลอง พบว่า ผลวิเคราะห์ดินแปลงทดลอง (ตารางที่ 19) มีค่า pH เท่ากับ 6.51 มีความเป็นกรดเล็กน้อย ค่าการนำไฟฟ้าเหมาะสม มีปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสต่ำมาก ปริมาณโพแทสเซียมระดับปานกลาง และมีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมในดินสูงมาก เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย จากผลการวิเคราะห์สมบัติบางประการของดินพบว่าดินมีธาตุอาหารหลักต่ำมาก จึงมีการจัดการดินโดยการใช้อินทรีย์วัตถุรองก้นหลุมก่อนปลูกกระท่อม โดยดำเนินการปลูกเมื่อวันที่ 9 มกราคม 2566 และใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ปริมาณ 30 กรัม เมื่อกระท่อมอายุ 1 เดือนหลังปลูก

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 19 ผลวิเคราะห์ดินสมบัติบางประการของดินแปลงทดลอง

Soil analysis	pH	EC	OM	P	K	Ca	Mg	Soil Texture
		(dS/m)	(%)	mg/kg				
Field trial	6.51	1.21	1.30	2.54	74.31	1152.50	263.13	sandy clay loam

ตารางที่ 20 สายต้นกระท่อมที่คัดเลือกมาปลูกเปรียบเทียบพันธุ์

No.	Code	Location	% Mitragynine
1	RNG 71	จ.ระนอง	2.15
2	RNG 72	จ.ระนอง	2.09
3	CPN 5	จ.ชุมพร	2.02
4	PNA 62	จ.พังงา	2.00
5	KBI 73	จ.กระบี่	1.94
6	SNI 37	จ.สุราษฎร์ธานี	1.74
7	SNI 40	จ.สุราษฎร์ธานี	1.64
8	RNG 69	จ.ระนอง	1.47
9	SNI 32	จ.สุราษฎร์ธานี	1.28
10	NST 14	จ.นครศรีธรรมราช	1.09

การทดลองที่ 1.3 การจำแนกพันธุ์กระท่อมจากสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม

สำรวจและเก็บตัวอย่างสายต้นกระท่อมจากแหล่งปลูกต่างๆ จำนวน 77 สายต้น 158 ตัวอย่าง และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้ง บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาของใบกระท่อม เพื่อจัดจำแนกสายต้น โดยลักษณะสัณฐานวิทยาของสายต้นกระท่อม ตามผนวก 1.4

<u>คำบรรยายลักษณะทางพฤกษศาสตร์</u>

ไม้ยืนต้น สูงได้ถึง 25 เมตร

ใบ ออกตรงกันข้ามแบบตั้งฉากกัน หูใบรูปหอก สีเขียว เขียวอมชมพู หรือแดง ความกว้างหูใบ (0.5-) 1.1 (-2.1) เซนติเมตร ความยาวหูใบ (2.0-) 3.6 (-5.3) เซนติเมตร มีสันกลาง หลุดร่วงได้ ใบรูปรีหรือรูปไข่ ความกว้างใบ (4.1-) 7.4 (-12.8) เซนติเมตร ความยาวใบ (8.4-) 14.6 (-21.8) เซนติเมตร ปลายใบแหลม เรียวแหลม หรือเป็นติ่ง โคนใบมนหรือเว้าเล็กน้อย เส้นใบหลักสีเขียวถึงเขียวอมชมพูหรือสีแดง เส้นใบย่อยแบบขั้นบันได ก้านใบยาว (1.5-) 3.1 (-4.8) เซนติเมตร

ดอก ช่อดอกแบบช่อกระจุกแน่น ออกเดี่ยวที่ปลายกิ่ง เส้นผ่านศูนย์กลางช่อดอก (1.0-) 1.6 (-2.5) เซนติเมตร ดอกรูปดอกเข็ม กลีบดอกสีชมพู รังไข่เกลี้ยง ยอดเกสรรูปกระบอง

ผล ผลแบบผลรวม มีความแข็ง เส้นผ่านศูนย์กลาง (1.0-) 2.3 (-4.3) เซนติเมตร

เมล็ด รูปรี ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร มีปีกบางที่ปลายทั้งสองด้าน

กรมวิชาการเกษตร

การจัดจำแนกสายต้นกระท่อม

ลักษณะเด่นทางพฤกษศาสตร์ที่สามารถใช้ในการจัดจำแนกกระท่อม ได้แก่

1) หูใบ (stipule) มีรูปหอก มีความกว้าง (0.5-) 1.1 (-2.1) เซนติเมตร ความยาว (2.0-) 3.6 (-5.3) เซนติเมตร มีสันกลาง หลุดร่วงได้ แต่มีลักษณะเด่นโดยมีสีเขียว เขียวอมชมพู และสีแดงเป็นเอกลักษณ์เฉพาะสายต้น

2) ก้านใบและเส้นกลางใบหลัก ก้านใบยาว (1.5-) 3.1 (-4.8) เซนติเมตร มีลักษณะเด่นเช่นเดียวกับหูใบ จากลักษณะสีของหูใบและก้านใบ สามารถจำแนกกระท่อมได้ 2 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มที่ 1 ก้านใบและหูใบสีเขียวถึงเขียวอมชมพู

ได้แก่ CPN1 CPN4 CPN18 KBI20 KBI21 NST7 NST8 NST9 NST10 NST11 NST12 NST14 NST15 PTE30 PTE31 SNI32 SNI33 SNI34 SNI36 SNI37 SNI39 SNI40 NBI27 NBI29 PTE23 PTE24 PTE25 PTE26

กลุ่มที่ 2 ก้านใบและหูใบสีแดง

ได้แก่ CPN2 CPN3 CPN17 KBI19 NST13 NST16 SNI35 SNI38

ภาพที่ 10 ลักษณะต้น ใบ หูใบ ของกระท่อม

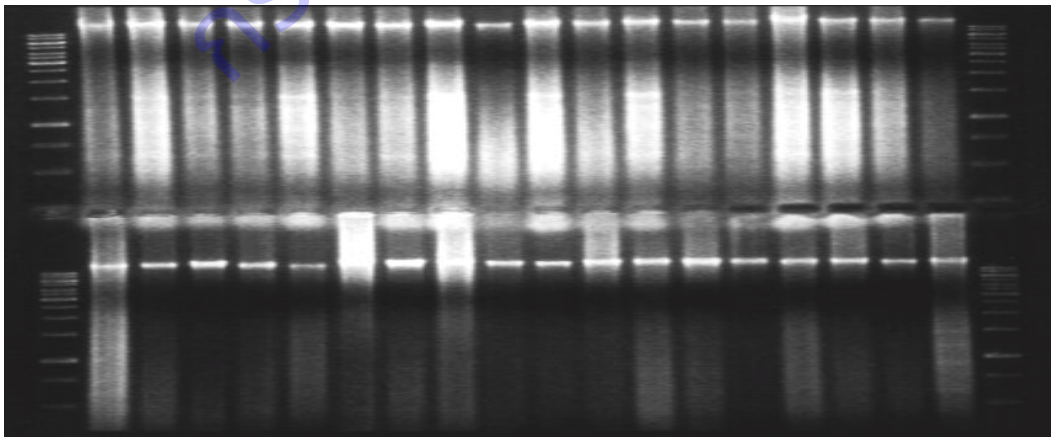
ภาพที่ 11 ลักษณะใบและสีก้านใบกระท่อมที่แตกต่างกัน

ภาพที่ 12 การจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งสายต้นกระท่อม

การทดลองที่ 1.4 การประเมินลักษณะทางพันธุกรรมและดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับการจำแนกสายพันธุ์กระท่อม

1. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับดีเอ็นเอด้วยเทคโนโลยี NGS (Next-generation sequencing)

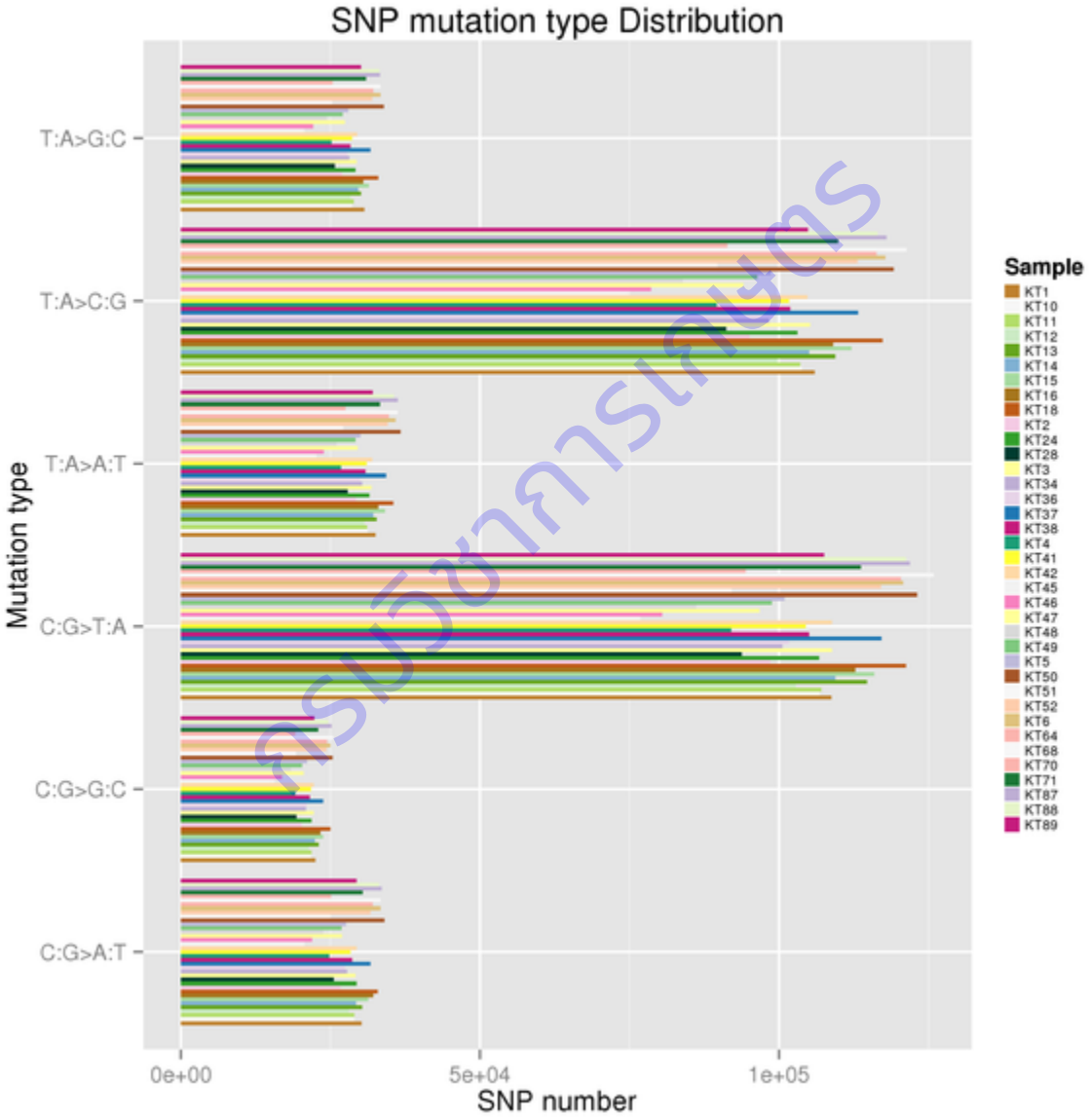
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในระดับดีเอ็นเอโดยใช้เทคโนโลยีเอ็นจีเอส (NGS: Next-generation sequencing) ด้วยเทคนิค GBS (Genome by Sequencing) เป็นเทคนิคที่ศึกษาในระดับจีโนม หรือดีเอ็นเอแบบสุ่มกระจายทั้งจีโนมของพืช ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เมื่อนำมาศึกษาในพืช ทำให้ทราบความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต โดยการกลายไปของตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ ทำให้เกิดความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งตำแหน่งการกลายพันธุ์เหล่านั้นอาจมีความสัมพันธ์กับการเกิดลักษณะสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันไปได้ (Oueslati *et al.*, 2017) จากการสกัดดีเอ็นเอจากใบกระท่อม จำนวน 37 ตัวอย่าง ด้วยวิธี CTAB ตามรายงานของอรุโณทัยและคณะ (2552) พบดีเอ็นเอ (ภาพที่ 13) มีคุณภาพตรงตามมาตรฐานการส่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Next Generation Sequencing (NGS) แพลตฟอร์ม illuminar



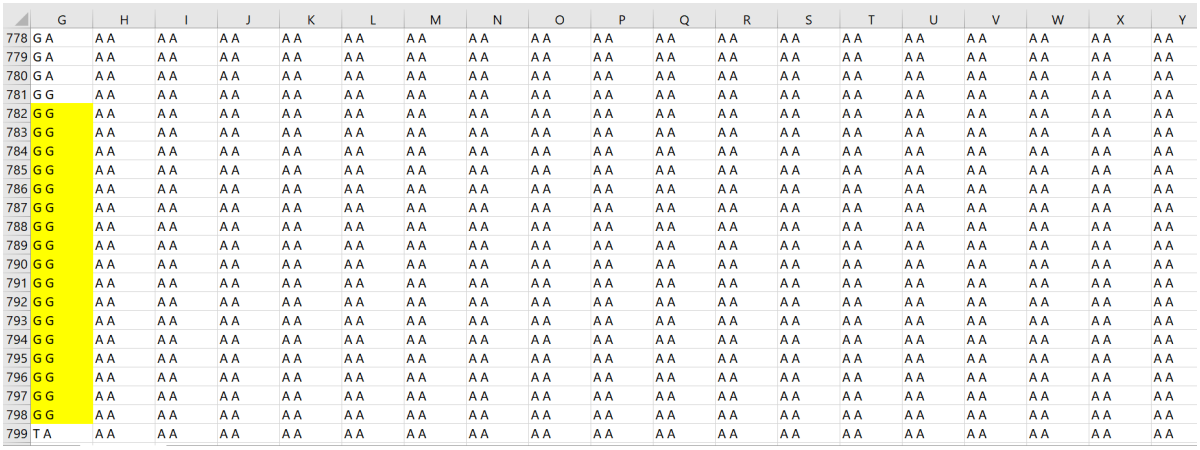
ภาพที่ 13 ดีเอ็นเอจากใบกระท่อมสำหรับการส่งวิเคราะห์ด้วยเทคโนโลยีเอ็นจีเอส

กรมวิชาการเกษตร

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค GBS กับตัวอย่างกระท่อม จำนวน 37 ตัวอย่าง พบตำแหน่งเครื่องดีเอ็นเอหมาย SNPs ที่ให้ความแตกต่าง (polymorphism) ในรูปแบบโฮโมไซโกส (homozygous) และเฮเทอโรไซโกส (heterozygous) รวมทั้งสิ้น จำนวน 1,048,570 ตำแหน่ง กระจายอยู่ทั่วจีโนมที่พบจากชิ้นส่วนที่วิเคราะห์ได้ (ภาพที่ 14) เมื่อนำมากรองข้อมูลเพื่อตัดทิ้ง missing data ในแต่ละตัวอย่างพบมีตำแหน่ง SNPs เหลือเพียง 312,653 ตำแหน่ง ซึ่งพบตำแหน่งจีโนไทป์ (genotyping) ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อสายต้น จำนวนนิวคลีโอไทด์ต่างอยู่ในช่วง 15-125 ตำแหน่ง (ภาพที่ 15) สามารถนำไปพัฒนาเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ เพื่อใช้ประโยชน์ในการจำแนกและคัดเลือกสายพันธุ์กระท่อมต่อไป



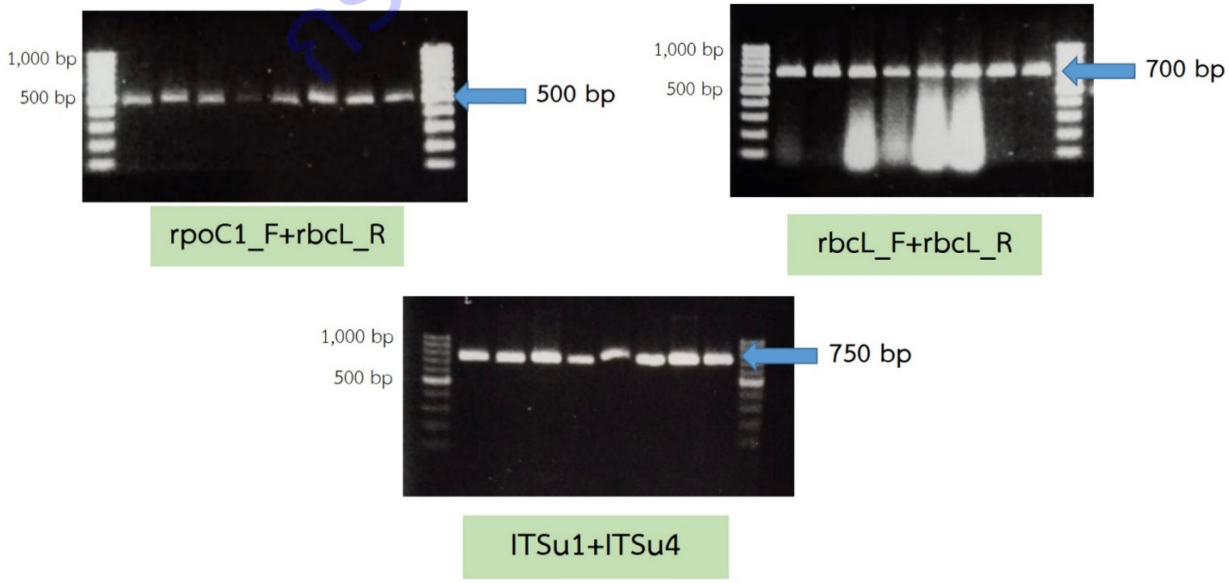
ภาพที่ 14 การกระจายตัวของเครื่องหมาย SNPs บนจีโนมของกระท่อม จำนวน 37 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค GBS



ภาพที่ 15 ตัวอย่างจีโนไทป์ที่เฉพาะเจาะจงต่อสายพันธุ์กระท่อมจากเทคนิค GBS

2. การทดสอบประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลของพืชกับตัวอย่างกระท่อม

การทดสอบไพรเมอร์บาร์โค้ดสากล จำนวน 6 ตำแหน่งยีน ได้แก่ RpoC1 RbcL ITSu1+ITSu4 MatK MatK-413+MatK1227 และ MatK-1RKIM+MatK3FKIM พบไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกระท่อมด้วยวิธีพีซีอาร์ได้ คือ *RpoC1* (rpoC1_F: 5'-GGCAAAGAAGGAAGATTTCG-3'+ rpoC1_R: 5'-TGAGAAAA CATAAGTAAACGAGC-3') *RbcL* (rbcL_F: 5'-ATGTCACCACAAACAGAAACTAAAGC-3'+ rbcL_R: 5'-CTTCGGCACAAAATAAGAAACGATCTC-3') และ *ITSu* (ITSu1: 5'-GGAAGKARAAGTCGTAACAAGG-3'+ ITSu4: 5'-RGTTTCTTTTCCTCCGCTTA-3') ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ชิ้นส่วนขนาด 500 700 และ 750 คู่เบส ตามลำดับ (ภาพที่ 16) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี sanger ได้คุณภาพดีดังภาพที่ 17 สำหรับไพรเมอร์จากยีน *MatK* ทุกตำแหน่งไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกระท่อมได้ อาจเนื่องมาจากลำดับนิวคลีโอไทด์บนยีน *MatK* ของกระท่อมมีความจำเพาะสูงจึงไม่สามารถใช้ตำแหน่งจากพืชอื่นได้

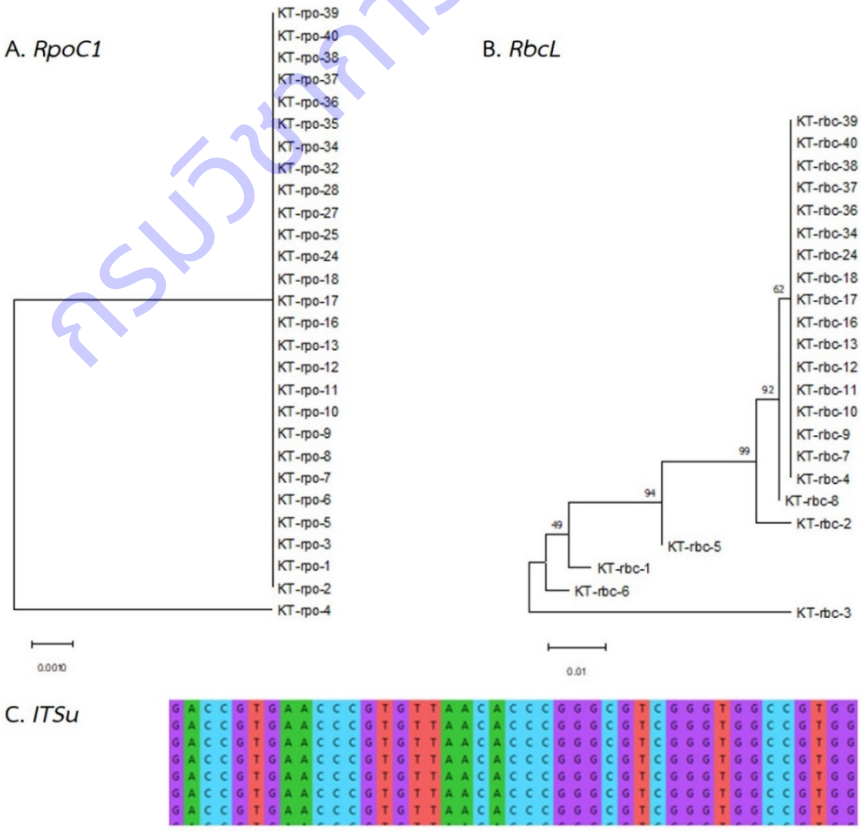


ภาพที่ 16 ผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกระท่อมจากชิ้นส่วนยีน *RpoC1 RbcL* และ *ITSu*

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ภาพที่ 17 โครมาโตแกรมของยีน *RpoC1 RbcL* และ *ITSu* ที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี sanger

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ผลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGA ด้วยวิธี maximum likelihood ที่ค่า bootstrap 1,000 ซ้ำ พบว่า นิวคลีโอไทด์จากยีน *RpoC1* และ *RbcL* สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายต้นได้ แต่จากชิ้นส่วนยีน *ITSu* ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้เลย (ภาพที่ 18) ดังนั้นไพรเมอร์ดีเอ็นเอบาร์โค้ดสากลที่เหมาะสมต่อการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระท่อมคือยีน *RpoC1* และ *RbcL* ซึ่งจะได้นำมาจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกระท่อมที่สำรวจในประเทศไทยต่อไป



ภาพที่ 18 แผนผังทางพันธุกรรมจากชิ้นส่วนยีน *RpoC1 RbcL* และ *ITSu* ที่วิเคราะห์จากโปรแกรม MEGA ด้วยวิธี maximum likelihood ที่ค่า bootstrap 1,000 ซ้ำ

กรมวิชาการเกษตร

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระท่อมที่เหมาะสมต่อการสร้างสารสำคัญ

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของพืชกระท่อม

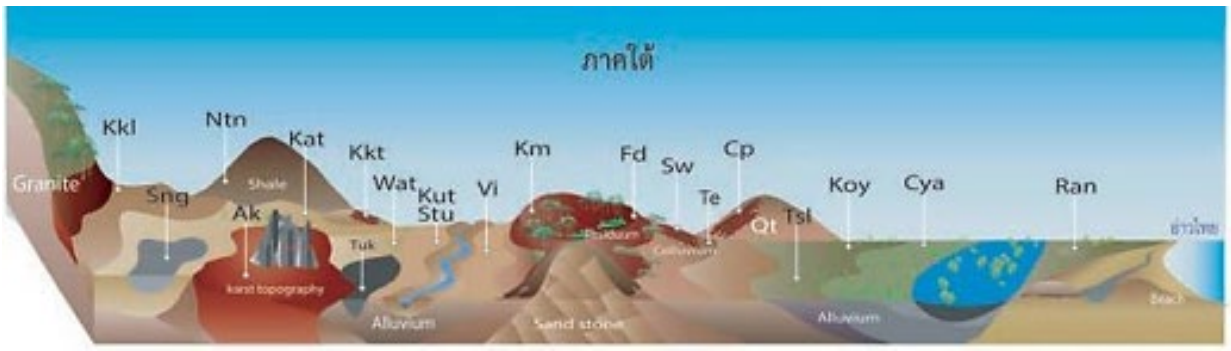
1. ลักษณะภูมิประเทศและสัณฐานธรณีวิทยาของดินที่เกิดการแพร่กระจายของพืชกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน

ลักษณะดินที่สำรวจพบการเกิดและแพร่กระจายของพืชกระท่อมส่วนใหญ่ในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน เป็นดินที่อยู่ในสภาพอากาศที่ค่อนข้างชื้น เนื่องจากสภาพภูมิประเทศที่มีลักษณะเป็นแหลมหรือแผ่นดินยื่นลงไปในทะเล มีพื้นที่ชายฝั่งทะเลเป็นแนวยาวทั้งสองด้าน ตอนกลางมีเทือกเขาสูงทอดตัวเป็นแนวยาวเหนือ-ใต้ และมีสภาพภูมิอากาศเป็นแบบร้อนชื้นมีฝนตกชุก สม่ำเสมอ ดินในพื้นที่ดอนส่วนใหญ่เป็นดินที่มีพัฒนาการมาก มีการชะล้างสูง ความอุดมสมบูรณ์อยู่ในเกณฑ์ต่ำ จัดได้ว่าเป็นดินที่มีศักยภาพทางการเกษตรต่ำถึงค่อนข้างต่ำ สามารถจำแนกลักษณะภูมิประเทศที่มีการสำรวจพบการเกิดและแพร่กระจายของพืชกระท่อม ดังตารางที่ 21 และภาพที่ 19

ตารางที่ 21 สำรวจการแพร่กระจายของพืชกระท่อมบนชุดดินจัดตั้งที่กระจายตัวอยู่ในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน

ที่	ลักษณะภูมิประเทศ	ชุดดิน	กลุ่มชุดดิน	พื้นที่สำรวจ	พันธุ์กระท่อม
1	ที่ราบชายฝั่งทะเลและที่ราบน้ำเคยท่วมถึง	ไชยา (Cya) , วิสัย (Vi)	17,17hi	อ.ท่าชนะ อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี อ.ละแม อ.สวี จ.ชุมพร	1.พันธุ์ก้านเขียว (จำนวน 12 ตัวอย่าง) 2. พันธุ์ก้านเขียวหางกั้ง (จำนวน 2 ตัวอย่าง) 3. พันธุ์ก้านแดง (จำนวน 4 ตัวอย่าง)
2	ลานตะพักลำน้ำระดับต่ำ	ชุมพร (Cp)	45	อ.ทุ่งตะโก อ.เมือง จ.ชุมพร	1.พันธุ์ก้านแดง (จำนวน 12 ตัวอย่าง)
3	เนินเขาและภูเขาหินตะกอนและหินทราย	ฝั่งแดง (Fd), คลองท่อม (Km), สวี (Sw),	34,50	อ.ชัยบุรี อ.ท่าชนะ จ.สุราษฎร์ธานี อ.ละแมอ.หลังสวน อ.สวี จ.ชุมพร	1.พันธ์ก้านเขียว (จำนวน 6 ตัวอย่าง) 2.พันธุ์ก้านแดง (จำนวน 6 ตัวอย่าง) 3.พันธุ์หางกั้ง (ก้านแดงหางกั้ง) (จำนวน 6 ตัวอย่าง)
4	ภูมิประเทศแบบคาสต์จากการสลายตัวผุพังของหินปูนและหินดินดาน	อ่าวลึก (Ak) , กระบี่ (Kbi) , ภูเก็ต (Pk) ,ปากจั่น (Pac) ปะทิว (Ptu)	26	อ.อ่าวลึก อ.เมือง จ.กระบี่ อ.ทับปุด อ.กะปง จ.พังงา อ.ถลาง จ.ภูเก็ต อ.ปะทิว จ.ชุมพร อ.บ้านนาสาร จ.สุราษฎร์ธานี อ.ฉวาง จ.นครศรีธรรมราช	1. พันธุ์ก้านเขียว (จำนวน 6 ตัวอย่าง)
5	ลูกคลื่นลอนลาด เนินเขาและภูเขา	พะโต๊ะ (Pto)	50	อ.ละอุ่น จ.ระนอง อ.ไชยา จ.สุราษฎร์ธานี	1.พันธุ์ก้านเขียว (จำนวน 2 ตัวอย่าง)
	5 ลักษณะภูมิประเทศ	12 ชุดดิน	7 กลุ่มชุดดิน	ภาคใต้ตอนบน	56 ตัวอย่าง

กรมวิชาการเกษตร

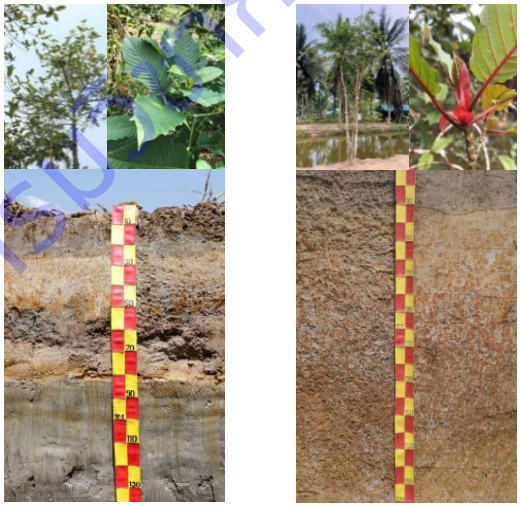


ภาพที่ 19 ภาพตัดขวางลักษณะภูมิประเทศตามการแพร่กระจายในชุดดินต่างๆ (กองสำรวจดินและวิจัยทรัพยากรดิน, 2560)

1.1 ดินที่ลุ่ม

1.1.1 ที่ราบชายฝั่งทะเลและที่ราบน้ำเคยท่วมถึง (Flood plain and Former tidal flat)

ที่ราบลุ่มน้ำทะเลเคยท่วมถึง เป็นบริเวณที่เกิดดินเปรี้ยว (Acid Sulfate soil) ได้แก่ชุด ดินมูโน๊ะ (Mu) และใต้ชั้นที่ลึกลงไปมีสารประกอบกำมะถันสูงและพบจุดประสีเหลืองฟางข้าวจาโรไซด์ (Jarosite) เป็นดินเป็นดินที่มีเนื้อละเอียดถึงเนื้อละเอียดปานกลาง (Clayey to loamy) การระบายน้ำเลว ความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ปฏิกิริยาดินเป็นกรดรุนแรง (pH 3.5-4.0) มีธาตุอะลูมินัม เหล็ก แมงกานีสมากจนเป็นพิษ มีธาตุฟอสฟอรัส (P) ถูกตรึงในดิน พืชดูดใช้ไม่ได้ ซึ่ง ปรับปรุงดินโดยใช้วัสดุปูนและยกร่องเพื่อชะล้างกรดออกไป ส่วนใหญ่ใช้ประโยชน์ในการทำนาข้าวและปลูกปาล์มน้ำมัน (ภาพที่ 20)



(a) (b)

ภาพที่ 20 (a) ชุดดินไชยา (Cya)ดินร่วนปนทรายปนเหนียว หน้าดินลึก ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ-ปานกลาง
(b) ชุดดินวิสัย (Vi)ดินร่วนเหนียวปนทรายกรดจัด ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ

1.12 ลานตะพักลำน้ำระดับต่ำ (Low terrace) เป็นบริเวณที่อยู่ถัดจากที่ราบน้ำท่วมถึงเกิดจากการทับถมของตะกอนลำน้ำมานานแล้ว (Old Alluvium) ดินมีเนื้อละเอียดปานกลางถึงเนื้อละเอียด การระบายน้ำเลวถึงค่อนข้างเลว ใช้ประโยชน์ในการทำนาและสวนปาล์มน้ำมัน (ภาพที่ 21)

กรมการเกษตร

ภาพที่ 21 ชุดดินชุมพร (Cp) ดินตื้น/ดินลูกรัง ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ขาดแคลนน้ำในหน้าแล้ง

1.2 ดินที่ดอน

1.2.1 เนินเขาและภูเขาหินตะกอนและหินทราย

สันดินริมน้ำ ดินที่เกิดบริเวณสันดินริมน้ำ มีชั้นทรายสลับ พบดินร่วนถึงร่วนปนทรายแป้งละเอียด มีความอุดมสมบูรณ์ดีเหมาะ แก่การปลูกไม้ผล แต่อาจมีน้ำไหลบ่าในช่วงเวลาที่ฝนตกหนัก (ภาพที่ 22)

(a) (b)

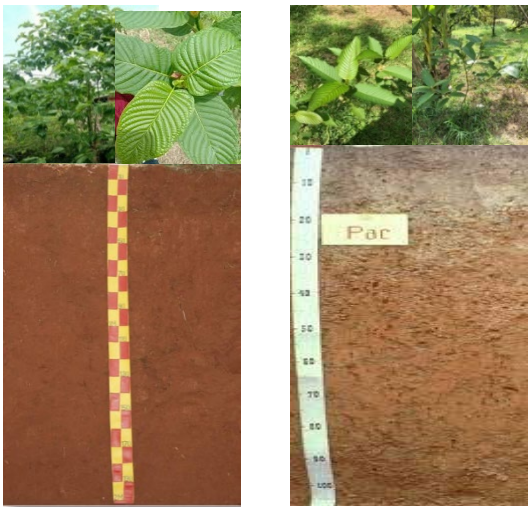
ภาพที่ 22 (a) ชุดดินสวี (Sw) ดินร่วน เนื้อหยาบ ความอุดมสมบูรณ์ต้ำ ขาดแคลนน้ำในหน้าแล้ง

(b) ชุดดินฝั่งแดง (Fd) ดินค่อนข้างเป็นทราย ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ขาดแคลนน้ำในหน้าแล้ง

1.2.2 ภูมิประเทศแบบคาสต์จากการสลายตัวผุพังของหินปูนและหินดินดาน

เนินเขาและภูเขาหินปูน มีการสลายตัว ของหินปูนร่วมกับหินดินดาน ภูมิประเทศแบบคาสต์ (Karst Topography) มีเหล็กและอะลูมินัมสูง หินปูน (Limestone) ดินสีแดง เป็นดินเหนียวสีแดง ร่วนซุยสูง การระบายน้ำดี ความอุ้มน้ำต่ำ ไม่อุ้มน้ำ ขาดน้ำง่าย ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ บริเวณจังหวัดพังงาและกระบี่ ควรมีการจัดการชลประทานด้านน้ำควบคู่กันไป (ภาพที่ 23)

กรมวิชาการเกษตร



(a) (b)

ภาพที่ 23 (a) ชุดดินปากจั่น (Pac)ดินร่วนปนปนเหนียว หน้าดินลึก ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ-ปานกลาง
(b) ชุดดินอ่าวลึก (Ak) ดินเหนียว ดินเหนียวปนร่วน หน้าดินลึก ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ

1.2.3 ลูกคลื่นลอนลาด เนินเขาและภูเขา (hill and mountain) สภาพภูมิประเทศมีความลาดชันสูง พื้นที่มีความลาดชันสูงมาก คือ มากกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ภูเขา และเทือกเขา หินที่พบมีทั้งหินอัคนี พวกหินแกรนิต และหินตะกอน พวกหินดินดาน หินทราย หินทรายแป้ง หินปูน หินบะซอลต์ และควอร์ตไซต์ พื้นที่เกือบทั้งหมดยังคงสภาพเป็นป่าไม้ เกิดจากการสลายตัวของตะกอนเนื้อหยาบ เป็นดินตื้น มีทั้งกลุ่มดินร่วนหยาบ และดินร่วนละเอียด ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัดมาก ถึงกรดจัด (pH 4.5-5.5) ส่วนใหญ่มีการระบายน้ำดี มีข้อจำกัดที่ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ เป็นดินทราย ปรับปรุงดินเพื่อการปลูกพืชโดยใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุง ลักษณะทางกายภาพของดินให้ดีขึ้น (ภาพที่ 24)

ภาพที่ 24 ชุดดินพะโต๊ะ (Pto) เนื้อดินเป็นดินปนทรายปนก้อนกรวด ความอุดมสมบูรณ์ต่ำ

กรมวิชาการเกษตร

2.1 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของพืชกระท่อมที่เกิดการแพร่กระจายในชุดดินต่างๆ

ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของดินบางประการต่อการแพร่กระจายของพืชกระท่อมในชุดดินต่างๆ พบว่า ความหนาแน่นของดิน (bulk density) อยู่ในช่วง 1.18-48 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร ความพรุนรวมของดิน (soil porosity) มีค่า 24.1-30.7% ความซาบซึมน้ำของดิน (soil hydrolic conductivity) พบว่า กลุ่มดินเนื้อละเอียด ได้แก่ ดินร่วนเหนียวปนทราย ดินเหนียวปนร่วน ดินร่วนปนเหนียว และดินร่วนเหนียวปนทราย มีค่าการซาบซึมน้ำอยู่ในช่วง 4.1-14.7 เซนติเมตร/ชั่วโมง ในขณะที่ดินร่วนปนทราย ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มดินเนื้อหยาบ ค่าการซาบซึมน้ำอยู่ในช่วง 18.8-27.5 เซนติเมตร/ชั่วโมง ความชื้นในดิน (soil moisture) อยู่ในช่วง 24.4-34.2% (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 สมบัติทางกายภาพของพืชกระท่อมที่เกิดการแพร่กระจายในชุดดินต่างๆ

ชุดดิน (soil series)	bulk density (g/cm^3)	soil porosity (%)	soil hydrolic conductivity (cm/hr)	soil moisture (%)	soil texture
ไชยา (Cya)	1.42	28.7	4.1	29.3	ร่วนเหนียวปนทราย
วิสัย (Vi)	1.24	24.8	18.8	25.6	ร่วนปนทราย
ชุมพร (Cp)	1.38	25.6	7.2	30.5	ร่วนปนเหนียว
ฝั่งแดง (Fd)	1.18	24.1	27.5	24.4	ร่วนปนทราย
คลองท่อม (Km)	1.27	25.6	22.4	26.8	ร่วนปนทราย
สวี (Sw)	1.42	27.2	14.7	25.0	ร่วนเหนียวปนทราย
อ่าวลึก (Ak)	1.48	29.2	5.2	25.5	เหนียวปนร่วน
กระบี่ (Kbi)	1.35	28.3	5.7	32.4	ร่วนปนดินเหนียว
ปากจั่น (Pac)	1.35	30.7	4.8	34.2	ร่วนปนดินเหนียว
ปะทิว (Ptu)	1.27	25.6	9.5	33.1	ร่วนปนทราย
พะโต๊ะ (Pto)	1.35	24.6	19.1	28.2	ร่วนปนทราย

2.2 สมบัติเคมีของดินบางประการของพืชกระท่อมที่เกิดการแพร่กระจายในชุดดินต่างๆ

ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของดินบางประการต่อการแพร่กระจายของพืชกระท่อมในชุดดินต่างๆ พบว่า ค่าความเป็นเป็นกรด-ด่าง (pH) ดินเป็นดินกรด-กรดจัด มีค่าอยู่ในช่วง 4.57-5.50 ค่าการนำไฟฟ้าของดิน (EC) อยู่ในช่วง 0.27-1.12 เดซิซีเมนต์/เมตร ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (organic matter) อยู่ในช่วง 0.56-1.45% ซึ่งอยู่ในระดับต่ำ ส่วนปริมาณธาตุอาหารในดิน ส่วนใหญ่ค่าความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำ (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 23 สมบัติทางเคมีของพืชกระท่อมที่เกิดการแพร่กระจายในชุดดินต่างๆ

ชุดดิน	pH	EC (dS/m)	OM (%)	N (mg/kg)	P (mg/kg)	K (mg/kg)
ไชยา (Cya)	5.08	0.27	1.20	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ
วิสัย (Vi)	5.50	0.80	0.82	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ
ชุมพร (Cp)	4.63	0.87	0.56	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ
ฝั่งแดง (Fd)	4.62	0.03	0.87	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ

กรมวิชาการเกษตร

คลองท่อม (Km)	5.42	0.37	0.95	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ
สวี (Sw)	4.75	0.54	1.20	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ
อ่าวลึก (Ak)	5.05	1.12	0.84	ต่ำ	ต่ำ	ปานกลาง
กระบี่ (Kbi)	5.21	0.57	1.13	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ
ปากจั่น (Pac)	4.57	0.38	1.25	ต่ำ	ต่ำ	ต่ำ
ปะทิว (Ptu)	5.21	0.53	1.38	ต่ำ	ต่ำ	ปานกลาง
พะโต๊ะ (Pto)	5.25	0.63	1.45	ต่ำ	ต่ำ	ปานกลาง

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาความเข้มข้นของธาตุอาหารต่อการสร้างสารสำคัญในใบกระท่อม

จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของปริมาณธาตุอาหารพืชในใบประท่อมจากห้องปฏิบัติการ จำนวน 64 ตัวอย่าง พบว่า มีปริมาณธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ความเข้มข้น 2.5924 ± 0.30 % 0.1500 ± 0.03 % และ 1.4289 ± 0.33 % ตามลำดับ ปริมาณธาตุอาหารรอง ได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S) ความเข้มข้น 0.9163 ± 0.23 % 0.2889 ± 0.08 % และ 0.1620 ± 0.07 % ตามลำดับ สำหรับธาตุอาหารเสริม ได้แก่ เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) และทองแดง (Cu) ซึ่งมีความเข้มข้น 77.18 ± 48.23 mg kg $^{-1}$ 1,767.65 ± 1,370.29 mg kg $^{-1}$ 39.72 ± 27.22 mg kg $^{-1}$ และ 18.13 ± 20.12 mg kg $^{-1}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 24)

จากผลวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืชในใบกระท่อม จำนวน 64 ตัวอย่าง พบว่า ใบกระท่อมสะสมธาตุไนโตรเจนสูงที่สุด รองลงมาคือธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และกำมะถัน สำหรับธาตุอาหารเสริม พบว่า มีการสะสมธาตุแมงกานีสมากที่สุด โดยพบความเข้มข้นสูงสุดจากกลุ่มตัวอย่าง ปริมาณ 5,051 mg kg $^{-1}$ รองลงมาคือธาตุเหล็ก สังกะสีและทองแดง ตามลำดับ และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุอาหารพืชกับปริมาณสารMitragynineในใบกระท่อม โดยวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation) พบว่า ปริมาณธาตุแมกนีเซียมมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยเป็นความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้าม มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient (r)) เท่ากับ -0.255 (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 24 ความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชในใบกระท่อม

Nutrient	Unit	Leaf Nutrient Concentration
N	%	2.5924 ± 0.30
P	%	0.1500 ± 0.03
K	%	1.4289 ± 0.33
Ca	%	0.9163 ± 0.23
Mg	%	0.2889 ± 0.08
S	%	0.1620 ± 0.07
Fe	mg kg^{-1}	77.18 ± 48.23
Mn	mg kg^{-1}	1,767.65 ± 1,370.29
Zn	mg kg^{-1}	39.72 ± 27.22
Cu	mg kg^{-1}	18.13 ± 20.12

กรมวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 25 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชและปริมาณสาร Mitragynine ในใบกระท่อม

Nutrient	Correlation coefficient (r)
N	-0.091
P	-0.113
K	0.059
Ca	-0.255 *
Mg	0.032
S	-0.183
Fe	-0.202
Mn	-0.198
Zn	-0.140
Cu	-0.071

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

การทดลองที่ 2.3 การจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพผลผลิตกระท่อม

ก่อนการปลูกดำเนินการเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์สมบัติบางประการของดิน เพื่อปรับปรุงดินและเป็นข้อมูลประกอบการวิจารณ์ผลการทดลอง พบว่า ผลวิเคราะห์ดินแปลงทดลอง (ตารางที่ 26) มีค่า pH เท่ากับ 6.24 มีความเป็นกรดเล็กน้อย ค่าการนำไฟฟ้าเหมาะสม มีปริมาณอินทรียวัตถุปานกลาง ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำมาก มีปริมาณโพแทสเซียมระดับปานกลาง และมีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมในดินสูงมาก เนื้อดินเป็นดินร่วน ผลการวิเคราะห์สมบัติบางประการของดินพบว่าดินมีธาตุอาหารหลักต่ำมาก จึงมีการจัดการดินโดยการใช้อินทรีย์วัตถุรองก้นหลุมก่อนปลูกกระท่อม โดยดำเนินการปลูกเมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม 2565 โดยเริ่มใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธี วันที่ 27 ตุลาคม 2565 (กระท่อมอายุ 3 เดือน) และเริ่มวัดการเจริญเติบโตและวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ วันที่ 29 พฤศจิกายน 2565 มีผลการเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ ดังตารางที่ 27-28

ตารางที่ 26 ผลวิเคราะห์ดินสมบัติบางประการของดินแปลงทดลอง

Soil analysis	pH	EC	OM	P	K	Ca	Mg	Soil Texture
		(dS/m)	(%)	mg/kg				
Field trial	6.24	0.08	1.95	42.09	140.53	924.08	285.58	loam

ตารางที่ 27 ข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกระท่อม อายุ 5 เดือน

Treatment	Hight (cm.)	Circumference (cm)	Crown area (m)		Total branch	Total leaves
			N-S	E-W		
T1	70.94	10.45	56.56	59.33	5.67	48.78
T2	64.67	9.03	49.06	54.89	4.61	36.89
T3	70.00	10.96	52.67	53.11	4.56	37.56
T4	68.89	9.45	57.83	50.28	4.76	42.56
T5	68.50	9.93	55.72	58.33	5.28	37.67
T6	63.67	9.04	45.11	54.72	4.88	38.00

ตารางที่ 28 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นกระท่อม อายุ 5 เดือน

Treatment	Chlorophyll content
T1	32.4
T2	27.7
T3	28.4
T4	29.6
T5	30.4
T6	28.2

การทดลองที่ 2.4 การศึกษารูปแบบการตัดแต่งกิ่งกระท่อมที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตและการเก็บเกี่ยว

ก่อนการปลูกดำเนินการเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์สมบัติบางประการของดิน เพื่อปรับปรุงดินและเป็นข้อมูลประกอบการวิจารณ์ผลการทดลอง พบว่า ผลวิเคราะห์ดินแปลงทดลอง (ตารางที่ 29) มีค่า pH เท่ากับ 6.11 มีความเป็นกรดเล็กน้อย ค่าการนำไฟฟ้าเหมาะสม มีปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัสต่ำมาก มีปริมาณโพแทสเซียมสูง และมีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมในดินสูงมาก เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย จากผลการวิเคราะห์สมบัติบางประการของดินพบว่าดินมีธาตุอาหารหลักต่ำมาก จึงมีการจัดการดินโดยการใช้อินทรีย์วัตถุรองก้นหลุมก่อนปลูกกระท่อม โดยดำเนินการปลูกต้นกระท่อมเมื่อวันที่ 25 กรกฎาคม 2565 ตามกรรมวิธี เริ่มวัดการเจริญเติบโต วันที่ 29 พฤศจิกายน 2565 (กระท่อมอายุ 4 เดือน) และวัดการเจริญเติบโตทุกๆ เดือน และจะเริ่มตัดแต่งกิ่งตามกรรมวิธีเมื่อต้นกระท่อมมีความสูงเฉลี่ย 100 เซนติเมตร ผลการเจริญเติบโต แสดงดังตารางที่ 30

ตารางที่ 29 ผลวิเคราะห์ดินสมบัติบางประการของดินแปลงทดลอง

Soil analysis	pH	EC	OM	P	K	Ca	Mg	Soil Texture
		(dS/m)	(%)	mg/kg				
Field trial	6.11	0.09	1.57	17.80	175.29	763.80	320.88	sandy clay loam

ตารางที่ 30 ข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกระท่อม อายุ 5 เดือน

Treatment	Hight (cm.)	Circumference (cm.)	Total branch	Total leaves
M1S1	44.67	0.54	1.25	17.06
M1S2	40.35	0.57	1.23	15.94
M1S3	44.11	0.57	1.63	18.61
M1S4	39.83	0.54	0.92	13.44
M2S1	42.89	0.53	0.69	13.06
M2S2	43.72	0.49	1.38	12.39
M2S3	44.39	0.46	1.50	13.78
M2S4	52.72	0.45	0.63	7.71

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2.5 ศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยาของโรคและแมลงศัตรูกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้

ผลการสำรวจศัตรูของพืชกระท่อม ในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2564 ถึงกันยายน 2565 พบแมลงศัตรูสำคัญของกระท่อม ทั้งหมด 4 อันดับ (Order) 8 วงศ์ (family) รวม 13 ชนิด และพบโรคศัตรูสำคัญของกระท่อม 3 ชนิด (ตารางที่ 31)

จากการศึกษาพบว่าต้นกระท่อมปีหนึ่งๆ จะมีการแตกใบอ่อนหลายครั้ง หลังจากเก็บใบเพื่อบริโภค ส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมเก็บใบคู่ที่ 3 และคู่ที่ 4 โดยเว้นใบคู่ที่ 1-2 ไว้เพื่อจะได้เก็บในรุ่นต่อไปอีก 10-15 วัน เมื่อมีการพัฒนาใบอยู่เสมอจึงเป็นสาเหตุให้เกิดการระบาดของศัตรูพืชหลายชนิดและต่อเนื่องกันตลอดปี แต่ละระยะการเจริญเติบโตจะมีศัตรูเข้าทำลายแตกต่างกันไป แมลงศัตรูที่พบเข้าทำลาย ได้แก่ กลุ่มด้วงปีกแข็ง เช่น แมลงนูน ด้วงกุหลาบ กลุ่มหนอนผีเสื้อกัดกินใบ ได้แก่ หนอนร่าน หนอนม้วนใบ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอกระทู้ กลุ่มแมลงปากดูด ได้แก่ เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง และแมลงหวี่ขาว นอกจากแมลงศัตรูสำคัญ พบการระบาดของโรคที่สำคัญของกระท่อม 3 ชนิด ที่สร้างความเสียหายแก่ต้นกระท่อมเป็นอย่างมาก ได้แก่ โรคราสนิม โรคราดำ และโรคใบไหม้

ตารางที่ 31 ชนิดศัตรูกระท่อมที่พบเข้าทำลายในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2564 – กันยายน พ.ศ. 2565

อันดับ (Order)	วงศ์ (Family)	ชื่อสามัญ (Common Name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific Name)
แมลง			
Coleoptera	Curculionidae	ด้วงกุหลาบ (Rose Beetle)	*Adoretus compressus* Weber
		แมลงนูน, แมลงนูนหลวง (Cockchafer)	*Melolontha melolontha*
Homoptera	Aleyrodidae	แมลงหวี่ขาวเกลียว (Spiralling whitefly)	*Aleurodicus dispersus* Russell
	Aphididae	เพลี้ยอ่อนดำส้ม (Oriental black citrus aphid)	*Toxoptera citricida* (Kirkaldy)
		เพลี้ยอ่อนถั่วเหลือง (Soybean aphid)	*Aphis glycines* Matsumura
Homoptera	Diaspididae	เพลี้ยหอยสีแดง (Red scale)	*Aonidiella aurantii*
	Pseudococcidae	เพลี้ยแป้งส้ม (Citrus mealybug)	*Planococcus citri* (Risso)
Lepidoptera	Noctuidae	หนอนเจาะสมอฝ้าย (Cotton bollworm)	*Heliothis armigera* (Hubner)
		หนอนกระทู้ผัก (armyworm)	*Spodoptera litura* (Fabricius)
Lepidoptera	Limacodidae	หนอนร่าน (Nettle Caterpillar)	-
	Pyralidae	หนอนม้วนใบถั่ว	*Hedylepta indicata* Fabricius

กรมวิชาการเกษตร

	(Leaf Roller)	
	หนอนม้วนใบ	*Hedylepta diemenalis* Guence
	หนอนม้วนใบ	*Archips micaceana* (Walker)
โรค		
	โรคราสนิม (Rust)	-
	โรคราดำ (Black mildew)	-
	โรคใบไหม้ (Leaf blight)	-

กรมวิชาการเกษตร

3.2 ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output)

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)**	เชิงคุณภาพ
1. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD ในกัญชา	1	กระบวนการใหม่	1. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD ในกัญชา	1	กระบวนการใหม่	1. คัดเลือกไพร์เมอร์และโพรบเพื่อใช้ตรวจสอบยีนบ่งชี้ในกัญชา 2. ทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจยีนบ่งชี้ในกัญชา ได้แก่ ทดสอบความจำเพาะ ทดสอบความถูกต้องทดสอบความทวนซ้ำได้ (Repeatability) และความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของกลุ่มยีนที่สามารถหาปริมาณได้อย่างน่าเชื่อถือ (Limit of quantification: LOQ) และเชิงคุณภาพ (Limit of Detection: LOD) ในวิธีการตรวจคัดกรองยีนเชิงปริมาณในกัญชา (ภาคผนวก 2.1)	1. ทราบข้อมูลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD และลำดับเบสของยีนแต่ละตัวโดยเลือกตำแหน่งอนุรักษ์ คัดเลือกไพร์เมอร์และโพรบเพื่อใช้ตรวจสอบยีนเชิงปริมาณในกัญชา 2. ทราบวิธีการสกัดดีเอ็นเอกัญชาที่เหมาะสมกับการตรวจสอบยีน 3. ได้ไพร์เมอร์และโพรบที่มีความจำเพาะกับดีเอ็นที่ของกัญชา มีความถูกต้องแม่นยำ ในการตรวจตรวจสอบยีนเชิงปริมาณในกัญชา
2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการสร้างแคลลัสของกัญชา	1	กระบวนการใหม่	2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการสร้างแคลลัสของกัญชา	1	กระบวนการใหม่	1. การปลูกกัญชา สภาวะการเจริญเติบโต 2. การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นเนื้อเยื่อส่วนตาและ แคลลัสกัญชา 3. การสืบค้นและโคลน ชุดยีน THCA synthase ของกัญชา 5 สายพันธุ์ 4. การสร้างชุดยีน CRISPR/CAS เพื่อกระตุ้นการกลายพันธุ์แบบจำเพาะเจาะจง (ภาคผนวก 2.2)	1. ได้วิธีการปลูกกัญชา สภาวะการเจริญเติบโต 2. ได้ Protocol การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นเนื้อเยื่อและ แคลลัสกัญชา 3. ได้ข้อมูล ชุดยีน THCA synthase ของกัญชา 5 สายพันธุ์ เพื่อใช้ ในการสร้างชุดยีน CRISPR/CAS เพื่อกระตุ้นการกลายพันธุ์แบบจำเพาะเจาะจง

กรมวิชาการเกษตร

3. ศึกษาวิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในกัญชา	1	กระบวนการใหม่	3. ศึกษาวิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในกัญชา	1	กระบวนการใหม่	นำตัวอย่างใบกัญชาจากแหล่งปลูกที่ได้รับอนุญาตมาลดความชื้นตามกรรมวิธี ได้แก่ ผึ่งแดด ผึ่งในที่ร่ม และอบในตู้อบลมร้อน (40 50 60 70 และ 90 ℃) ให้เหลือน้อยกว่า 12% โดยบันทึกข้อมูลปริมาณความชื้นก่อนและหลังลดความชื้น และปริมาณสาร THC และ CBD (ภาคผนวก 2.3)	วิธีการลดความชื้นที่เหมาะสม ช่วยลดการสูญเสียสารสำคัญในขั้นตอนลดความชื้นได้
4. ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา	1	กระบวนการใหม่	4. ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา	1	กระบวนการใหม่	ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาให้ได้ยอดจำนวนมากคือสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 0.5 mg/l หลังจากนำไปทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของสูตรอาหารที่ได้ พบว่า สูตรอาหารดังกล่าวให้จำนวนการเกิดยอดใหม่เฉลี่ย 4 ยอดต่อข้อ และยอดที่ได้มีความสมบูรณ์มากกว่านำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ (ภาคผนวก 2.4)	1. สูตรอาหาที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาให้ได้ยอดจำนวนมาก 1 สูตร
5. เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบไม่ควบคุมอุณหภูมิ	1	กระบวนการใหม่	5. เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบไม่ควบคุมอุณหภูมิ	1	กระบวนการใหม่	ดำเนินการปลูกและเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตในการเจริญเติบโตทางลำต้นใบ เก็บข้อมูลสภาพอากาศ รวมทั้งการเก็บข้อมูลการให้น้ำและปุ๋ยที่เหมาะสมกับต้นกัญชา พบว่า จากการปลูกด้วยต้นที่ได้จากการปักชำ พบว่า สายต้น 3/8, 3/11 และ 3/14 มีขนาดลำต้นใหญ่สุด สายต้น 2/8 มีความสูงของลำต้นสูงสุด ส่วนจำนวนใบ สายต้น 2/3 และ 3/11 มีจำนวนใบต่อกิ่งสูงสุด โดยทางโครงการปลูกเมื่อวันที่ 25 กุมภาพันธ์ และเกือบทุกสายต้นเริ่มออกดอก วันที่ 11 เมษายน 2565 มีเพียงสายต้นเดียวที่ออกดอกเร็ว คือ สายต้น6/4 ที่ออกดอก 29 มีนาคม 2565 สภาพอากาศในโรงเรือนค่อนข้างร้อนจัด มีความร้อนภายใน 35-40 องศาเซียลเซียส ซึ่งค่อนข้างร้อนและในบางครั้งประกอบกับความชื้นสูง เกิดราได้ง่าย รวมทั้งการปลูกนอกฤดูกาลด้วยเช่นกัน จึงทำการทำความสะอาดแปลง และปลูกใหม่ให้ตรงกับฤดูกาลในรอบที่ 2 ต่อไป (ภาคผนวก 2.5)	ได้ข้อมูลการพัฒนาการปลูกกัญชาในสภาพโรงเรืองแบบไม่ควบคุมอุณหภูมิเบื้องต้น เพื่อการพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

6. เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบควบคุมอุณหภูมิ	1	กระบวนการใหม่	6. เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบควบคุมอุณหภูมิ	1	กระบวนการใหม่	ดำเนินการปลูกกัญชงพันธุ์ต่างประเทศในสภาพโรงเรือน ประกอบด้วยสายพันธุ์ 1. lemon G 2. Early ramedy 3. Siskiyou 4. flower cluster 5. T1 ได้นำเข้ามาเพียง 5 สายพันธุ์ ปลูก อีก 5 สายพันธุ์ ในลำดับต่อไป โดยปลูกในโรงเรือนระบบกึ่งปิด โดยใช้แสงเทียมร่วมและ ใช้ระบบเครื่องปรับอากาศเพื่อลดความร้อน พบว่า ในช่วงการเจริญเติบโตสามารถเจริญเติบโตได้ดี สายพันธุ์ที่มีลำต้นใหญ่ที่สุดคือ สายพันธุ์ flower cluster รองลงมาคือสายพันธุ์ lemon G สายพันธุ์ที่มีความสูงที่สูงที่สุด คือสายพันธุ์ Siskiyou รองลงมาคือสายพันธุ์ flower cluster สายพันธุ์ที่มีข้อเยอะที่สุดคือ สายพันธุ์ lemon G (ภาคผนวก 2.6)	ได้ข้อมูลการพัฒนาการปลูกกัญชาในสภาพโรงเรืองแบบควบคุมอุณหภูมิเบื้องต้น เพื่อการพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมต่อไป
7. ความต้องการน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของกัญชาเบื้องต้น	1	กระบวนการใหม่	7. ความต้องการน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของกัญชาเบื้องต้น	1	กระบวนการใหม่	ทำการเก็บตัวอย่างวัสดุปลูกกัญชาเพื่อคำนวณความสามารถในการอุ้มน้ำของวัสดุปลูก ตลอดจนการหาความชื้นที่เปลี่ยนแปลงของวัสดุปลูกแบบรายวัน โดยวิธีการชั่งน้ำหนักก่อนการให้น้ำกับกัญชาในแต่ละรายวัน รวมทั้งติดตั้งอุตุนิยมวิทยาในพื้นที่เพื่อการระเหยคายน้ำของพืชอ้างอิงในพื้นที่ในโรงเรือนทดลอง ทำการคัดเลือกต้นกัญชาที่มีการเจริญเติบโตสม่ำเสมอจำนวน 5 ต้น พบว่า วัสดุปลูกที่มีอัตราส่วนผสม Peat mos : Vermiculite : Perlite (50 : 25 : 25) ต่อน้ำหนักวัสดุที่บรรจุ มีเปอร์เซ็นต์การระบายน้ำของวัสดุเฉลี่ย 16.9 เปอร์เซ็นต์ ความหนาแน่นรวมของวัสดุปลูก 0.16 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ความสามารถในการอุ้มน้ำของวัสดุเฉลี่ย 8.91 มิลลิเมตรต่อความสูงของวัสดุปลูกที่ใช้ปลูกกัญชา 32 เซนติเมตร สำหรับสัมประสิทธิ์การใช้น้ำของกัญชาตั้งแต่วันที่ 25 ม.ค. 65 ถึง 4 มิ.ย.65 อยู่ในช่วง 1.3 ถึง 8.8 การคายน้ำของกัญชาแท้จริงอยู่ในช่วง 32.0 มิลลิเมตรต่อสัปดาห์ ถึง 537.9 มิลลิเมตรต่อเดือน การเจริญเติบโตทางลำต้นและเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นกัญชาอยู่ในช่วง 13.1 ถึง 187.8 เซนติเมตร และ 1.2 ถึง 15.9 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาคผนวก 2.7)	ได้ข้อมูลวัสดุปลูกที่เหมาสมต่อการให้น้ำที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของกัญชาที่ปลูกในสภาพโรงเรือน

กรมวิชาการเกษตร

8. การผลิตต้นกล้าคุณภาพที่ได้จากการตัดชำในเบื้องต้น	1	กระบวนการใหม่	8. การผลิตต้นกล้าคุณภาพที่ได้จากการตัดชำในเบื้องต้น	1	กระบวนการใหม่	การตัดชำต้นกล้า การเลือกกิ่งชำควรเลือกกิ่งที่สมบูรณ์แข็งแรงไม่มีการเข้าทำลายของแมลง โดยกิ่งชำมีการใช้กิ่งชำที่มีจำนวนตาใบ 3 ตาใบในการทดสอบ โดยตัดชำภายในระบบปิด และมีการเปรียบเทียบการตัดชำในในรูปแบบที่กิ่งชำมีการตัดใบและกิ่งชำที่มีการตัดพื้นที่ใบออกครึ่งหนึ่ง และนำมาหาอัตราการรอดของกิ่งชำและการเจริญเติบโตของกิ่งชำเมื่อมีความสูงที่ 20 เซนติเมตร พบว่า กิ่งชำที่มีการมัดใบและไม่ตัดใบมีอัตราการรอดที่ใกล้เคียงกัน แต่ในส่วนของการเจริญเติบโตกิ่งชำที่ไม่มีการตัดใบมีอัตราการเจริญเติบโตที่มากกว่ากิ่งชำที่ตัดใบ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะนำมาใช้เป็นรูปแบบในการพัฒนาการปักชำต่อไป (ภาคผนวก 2.8)	ได้เทคนิคการขยายพันธุ์กัญชาด้วยการปักชำเบื้องต้น เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการขยายพันธุ์กัญชาพันธุ์ดีเชิงการค้าต่อไป
9. ข้อมูลการกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้	1	กระบวนการใหม่	9. ข้อมูลการกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้	1	กระบวนการใหม่	ได้ดำเนินการศึกษาข้อมูลทุติยภูมิ (secondary data) ของการกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ พบว่า มีการกระจายพันธุ์อยู่ในทุกจังหวัดในภาคใต้ และได้ดำเนินการสำรวจ เก็บข้อมูล และเก็บตัวอย่างพืชกระท่อมทั้งหมด 74 สายต้น ปลูกรวมรวมพันธุ์ไว้ที่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 7 จ.สุราษฎร์ธานี (ภาคผนวก 2.9)	มีข้อมูลการกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ และมีสายต้นกระท่อมสำหรับนำมาปลูกเปรียบเทียบพันธุ์
10. การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกระท่อมด้วยไพรเมอร์มาตรฐานที่เหมาะสม	1	กระบวนการใหม่	10. การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกระท่อมด้วยไพรเมอร์มาตรฐานที่เหมาะสม	1	กระบวนการใหม่	1. ได้ตัวอย่างดีเอ็นเอ จำนวน 37 ตัวอย่าง 2. ได้ข้อมูลไพรเมอร์บาร์โค้ดสากลในพืชกระท่อม จำนวน 6 ไพรเมอร์ 3. ได้ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของกระท่อมด้วยเทคนิค GBS จำนวน 37 ตัวอย่าง 3. ได้ผลความหลากหลายทางพันธุกรรมจากดีเอ็นเอบาร์โค้ดสากล จำนวน 3 ยีน ในกระท่อม 20 ตัวอย่าง 4. ได้ข้อมูลจีโนไทป์ของกระท่อมด้วยเทคนิค GBS จำนวน 37 ตัวอย่าง (ภาคผนวก 2.10)	1. ได้ข้อมูลจีโนไทป์ของกระท่อมจากเทคโนโลยี GBS เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และเครื่องหมายดีเอ็นเอ 2. ได้ไพรเมอร์มาตรฐานที่เหมาะสมสำหรับการจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกระท่อม เพื่อเป็นฐานข้อมูลพันธุ์กระท่อมต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

11. ข้อมูลการจำแนกพันธุ์กระท่อมจากสัณฐานวิทยาและลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม	1	กระบวนการใหม่	11. ข้อมูลการจำแนกพันธุ์กระท่อมจากสัณฐานวิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม	1	กระบวนการใหม่	ดำเนินการจัดทำ Herbarium (ตัวอย่างพรรณไม้แห้ง) จำนวน 65 สายต้น 155 ตัวอย่าง และเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการจำแนกสัณฐานวิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม (ภาคผนวก 2.11)	มี Herbarium สำหรับการจำแนกสัณฐานวิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม
12. ข้อมูลสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของพืชกระท่อม	1	กระบวนการใหม่	12. ข้อมูลสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของพืชกระท่อม	1	กระบวนการใหม่	ดำเนินการสำรวจและศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโต ในพื้นที่ จังหวัดภาคใต้ตอน ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดนครศรีธรรมราช จังหวัดชุมพร จังหวัดระนอง จังหวัดพังงา จังหวัดกระบี่ และจังหวัดภูเก็ต จำนวน 56 ตัวอย่าง พบว่า 1. ดินมีสมบัติทางกายภาพอยู่ในระดับปานกลางต่อการเจริญเติบโตของพืช ตั้งอยู่บนลักษณะภูมิประเทศ 4 ลักษณะ ได้แก่ (1) ที่ราบชายฝั่งทะเลและที่ราบน้ำท่วมถึง (2) ตะพักลำน้ำ (3) เนินเขาและภูเขาหินตะกอนและหินทราย (4) ภูมิประเทศแบบคาสต์จากการสลายตัวผุพังของหินปูนและหินดินดาน กระจายในชุดดิน 6 กลุ่ม 12 ชุดดิน 2. ดินมีความอุดมสมบูรณ์เฉลี่ย ต่ำ-ปานกลาง เป็นส่วนใหญ่ พบ 3.สายพันธุ์กระท่อม 4 ลักษณะ ได้แก่ ก้านเขียว ก้านแดง ก้านเขียวหางกั้ง และก้านแดงหางกั้ง 3. การเจริญเติบโตของต้นกระท่อม ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของดิน ดินที่มีความสมบูรณ์มากกว่า มีการเจริญเติบโตดีกว่า (ภาคผนวก 2.12)	1.ข้อมูลสมบัติของดินทางกายภาพ สัมประสิทธิ์การนำน้ำของดินที่อิ่มตัว (saturated hydraulic conductivity) ความหนาแน่นรวม (bulk density) ความจุในการอุ้มน้ำของดิน (water holding capacity) 2. ข้อมูลสมบัติทางเคมีของดิน ได้แก่ pH N P K อินทรียวัตถุ แคลเซียม และแมกนีเซียม 2แบบจำลองหน้าตัดดิน (soil profile) 3. ข้อมูลสภาพการเจริญเติบโตของกระท่อมในต้นที่เก็บตัวอย่าง

กรมวิชาการเกษตร

13. ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างธาตุอาหารและปริมาณสารสำคัญในใบกระท่อม	1	กระบวนการใหม่	13. ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างธาตุอาหารและปริมาณสารสำคัญในใบกระท่อม	1	กระบวนการใหม่	จากการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในตัวอย่างใบกระท่อมเบื้องต้น พบว่า ใบกระท่อมสะสมธาตุไนโตรเจนสูงที่สุด รองลงมาคือธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และกำมะถัน สำหรับธาตุอาหารเสริม พบว่า มีการสะสมธาตุแมงกานีสมากที่สุด โดยพบความเข้มข้นสูงสุดจากกลุ่มตัวอย่างปริมาณ 5,051 mg kg-1 รองลงมาคือธาตุเหล็ก สังกะสีและทองแดง ตามลำดับ และพบว่า ธาตุแมกนีเซียมมีความสัมพันธ์ทางลบกับปริมาณสาร Mitragynine (ภาคผนวก 2.13)	ข้อมูลความสัมพันธ์ของปริมาณธาตุอาหารในใบกระท่อมกับสารสำคัญ สามารถช่วยวางแผนในการจัดการธาตุอาหารได้อย่างเหมาะสม
14. ข้อมูลการสำรวจโรคและแมลงในพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออก และฝั่งตะวันตกของต้นกระท่อมระยะเจริญเติบโตต่างๆ ในปี 2565	1	กระบวนการใหม่	14. ข้อมูลการสำรวจโรคและแมลงในพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออก และฝั่งตะวันตกของต้นกระท่อมระยะเจริญเติบโตต่างๆ ในปี 2565	1	กระบวนการใหม่	ข้อมูลการสำรวจโรคและแมลงในพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออก และฝั่งตะวันตกของต้นกระท่อมระยะเจริญเติบโตต่างๆ ในปี 2565 จากการดำเนินการสำรวจ พบศัตรูสำคัญได้แก่ โรคที่เกิดจากเชื้อรา 3 ชนิด และแมลงศัตรู 11 ชนิด และทราบความสำคัญทางเศรษฐกิจของโรคและแมลงศัตรูสำคัญแต่ละชนิด ลักษณะการเข้าทำลายและความเสียหายที่เกิดขึ้นกับต้นกระท่อม พร้อมได้แนวทางการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ (ภาคผนวก 2.14)	มีข้อมูลโรคและแมลงในกระท่อมเบื้องต้นสำหรับหาวิธีและคำแนะนำในการป้องกันกำจัด

*** ใส่ผลผลิตที่ได้ตามคำรับรอง**

**** หลักฐานเชิงประจักษ์ของผลผลิตให้แสดงรายละเอียดในภาคผนวก และแนบไฟล์ เรียงตามลำดับผลผลิต**

กรมวิชาการเกษตร

3.3 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome) (ถ้ามี)

ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลลัพธ์

*ผลลัพธ์ : ผลสำเร็จที่เกิดจากการนำผลผลิต (Output)ไปต่อยอด การเปลี่ยนรูปของผลผลิตไปสู่รูปแบบที่ใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง หรือการเคลื่อนผลผลิตไปสู่กิจกรรมที่ต่อเนื่อง ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (Change) ที่ปรากฏชัด และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

3.4 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact) (ถ้ามี)

ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลกระทบ
ด้านเศรษฐกิจ :	
ด้านสังคม :	
ด้านสิ่งแวดล้อม :	

* ผลกระทบ : ผลประโยชน์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงตามผลลัพธ์ (Results of the change) ซึ่งวัดได้อย่างชัดเจนและมีหลักฐานปรากฏชัด (Evidence-based) ทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม ทั้งที่วัดในเชิงปริมาณได้และไม่ได้ ผลกระทบอาจเป็นได้ทั้งทางบวกและทางลบ

3.5 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีการ/กระบวนการผลักดันงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (โปรดแนบหลักฐานเชิงประจักษ์การนำผลงานไปใช้ประโยชน์ โดยชี้แจงรายละเอียดไว้ในภาคผนวก และแนบไฟล์หลักฐาน)

ด้านวิชาการ

พืชสกุลกัญชา มีการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ โดยการถ่ายทอดสู่นักวิชาการของกรมวิชาการเกษตรที่ดำเนินงานเกี่ยวกับพืชสกุลกัญชา เกษตรกร และผู้ประกอบการเกี่ยวกับพืชสกุลกัญชา ผ่านการจัดฝึกอบรมถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้จากผลงานวิจัย จำนวน 80 ราย รวมทั้งได้แลกเปลี่ยนองค์ความรู้กับเกษตรกรผู้ปลูกพืชสกุลกัญชาและผู้ประกอบการ รวมทั้งผู้พัฒนาสายพันธุ์กัญชาสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ (ภาคผนวก 3.1)

พืชกระท่อม มีการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ โดยการถ่ายทอดสู่เกษตรกรผู้สนใจ ผ่านการเสวนาและจัดนิทรรศการการดำเนินงานเกี่ยวกับพืชกระท่อมของกรมวิชาการเกษตร ในงานโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตและขยายกระท่อมพันธุ์ดี ในวันที่ 8 เมษายน 2565 ณ ศูนย์ขยายพันธุ์พืชที่ 4 อำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช (ภาคผนวก 3.2) และงานพิธีวางศิลาฤกษ์ อนุสรณ์สถานพืชกระท่อม ในวันที่ 24 สิงหาคม 2565 เวลา ณ องค์การบริหารส่วนตำบลน้ำพุ อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ภาคผนวก 3.3)

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผลและอภิปรายผล

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

โครงการย่อยที่ 1 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบด้วย 7 กิจกรรม 15 การทดลอง โดยดำเนินการจำแนกสายพันธุ์กัญชา เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการพัฒนาสายพันธุ์ ตรวจสอบแหล่งที่มาของสายพันธุ์กัญชา และการศึกษาลักษณะการแสดงออกของยีนที่ผลต่อปริมาณสารสำคัญ ซึ่งจะเป็นข้อมูลในการพัฒนาสายพันธุ์กัญชาให้ได้สายพันธุ์ที่มีปริมาณสารสำคัญสูง ในส่วนของเทคโนโลยีการผลิต ได้แก่ การปลูกกัญชาในโรงเรือน การให้น้ำในปริมาณที่เหมาะสม การอารักขา และการขยายพันธุ์กัญชา เป็นการวิจัยและพัฒนาเพื่อให้ได้รูปแบบการผลิตกัญชาที่เหมาะสมในการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และสุดท้ายในส่วนของเทคโนโลยีการเก็บเกี่ยว เป็นการหาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวและกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อคงสภาพวัตถุดิบกัญชาให้มีคุณภาพและความปลอดภัย เพื่อนำไปสู่กระบวนการแปรรูปต่อไป ซึ่งใช้งบประมาณในการดำเนินงานในปี 2565 จำนวน 5,096,000 บาท สามารถสรุปผลและอภิปรายผลงานวิจัย ดังนี้

1. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 4 กระบวนการใหม่ ดังนี้

1.1 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD ในกัญชา ซึ่งจะช่วยให้ทราบข้อมูลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD และลำดับเบสของยีนแต่ละตัวโดยเลือกตำแหน่งอนุรักษ์สามารถคัดเลือกไพร์เมอร์และโพรบที่มีความจำเพาะกับดีเอ็นที่ของกัญชา มีความถูกต้องแม่นยำ ในการตรวจตรวจสอบยีนเชิงปริมาณในกัญชา

1.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการสร้างแคลลัสของกัญชา โดยได้ Protocol การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นเนื้อเยื่อและแคลลัสกัญชา และได้ข้อมูล ชุดยีน THCA synthase ของกัญชา 5 สายพันธุ์ เพื่อใช้ ในการสร้างชุดยีน CRISPR/CAS เพื่อกระตุ้นการกลายพันธุ์แบบจำเพาะเจาะจง

1.3 สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา คือสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 0.5 mg/l หลังจากนำไปทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของสูตรอาหารที่ได้ พบว่า สูตรอาหารดังกล่าวให้จำนวนการเกิดยอดใหม่เฉลี่ยน 4 ยอดต่อข้อ และยอดที่ได้มีความสมบูรณ์มากกว่านำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ

1.4 วิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในกัญชา จากการทดสอบวิธีการลดความชื้นใบกัญชาให้เหลือน้อยกว่า 12% ตามกรรมวิธี ได้แก่ ผึ่งในที่ร่ม ใช้แสงแดด และอบในตู้อบลมร้อน (40 50 60 70 และ 90 °C) พบว่า การอบใบกัญชาที่ 90 และ 70°C นาน 2 ชั่วโมง จะทำให้ความชื้นเริ่มต้น 67.37% ลดเหลือ 6.55 และ 7.91% ตามลำดับ ในขณะที่การอบ 60 °C นาน 4 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 7.92% การอบ 50 °C นาน 6 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 9.63% การอบ 40 °C นาน 12 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 10.15% การลดความชื้นด้วยการผึ่งแดด นาน 52 ชั่วโมง ความชื้นคงเหลือ 9.63% และการนำใบกัญชาผึ่งในที่ร่ม นาน 120 ชั่วโมง ทำให้ความชื้นเหลือ 11.36% ส่วนปริมาณสาร THC และ CBD อยู่ในระหว่างการรอผลวิเคราะห์

กรมวิชาการเกษตร

2. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม จำนวน 4 กระบวนการใหม่ ดังนี้

2.1 เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบไม่ควบคุมอุณหภูมิ เหมาะสำหรับกัญชาสายพันธุ์ไทย มีวิธีดูแลรักษาช่วงการเจริญเติบโตทางลำต้น หลังย้ายปลูกภายในโรงเรือนระบบไม่ควบคุมอุณหภูมิ ดังนี้ โดยใช้กล้ากัญชาอายุ 21 วัน ปลูกใน ภาชนะ air pot ขนาด 37 ลิตร ใช้วัสดุปลูก ได้แก่ พีทมอส เวอร์มิคูไลท์ และเพอร์ไลท์ ในอัตรา 70:15:15 ให้น้ำด้วยวิธีน้ำหยดโดยให้ปริมาณ 1.8 ลิตรต่อวัน แบ่งออกเป็น 2 ครั้ง เช้า –บ่าย 4. ให้ปุ๋ยสูตร 21-0-0 ปริมาณ 107.8 กรัมต่อต้น ปุ๋ยสูตร 18-46-0 ปริมาณ 16.3 กรัมต่อต้น และปุ๋ยสูตร 0-0-60 ปริมาณ 12.3 กรัมต่อต้น โดยปุ๋ยแต่ละชนิดแบ่งใส่ 7 ครั้ง และให้แสงเทียมเพิ่มวันละ 5 ชั่วโมง เป็นเวลา 90 วัน หลังจากที่ต้นเจริญเติบโตเต็มที่ (ประมาณ 60 วัน) จึงหยุดใช้แสงเทียม กัญชาจะเข้าสู่ระยะออกดอก ลดการให้น้ำเหลือวันละ 1.5 ลิตร แบ่ง 2 ครั้ง เช้า บ่าย ใส่ปุ๋ยสูตร 21-0-0 ปริมาณ 12 กรัมต่อต้น ปุ๋ยสูตร 18-46-0 ปริมาณ 6 กรัมต่อต้น และปุ๋ยสูตร 0-0-60 ปริมาณ 12 กรัมต่อต้น โดยปุ๋ยแต่ละชนิดแบ่งใส่ 4 ครั้ง

2.2 เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบควบคุมอุณหภูมิ เหมาะสำหรับกัญชาสายพันธุ์จากต่างประเทศ มีวิธีดูแลรักษาเช่นเดียวกับ ข้อ 2.1

2.3 ความต้องการน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของกัญชาเบื้องต้น ได้คำแนะนำการให้น้ำของกัญชาพันธุ์ฝอยทองเริ่มตั้งแต่ต้นกล้ากัญชาพันธุ์ฝอยทองอายุ 1 เดือนแล้ว ให้น้ำ ดังนี้ สัปดาห์ที่ 5 เท่ากับ 0.32 ลิตรต่อวัน (เริ่มปลูกในกระถาง) สัปดาห์ที่ 6-9 เท่ากับ 0.63 ลิตรต่อวัน สัปดาห์ที่ 10-13 เท่ากับ 1.23 ลิตรต่อวัน สัปดาห์ที่ 14-17 เท่ากับ 2.01 ลิตรต่อวัน สัปดาห์ที่ 18-21 เท่ากับ 2.00 ลิตรต่อวัน และสัปดาห์ที่ 22 เท่ากับ 1.97 ลิตรต่อวัน

2.4 การผลิตต้นกล้าคุณภาพที่ได้จากการตัดชำในเบื้องต้น มีวิธีการดังนี้ คือ ควรเลือกกิ่งที่สมบูรณ์แข็งแรงไม่มีการเข้าทำลายของแมลง โดยกิ่งชำมีการใช้กิ่งชำที่มีจำนวนตาใบ 3 ตาใบ ตัดชำภายในระบบปิด โดยกิ่งชำที่นำมาชำจะทำการตัดใบหรือไม่ตัดใบมีอัตราการรอดที่ใกล้เคียงกัน แต่ในส่วนของการเจริญเติบโตกิ่งชำที่ไม่มีการตัดใบมีอัตราการเจริญเติบโตที่มากกว่ากิ่งชำที่ตัดใบ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะนำมาใช้เป็นรูปแบบในการพัฒนาการปักชำต่อไปจากผลดำเนินงานวิจัยในปี 2565 เป็นเพียงข้อมูลงานวิจัยเบื้องต้น ซึ่งจำเป็นต้องมีการเก็บข้อมูลและศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในปีถัดไป เพื่อให้ได้ข้อมูลและองค์ความรู้ที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม ได้มีการเผยแพร่ผลงานวิจัยบางส่วนสู่เกษตรกร/กลุ่มเกษตรกรผู้วิจัยร่วม หรือเกษตรกรที่ให้พื้นที่ในการเก็บข้อมูล นักวิจัยได้ให้คำแนะนำเบื้องต้นในการปลูกและการดูแลรักษาพืชสกุลกัญชาและพืชกระท่อมเบื้องต้น และจัดอบรมเผยแพร่ผลงานวิจัยบางส่วนสู่นักวิชาการของกรมวิชาการเกษตร ด้านพันธุ์ การผลิต การจัดการโรคและแมลง รวมทั้งการขยายพันธุ์พืชสกุลกัญชา เมื่อวันที่ 17-19 มกรมคม 2566 โดยมีผู้เข้ารับการอบรม จำนวน 80 ราย

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ประกอบด้วย 2 กิจกรรม 9 การทดลอง โดยดำเนินการ รวบรวม ทดสอบ และคัดเลือกสายต้น เพื่อให้ได้สายต้นที่มีสารสำคัญสูง ควบคู่กับการการจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการจำแนกสายต้น นอกจากทำให้ได้สายต้นที่มีสารสำคัญสูง และทำให้ทราบถึงรายละเอียดและลักษณะของสายต้นกระท่อมที่ทำการคัดเลือก และศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกระท่อมที่เหมาะสมต่อการ

กรมวิชาการเกษตร

สร้างสารสำคัญ ช่วยให้สามารถทำให้จัดการดูแลรักษากระท่อมในแปลงปลูกได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม รวมทั้งการศึกษาการเก็บเกี่ยวและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวกระท่อมที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตกระท่อมที่มีคุณภาพมีสารสำคัญทางการแพทย์ที่ต้องการในปริมาณสูงได้ ซึ่งใช้งบประมาณในการดำเนินงานในปี 2565 จำนวน 2,574,925 บาท สามารถสรุปผลสรุปผลและอภิปรายผลงานวิจัย ดังนี้

1. ได้เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ จำนวน 6 กระบวนการใหม่ ดังนี้

1.1 ข้อมูลการกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้ พบว่า มีการกระจายพันธุ์อยู่ทุกจังหวัดภาคใต้ ดำเนินการสำรวจ เก็บข้อมูล และเก็บตัวอย่างพืชกระท่อม จำนวน 74 สายต้น นำมาปลูกรวบรวมพันธุ์ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 7 จ.สุราษฎร์ธานี

1.2 การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกระท่อมด้วยไพรเมอร์มาตรฐานที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการศึกษาความหลากลายทางพันธุกรรม และเครื่องหมายดีเอ็นเอ และเพื่อเป็นฐานข้อมูลพันธุ์กระท่อมต่อไป

1.3 ข้อมูลการจำแนกพันธุ์กระท่อมจากสัณฐานวิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม

1.4 ข้อมูลสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของพืชกระท่อม จากการศึกษา พบว่า ดินมีสมบัติทางกายภาพอยู่ในระดับปานกลางต่อการเจริญเติบโตของพืช และการเจริญเติบโตของต้นกระท่อม ขึ้นอยู่กับความอุมดมสมบูรณ์ของดิน ดินที่มีความสมบูรณ์ของธาตุอาหารในดินมากกว่า มีการเจริญเติบโตดีกว่า

1.5 ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างธาตุอาหารและปริมาณสารสำคัญในใบกระท่อม พบว่า ใบกระท่อมสะสมธาตุไนโตรเจนสูงที่สุด รองลงมาคือธาตุโพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และกำมะถัน สำหรับธาตุอาหารเสริม พบว่า มีการสะสมธาตุแมงกานีสมากที่สุด โดยพบความเข้มข้นสูงสุดจากกลุ่มตัวอย่างปริมาณ 5,051 mg kg^{-1} รองลงมาคือธาตุเหล็ก สังกะสีและทองแดง ตามลำดับ และพบว่า ธาตุแมกนีเซียมมีความสัมพันธ์ทางลบกับปริมาณสารMitragynine

1.6 ข้อมูลการสำรวจโรคและแมลงในพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออก และฝั่งตะวันตกของต้นกระท่อมระยะเจริญเติบโตต่างๆ ในปี 2565 พบศัตรูสำคัญได้แก่ โรคที่เกิดจากเชื้อรา 3 ชนิด และแมลงศัตรู 11 ชนิด และทราบความสำคัญทางเศรษฐกิจของโรคและแมลงศัตรูสำคัญแต่ละชนิด ลักษณะการเข้าทำลายและความเสียหายที่เกิดขึ้นกับต้นกระท่อม พร้อมได้แนวทางการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญ

อย่างไรก็ตาม แผนการดำเนินงานโครงการวิจัยสิ้นสุดในปี 2567 ซึ่งจะทำให้ได้ข้อมูลวิชาการด้านพันธุ์ การปลูก การดูแลรักษา การเก็บเกี่ยว และการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสุกลกัญชาและพืชกระท่อมได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม ให้กับเกษตรกรกลุ่มเกษตรกรและผู้สนใจได้ศึกษาและนำไปปฏิบัติ เพื่อให้ได้ผลผลิตและวัตถุดิบพืชสุกลกัญชาและพืชกระท่อมที่มีคุณภาพและปลอดภัย สำหรับใช้ในอุตสาหกรรมยาและใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

ไม่มี

กรมวิชาการเกษตร

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน

1. โครงการย่อยที่ 1 วิจัยเทคโนโลยีการผลิตพืชสกุลกัญชาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ การดำเนินงานทุกกิจกรรมดำเนินการภายใต้โรงเรือนความปลอดภัยทางชีวภาพ ที่พัฒนาสำหรับงานวิจัยพืชสกุลกัญชา จากการดำเนินการปลูกกัญชาภายในโรงเรือนรอบที่ 1 พบการระบาดของโรงและแมลงภายในโรงเรือน จึงทำให้ต้นกัญชาส่วนหนึ่งได้รับความเสียหาย จึงดำเนินการทำความสะอาดโรงเรือนและปลูกกัญชาในรอบที่ 2 สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกัญชาพันธุ์ดีที่นำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในท่อลำเลี้ยงน้ำและอาหารของต้นแม่พันธุ์การฟอกฆ่าเชื้อภายนอกไม่สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียให้หมดไปได้ หลังจากเพาะเลี้ยงไป 4 สัปดาห์แบคทีเรียที่แฝงอยู่จึงเริ่มเจริญเติบโตขึ้นส่งผลให้ต้นกัญชาเริ่มแสดงอาการเหี่ยวและตายในที่สุด ทำให้เสียเวลาหาวิธีการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่แฝงมากับต้นแม่ จึงทำให้การดำเนินงานกิจกรรมภายใต้โครงการวิจัยย่อยฯ เกิดความล่าช้ากว่าแผนการดำเนินงานที่วางไว้

2. โครงการวิจัยย่อยที่ 2 วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตพืชกระท่อมเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ พบปัญหาและอุปสรรคในการดำเนินงาน ดังนี้ 1. การขอใช้พื้นที่และจัดการพื้นที่แปลงทดลองเกิดความล่าช้า 2. เนื่องจากห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์ตัวอย่าง (ปริมาณสาร Mitragynine และปริมาณธาตุอาหาร) มีตัวอย่างจำนวนมาก ทำให้ได้ผลวิเคราะห์ล่าช้า จึงทำให้การดำเนินงานล่าช้ากว่าแผนที่วางไว้ และ 3.ต้นกระท่อมที่ปลูกในแปลงทดลองแสดงอาการชะงักการเจริญเติบโต เนื่องจากโดนละอองสารกำจัดวัชพืช จึงทำให้ช่วงแรกของการปลูกมีการเจริญเติบโตช้า

กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

ลิลลี่ กาวีต๊ะ และคณะ. 2549. สัณฐานและกายวิภาคของกัญชงที่ปลูกในประเทศไทย (Morphological and anatomical characteristics of Hemp (*Cannabis sativa* L.) in Thailand). *Agricultural Sci. J.* 37 (4): 293-302.

Anderson, LC. 1974. A study of systematic wood anatomy in *Cannabis*. Botanical Museum Leaflets, Harvard University 24: 29-36.

Raman, V. et al. 2017. Morpho-Anatomy of Marijuana (*Cannabis sativa* L.). *Botany and Biotechnology*: 123–136.

Roger, S.O. and A.J. Bendich. 1985. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh herbarium and mummified plant tissues. Plant Mol. Biol. 5: 69-76.

Spitzer-Rimon, B., Duchin, S., Bernstein, N. and Kamenetsky, R. 2019. Architecture and Florogenesis in Female Cannabis sativa Plants. *Front Plant Sci*.: 1-11.

International union for the protection of new varieties of plants (UPOV- CANNB_SAT). 2011. Retrieved from https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/tc_edc_jan12/tg_can_sat_proj_5.

Weiblen, G.D., J.P. Wenger, K. Craft, M. A. ElSohly, Z. Mehmedic, E. Treiber and M.D. Mark. 2015. New Phytol Dec;208(4):1241-50. (doi: 10.1111/nph.13562. Epub 2015 Jul 17.)

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก 1

สิ่งที่แสดงประกอบเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับเนื้อหาผลงานวิจัย

ลำดับภาคผนวก 1	สิ่งที่แสดงประกอบเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับเนื้อหาผลงานวิจัย	ไฟล์เอกสารหลักฐาน
ภาคผนวก 1.1	การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ของกัญชา (*Cannabis sativa* L.) พันธุ์พื้นเมืองของไทย	
ภาคผนวก 1.2	การศึกษาทางพฤกษเคมีของกัญชา (*Cannabis sativa* L.) พันธุ์พื้นเมืองที่และพันธุ์การค้าต่างประเทศ	
ภาคผนวก 1.3	ภาพแมลงศัตรูกัญชา	
ภาคผนวก 1.4	ลักษณะสัณฐานวิทยาของสายต้นกระท่อม	

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก 2

หลักฐานเชิงประจักษ์ของผลผลิตที่ได้ จากข้อ 3.2 โดยให้เรียงข้อมูลหลักฐานตามผลผลิตที่แสดงในตาราง

ลำดับภาคผนวก 2	ประเภทผลผลิต	ผลผลิต	ไฟล์เอกสารหลักฐาน
ภาคผนวก 2.1	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร THC และ CBD ในกัญชา	
ภาคผนวก 2.2	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการสร้างแคลลัสของกัญชา	
ภาคผนวก 2.3	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	ศึกษาวิธีการลดความชื้นที่เหมาะสมและพัฒนาวิธีการสกัดสารสำคัญในกัญชา	
ภาคผนวก 2.4	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในกัญชา	
ภาคผนวก 2.5	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม	เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบไม่ควบคุมอุณหภูมิ	
ภาคผนวก 2.6	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม	เทคโนโลยีการผลิตกัญชาในสภาพการปลูกแบบโรงเรือนระบบควบคุมอุณหภูมิ	
ภาคผนวก 2.7	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม	ความต้องการน้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของกัญชาเบื้องต้น	
ภาคผนวก 2.8	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับภาคสนาม	การผลิตต้นกล้าคุณภาพที่ได้จากการตัดชำในเบื้องต้น	

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก 2.9	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	ข้อมูลการกระจายพันธุ์ของกระท่อมในพื้นที่ภาคใต้	
ภาคผนวก 2.10	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	การจัดทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดของกระท่อมด้วยไพรเมอร์มาตรฐานที่เหมาะสม	
ภาคผนวก 2.11	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	ข้อมูลการจำแนกพันธุ์กระท่อมจากสัณฐานวิทยา และลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรของกระท่อม	
ภาคผนวก 2.12	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	ข้อมูลสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีบางประการของดินต่อการเจริญเติบโตและสร้างสารสำคัญของพืชกระท่อม	
ภาคผนวก 2.13	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างธาตุอาหารและปริมาณสารสำคัญในใบกระท่อม	
ภาคผนวก 2.14	เทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ ระดับห้องปฏิบัติการ	ข้อมูลการสำรวจโรคและแมลงในพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออก และฝั่งตะวันตกของต้นกระท่อมระยะเจริญเติบโตต่างๆ ในปี 2565	

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก 3

หลักฐานเชิงประจักษ์ของการนำผลงานไปใช้ประโยชน์

ลำดับภาคผนวก 3	การนำผลงานไปใช้ประโยชน์	ไฟล์เอกสารหลักฐาน
ภาคผนวก 3.1	การถ่ายทอดสู่นักวิชาการของกรมวิชาการเกษตรที่ดำเนินงานเกี่ยวกับพืชสกุลกัญชา เกษตรกร และผู้ประกอบการเกี่ยวกับพืชสกุลกัญชา ผ่านการจัดฝึกอบรมถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้จากผลงานวิจัย จำนวน 80 ราย เมื่อวันที่ 17-19 มกราคม 2566 รวมทั้งได้แลกเปลี่ยนองค์ความรู้กับเกษตรกรผู้ปลูกพืชสกุลกัญชาและผู้ประกอบการ รวมทั้งผู้พัฒนาสายพันธุ์กัญชาสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ	
ภาคผนวก 3.2	การเสวนาและจัดนิทรรศการ การดำเนินงานเกี่ยวกับพืชกระท่อมของกรมวิชาการเกษตร ในงานโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตและขยายกระท่อมพันธุ์ดี ในวันที่ 8 เมษายน 2565 ณ ศูนย์ขยายพันธุ์พืชที่ 4 อำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช	
ภาคผนวก 3.3	การเสวนาการดำเนินงานเกี่ยวกับพืชกระท่อมของกรมวิชาการเกษตร งานพิธีวางศิลาฤกษ์ อนุสรณ์สถานพืชกระท่อม ในวันที่ 24 สิงหาคม 2565 ณ องค์การบริหารส่วนตำบลน้ำพุ อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี	

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก 4

หลักฐานการปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

(ไม่มี)

กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร