ระดับโครงการ

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับทุนสนับสนุนงานพื้นฐาน (Fundamental Fund)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

หน่วยงาน กรมวิชาการเกษตร

รายงานโครงการวิจัย

การประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช

Evaluation and Utilization of Plant Germplasm

หัวหน้าโครงการวิจัย

สุพินญา บุญมานพ

Suphinya Bunmanop

ปี 2565

กรมวิชาการเกษตร

บทสรุปผู้บริหาร

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย / โครงการวิจัย

1.1 โครงการวิจัยการประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช

Evaluation and Utilization of Plant Germplasm

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

หัวหน้าการโครงการ	1.นางสาวสุพินญา บุญมานพ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมโครงการ	2.นายพิทยา วงษ์ช้าง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	3.นางสาวสุกัลยา ศิริฟองนุกูล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	4.นางประกาย อ่อนวิมล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	5.นางสาววรารัตน์ ศรีประพัฒน์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	6.นางสาวมัลลิกา แก้ววิเศษ	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	7.นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	8.นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	9.นางสาวอัสนี ส่งเสริม	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	10.นางสาวพัชร ปิริยวินิตร	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	11.นางสาวอภิญญา วงศ์เปี้ย	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	12.นายธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	13.นางอ้อยทิน ผลพานิช	ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่
	14.นายอนุวัฒน์ รัตนชัย	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผล
	15.นางสาวมณฑิรา ภูติวรนาถ	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
	16.นายไพฑูรย์ บุปผาดา	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอำนาจเจริญ
	17.นายบุญร่วม คิดค้า	มหาวิทยาลัยพะเยา
	18.นางสาววชิรญา อิ่มสบาย	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน
	19.นางสาวสิรินาฏ น้อยพิทักษ์	ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน
	20.นางสาวสมนึก พรมแดง	ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน
	21.นางสาวอุทัยวรรณ สุทธิศันสนีย์	สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
	22.นางสาวยุราพร สหัสกุล	สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
	23.นางสาวอมรรัตน์ เอื้อสลุง	สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
	24.นางสาวกฤตยา เพชรผึ้ง	สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรมวิชาการเกษตร

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ปีงบประมาณ	งบประมาณที่ได้รับการจัดสรร
2564	1,380,557

ระยะเวลาทำวิจัย ตั้งแต่ ตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2564

2.สรุปโครงการวิจัย

สาระสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ปัจจุบันสารสำคัญ/สารทุติยภูมิ (พฤกษเคมี) ในพืชอยู่ได้รับความสนใจและเป็นที่ต้องการทั่วโลกทั้งในด้านเภสัชกรรม โภชนเภสัชภัณฑ์ และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายของเชื้อพันธุกรรมพืช โครงการวิจัยการประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช เล็งเห็นความสำคัญด้านสารสำคัญของพืช.จึงได้ทำการวิจัยสารสำคัญในพืช และการศึกษาสิ่งกระตุ้นเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งสามารถต่อยอดเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. ศึกษาปริมาณสารทุติยภูมิ/สาระสำคัญ (ปริมาณพฤกษเคมี) : พิวรารินในหัวกวาวเครือขาว (เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลทางการผลิตเพื่อการค้า สำหรับนักวิจัยและผู้ที่มีความสนใจพืชสมุนไพร) ฟาซิโอลามินของถั่วในสกุล Phaseolus (ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช) สารสำคัญ/สารอัลคาลอยด์ จากรากต้นหนอนตายหยาก (ที่ได้จากการเก็บรวบรวมเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช) ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย โปรตีนจากหัวเท้ายายม่อม และสารในกลุ่ม terpeniod ของสมุนไพรจิงจูฉ่าย ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุพืชสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณสารสำคัญในกลุ่ม terpeniod ของสมุนไพรจิงจูฉ่าย และการใช้สาร methyl jasmonate และ salicylic acid เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณสาร quercitrin และ rutin ในพลูคาว 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ก้านม่วงและพันธุ์ใบเขียวในสภาพปลอดเชื้อในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเป็นแหล่งข้อมูล ทางการผลิตเพื่อการค้าและใช้ประโยชน์ในด้านการวิจัย รวมทั้งผู้ที่มีความสนใจผลิตสมุนไพรชนิดนี้ในด้านการแพทย์ต่อไปในอนาคต

ระเบียบวิธีวิจัย

โครงการวิจัยการประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช ประกอบด้วย 7 การทดลอง 7 ชนิดพืช มุ่งเน้นการวิเคราะห์สารสำคัญ คือ ปริมาณสารพิวรารินในกวาวเครือขาว ปริมาณสารไอโซฟลาโวนในถั่วเหลือง และปริมาณสารสกัดฟาซิโอลามิน ถั่วสกุล Phaseolus (ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร) ปริมาณสาร stemocurtisine และ stemofoline ในหนอนตากหยาก และปริมาณแป้งและโปรตีนในเท้ายายม่อม และศึกษาการใช้ salicylic acid ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อกระตุ้น total terpenoid และ สาร ascorbic acid ในสมุนไพรจิงจูฉ่าย และปริมาณสารเคอร์ซิตริน และรูตินในต้นพลูคาวพลูคาว

ผลการวิจัย

1. ได้ปริมาณพิวรารินจากหัวกวาวเครือขาวที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน เพื่อขยายผลในทางเภสัชกรรม

2. ได้สมการ NIR ในการทำนายปริมาณสารไอโซฟลาโวน ในถั่วเหลือง

3. ได้ข้อมูลของปริมาณสาร phaseolamin ในถั่วสกุล Phaseolus และข้อมูลถั่วสกุล Phaseolus เก็บไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

กรมวิชาการเกษตร

4. ได้ข้อมูลปริมาณสารทุติยภูมิ/สาระสำคัญ จากรากหนอนตายหยากแต่ละชนิดที่ได้อนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชไว้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ควบคู่ไปกับการอนุรักษ์หนอนตายหยากไม่ให้สูญหายไปจากประเทศไทย

5. ได้ข้อมูลการเปรียบเทียบปริมาณแป้งต้านทานการย่อย และโปรตีนของเท้ายายม่อมที่ได้จากต่างสถานที่

6.ได้สูตรอาหารที่เติมสิ่งกระตุ้น (salicylic acid) ในปริมาณที่เหมาะสมสำหรับให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตสาระสำคัญ และได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารในกลุ่มเทอร์ปีนนอยด์และปริมาณวิตามินซี (โดยใช้เทคนิค HPLC) ของตัวอย่างที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบการใช้สารกระตุ้น

7. ได้กระบวนการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้พลูความที่มีคุณภาพ โดยมีสารเคอร์ซิตริน และรูตินในปริมาณสูงขึ้น ปราศจากการปนเปื้อนสารพิษและสิ่งเจือปน ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมคุณภาพในการผลิตวัตถุดิบสมุนไพรพลูคาวให้มีสารสำคัญสม่ำเสมอและมีปริมาณมากเพียงพอที่จะนำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

จุดเด่นจากงานวิจัย

1. การใช้ NIR ในการทำนายสารสำคัญในถั่วเหลือง (ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร) โดยไม่ทำลายเมล็ดพันธุ์และสามารถนำไปปรับใช้กับพืชชนิดอื่นที่ถูกจัดเก็บในธนาคาร

2. การใช้ salicylic acid กระตุ้นสารสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สมุนไพรจิงจูฉ่าย และพลูคาว ทำให้ปริมาณ total terpenoid และ ascorbic acid ในจิงจูฉ่าย และสารเคอร์ซิตริน และรูตินในต้นพลูคาวก้านม่วง เพิ่มขึ้น

ประโยชน์ที่ได้รับจากผลงานวิจัย

ด้านวิชาการ

สนับสนุนองค์ความรู้ความมั่นคงทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศ เป็นแหล่งวัตถุดิบที่จะนำมาการใช้ประโยชน์ในพืชอาหาร เภสัชกรรม และสารกำจัดศัตรูพืช เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ได้แก่

1. ได้ข้อมูลการใช้สิ่งกระตุ้นเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญในสภาพปลอดเชื้อ กับสมุนไพรจิงจูฉ่าย และพูลคาว เพื่อการวิจัยศึกษาต่อยอดในการผลิตด้านอุตสาหกรรม

2. ได้ข้อมูลปริมาณสารสำคัญ และลักษณะทางสัณฐานวิทยา ซึ่งเป็นฐานข้อมูลในการนำไปพัฒนาและการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อก่อเกิดผลิตภัณฑ์สร้างมูลค่าเพิ่มให้กับชุมชน

3. ได้ฐานข้อมูลปริมาณสารสำคัญ และลักษณะทางสัณฐานวิทยา ในถั่วเหลือง และถั่วสกุล Phaseolus เพื่อเชื่อมโยงกับคลังข้อมูลทรัพยากรชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

ด้านนโยบาย

ได้ข้อมูลสนับสนุนด้านความหลากหลายทางชีวภาพและการอนุรักษ์นำไปใช้ประโยชน์ ตามอนุสัญญาว่าด้วยความหลากหลายทางชีวภาพ (Conservation on Biological Diversity) ซึ่งเป็นปฏิญญาสากลของโลก มีเป้าหมาย 3 เป้าหมาย คือ การอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพ การใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน และการแบ่งปันการใช้ประโยชน์อย่างเท่าเทียมกัน และสอดคล้องกับนโยบายประเทศ นโยบายกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และนโยบายตามยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปี (พ.ศ. 2561-2580) การวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศ

กลุ่มเป้าหมายที่นำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. ภาคเอกชน ได้แก่ ผู้ประกอบการผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ การแปรรูปขนมไทย ผลิตภัณฑ์เภสัชกรรม ผลิตภัณฑ์ทางด้านสารกำจัดศัตรูพืช
2. ภาคเกษตรกร ได้แก่ เกษตรกรผู้สนใจในการผลิตวัตถุดิบส่งตลาดเพื่อเพิ่มรายได้

กรมวิชาการเกษตร

3. ภาครัฐ ได้แก่ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

4. ภาคการศึกษา ได้แก่ นักวิชาการ นักปรับปรุงพันธุ์ นักวิจัย นักศึกษา

ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

1. การนำสมการ NIR มาใช้เพื่อทำนายสารสำคัญในเมล็ดพืชชนิดอื่นที่จัดเก็บในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

2. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและชักนำให้สร้างสารสำคัญสูง ได้แก่ จิงจูฉ่ายผลิต total terpenoid และ ascorbic acid เพิ่มขึ้น และพูลคาว ผลิตสารเคอร์ซิตินและรูติน เพิ่มขึ้นได้

บทคัดย่อ

ภายใต้โครงการวิจัยการประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช มีการทดลองหาสารสำคัญในพืชที่ดำเนินการในปี พ.ศ. 2559 – 2564 รวมทั้งสิ้น 7 การทดลอง โดยศึกษาพืชในพืช 7 ชนิด ดังนี้ กวาวเครือขาว ถั่วเหลือง ถั่วสกุล Phaseolus หนอนตายหยาก เท้ายายม่อม สมุนไพรจิงจูฉ่าย และพลูคาว

พบว่า กวาวเครือขาวเก็บเกี่ยวที่อายุ 9 เดือนหลังปลูก มีปริมาณของ puerain daidzein และgenistein สูง คือ 80.66, 24.15 และ 0.26 มก./ ตัวอย่าง 100 กรัมตามลำดับ ทั้งนี้ระยะเวลา และช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยวมีผลต่อปริมาณสารสำคัญในกวาวเครือขาว การใช้เทคนิค NIR สามารถทำนายปริมาณสารไอโซฟลาโวนในเมล็ดถั่วเหลืองที่จัดเก็บในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรรมวิชาการเกษตรได้ จากการวิเคราะห์สารสกัดถั่วสกุล Phaseolus ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช ทุกชนิดสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า–อะไมเลสได้ร้อยละ 13-31 ที่ความเข้มข้น 12.5 มก./มล. โดยถั่ว TML 92 (2) และถั่วนิ้วนางแดงสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้สูงที่สุด สารสกัดถั่วทุกชนิดสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟ่า–กลูโคซิเดส ได้ร้อยละ 6-60 ที่ความเข้มข้น 12.5 มก./มล. โดยถั่วเหลือง สจ.5 และ ชม.60 สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้สูงกว่าถั่วชนิดอื่นๆ และสารสกัดถั่วทุกชนิดสามารถยับยั้งเอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4 ได้ร้อยละ 12-52 ที่ความเข้มข้น 12.5 มก./มล. โดยถั่วเขียวชัยนาท 4 ชัยนาท 84-1 และถั่วบอย สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้สูงกว่าถั่วชนิดอื่นๆ จากการทดลองจำแนกชนิดหนอนตายหยาก (species) ได้ 5 ชนิด ได้แก่ *Stemona curtisii* Hook. f., *S. collinsiae* Craib., *S. tuberosa* Lour., *S. rupestris* Inthachub., และ *S. pierrei* Gagnep และยังไม่สามารถจำแนกได้ 1 ชนิด ทั้งนี้รากหนอนตายหยาก *S. rupestris* Inthachub. จาก อ.เขาวง จ. กาฬสินธุ์ ให้ปริมาณสาร stemocurtisine สูงที่สุด (1.68% w/w) ในขณะที่รากหนอนตายหยาก *S. collinsiae* Craib. จาก จ. กาญจนบุรี ให้ปริมาณสาร stemofoline สูงที่สุด (1.65% w/w) เท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัด ให้ผลผลิตน้ำหนักหัวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เท้ายายม่อมจากจ.จันทบุรี มีน้ำหนักหัวสูงสุด (416.88 ก.) แต่ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมที่แปรรูปไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ [พันธุ์จากจ.อุบลราชธานีสูงสุด (220.37 ก./นน.สด 1 กก.] และปริมาณคาร์โบไฮเดรต และ โปรตีน จากแป้งเท้ายายม่อมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การเพิ่มปริมาณสารสำคัญต้นจิงจูฉ่ายในสภาพปลอดเชื้อได้ โดยใช้ salicylic acid 0.1 mM เป็นเวลานาน 1 วัน มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณสาร total terpenoid มากที่สุด (23.05 มก./100ก. คิดเป็น 2 เท่าของต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ) และการกระตุ้นด้วย salicylic acid 0.5 mM เป็นเวลานาน 3 วัน มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณสาร ascorbic acid มากที่สุด (6.6 มก./100ก. คิดเป็น 2.2 เท่าของต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ) การเพิ่มปริมาณสารเคอร์ซิตรินและรูตินในต้นพลูคาวก้านม่วงในสภาพปลอดเชื้อคือสูตรอาหาร MS + กรดซาลิไซลิก 0.50 mM (6.46±1.08 และ 0.59±0.08 มก./ก. ตามลำดับ)

กรมวิชาการเกษตร

Abstracts

Evaluation and Utilization of Plant Germplasm Research Project, have been experiments to find important substances in plants. There were conducted in the years 2016 – 2021. It had 7 experiments, conducted on 7 plant species as follows: *Pueraria candollei* var. *mirifica* (Airy Shaw & Suvat.) Niyomdham (White Kawo Krua), soybean, bean (Phaseolus spp.), *Stemona* sp., *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. (arrowroot) , *Artemisia lactiflora* (white mugwort) and *Houttuynia cordata* Thunb (Plu Kao).

The showed that White Kawo Krua was harvested at 9 months after planting with high content of puerain, daidzein and genistein, 80.66, 24.15 and 0.26 mg/100 g sample, respectively. In the harvest affects the amount of important substances. Using the NIR technique, it was possible to predict isoflavone content in soybean seeds stored in Gene Bank of DOA. All of the bean (Phaseolus spp.) from the genebank extracts can inhibit alpha-amylase by 13-31% at concentrations of 12.5 mg/ml, with TML 92 (2) and red-fingered bean being the highest inhibition. In addition, it was found that all of the bean extracts were inhibit the alpha-glucosidase enzyme by 6-60% at the concentration of 12.5 mg/ml, with SJ5 and SJ60 of soybean being inhibit enzymes higher than other types of beans. From the experimental results was shown that all bean extracts were inhibited dipeptidyl-peptidase-4 enzyme by 12-52% at the concentration of 12.5 mg/ml by Chainat 4 mung beans, Chainat 84-1 black gram and boy bean have inhibited the enzyme higher than other beans. Five species of *Stemona* sp. were identified, namely *S. curtisii* Hook. f., *S. collinsiae* Craib., *S. tuberosa* Lour., *S. rupestris* Inthachub, *S. pierrei* Gagnap., and 1 unknown (*Stemona* sp.). *Stemona* alkaloids, stemocurtisine and stemofoline, were extracted and detected. Root extract from *S. rupestris* Inthachub from Khao Wong District, Kalasin Province yielded the highest amount of stemocurtisine (1.68% w/w), while *S. collinsiae* Craib. from Kanchanaburi Province yielded the highest amount of stemofoline (1.65% w/w). Arrowroot from all six provinces had significantly different weight yields of tubers. Arrowroot from Chanthaburi Province had the highest head weight (416.88 g.). But the quantity of arrowroot processed was not statistically different. The starch of arrowroot from Ubon Ratchathani variety was highest (220.37 g./fresh 1 kg. weight). Carbohydrate and protein of starch by arrowroot from all 6 provinces were not statistically different. Salicylic acid has efficiency to stimulant on white mugwort under sterile conditions for enhancement of terpenoid content and ascorbic acid. The use of 0.1 mM salicylic acid as an elicitor for one day resulted in a total terpenoid content of 23.05 mg/100g, was 2 times higher than that of field-grown plants. The use of 0.5 mM salicylic acid as an elicitor for three day resulted in a ascorbic acid of 6.6 mg/100g, was 2.2 times higher than that of field-grown plants. A suitable formula

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

for increasing the quercitrin and rutin content in sterile purple stalk plums was MS + 0.50 mM of salicylic acid (6.46±1.08 and 0.59±0.08 mg/g. respectively).

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

การประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช ได้รับทุนอุดหนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559-2561 และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562-2564 ภายใต้แผน อนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืช และจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มมูลค่าและนวัตกรรม ด้วยเล็งเห็นความสำคัญของการศึกษาสารสำคัญ (ทุติยภูมิ) ในพืชที่เป็นองค์ประกอบในการเลือกบริโภคเป็นอาหารสุขภาพและทางด้านแพทย์ และแพทย์แผนไทย ตลอดถึงการนำไปต่อยอดในการวิจัยด้านผลิตภัณฑ์

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัย และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ที่จัดสรรงบประมาณเพื่อสนับสนุนโครงการวิจัยนี้ นางขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ ผู้เชี่ยวชาญด้านอนุรักษ์พันธุกรรม และผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่าน ที่ได้เสียสละเวลาในการให้ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์และแนวทางในการปรับปรุงแก้ไข จนสามารถดำเนินงานได้ตามวัตถุประสงค์

ขอขอบคุณ กรมวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความร่วมมือและการสนับสนุนงานวิจัย ทั้งครุภัณฑ์ทางด้านวิทยาศาสตร์ และสาธารณูปโภค ตลอดในการดำเนินการวิจัยจนลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณ หัวหน้าการทดลองภายใต้โครงการวิจัยนี้ นายพิทยา วงษ์ช้าง นางสาวสุกัลยา ศิริฟองนุกูล นางประกาย อ่อนวิมล และนางสาววรารัตน์ ศรีประพัฒน์ ที่ได้ดำเนินงานวิจัย และจัดทำรายงานโครงการวิจัยฉบับนี้

หวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาต่อยอดในด้านการเกษตรกรรม ผลิตอาหารสุขภาพ สมุนไพรที่มีคุณภาพ กรมวิชาการเกษตร และประเทศไทยตามสมควร

สุพินญา บุญมานพ และคณะ
กุมภาพันธ์ 2565

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	2
กิตติกรรมประกาศ	9
สารบัญ	10
สารบัญตาราง	11
บทที่ 1 บทนำ	12
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	23
บทที่ 3 ผลการศึกษา	36
บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล	56
เอกสารอ้างอิง	63
ภาคผนวก	67
ภาคผนวก 1 การพัฒนาคุณภาพสมุนไพรพลูคาวเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในตลาดโลก	67
ภาคผนวก 2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจิงจูฉ่าย (*Artemisia lactiflora*)	68
ภาคผนวก 3 เท้ายายม่อมพืชหัวให้แป้ง	69
ภาคผนวก 4 สมุนไพรหนอนตายหยาก	70
ภาคผนวก 5 การศึกษาการเก็บรักษากวาวเครือขาวเพื่อการอนุรักษ์	71
ภาคผนวก 6 การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ	72
ภาคผนวก 7 Conservation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. for Utilization	73
ภาคผนวก 8 Chloroplast DNA Barcode for Genetic Relationship of *Tacca leontopetaloides*	74
ภาคผนวก 9 การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ	75
ภาคผนวก 10 การขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณสารเทอร์พีนอยด์รวมในจิงจูฉ่ายด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	76
ภาคผนวก 11 สมุนไพรพลูคาวและการผลิตต้นกล้าปลอดโรค	77

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1.1	ระบบตัวทำละลายสำหรับวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของตัวอย่างจากกวาวเครือขาว	24
2.1.2	ปริมาณของสารประกอบหลักในอาหารของตัวอย่างจากกวาวเครือขาวต่อปริมาณสารตัวอย่าง 100 กรัม	36
2.1.2	ชนิดและปริมาณของสารสำคัญ puerarin (1), daidzein (2) และ genistein (3) ในตัวอย่างจากกวาวเครือขาว	36
2.3.1	ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวเนื่องกับโรคอ้วน (เอนไซม์ไลเปส) และเบาหวาน (เอนไซม์แอลฟ่า-อะไมเลส เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส และเอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4)	38
2.4.1	HPLC gradient flow condition system1 : สำหรับวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของตัวอย่างจากรากหนอนตายหยาก	28
2.4.2	HPLC gradient flow condition system2 : สำหรับวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของตัวอย่างจากรากหนอนตายหยาก	28
2.4.3	ปริมาณสารทุติยภูมิในตัวอย่างรากหนอนตายหยากแต่ละชนิด (species) จากแหล่งที่มาต่างๆกัน	39
2.5.1	การเจริญเติบโตของเท้ายายม่อมที่อายุ 5 เดือนหลังปลูก	41
2.5.2	น้ำหนักหัวเท้ายายม่อมที่อายุ 8 เดือนหลังปลูก	41
2.5.3	ปริมาณของสารประกอบหลักในอาหารของตัวอย่างจากเท้ายายม่อมต่อปริมาณสารตัวอย่าง 100 กรัม	42
2.6.1	จำนวนการเกิดยอดใหม่ที่ชักนำจากชิ้นส่วนข้อ และยอดจิ๋วจู๋ฉ่าย เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0 1 2 4 6 และ 12 mg/l ในสภาพแสง 55 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	44
2.7.1	เปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อของวิธีการฟอกในพลูคาวและจำนวนใบที่พัฒนาจากต้นปลอดเชื้อหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์	47
2.7.2	อิทธิพลของ BA ที่มีต่อการเกิดยอดใหม่ของพลูคาวที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 45 วัน	47
2.7.3	อิทธิพลของสารกระตุ้นที่มีต่อการผลิตสารเคอร์ซิตรินและรูตินของพลูคาวก้านม่วงและใบเขียวที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสารกระตุ้นความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง	48

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 1 บทนำ

1. วิสัยทัศน์ และพันธกิจของหน่วยงาน

<u>วิสัยทัศน์</u>

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

<u>พันธกิจ</u>

๑. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตร สู่กลุ่มเป้าหมาย
๒. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิต พัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
๓. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
๔. 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. 2564 และโปรดระบุแผนงาน/โครงการให้สอดคล้องกับโปรแกรมของแผน ววน.

โปรแกรมตามแผน ววน.	งบประมาณ (บาท)
โปรแกรม 2.7 ใช้ความรู้ การวิจัย และนวัตกรรมเพื่อจัดการกับปัญหาท้าทายเร่งด่วนสำคัญของประเทศไทยด้านทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม การเกษตร และบรรลุเป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืน	**1,380,557.- บาท**

กรมวิชาการเกษตร

4. รายละเอียดโครงการ

โครงการ วิจัยการประเมินคุณค่าและการใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมพืช

ดำเนินในปีงบประมาณ 2559-2564 มีจำนวน 7 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1. การประเมินพิวรารินในหัวกวาวเครือขาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช (2559-2564)

การทดลองที่ 2. การใช้เทคนิค NIR ในการทำนายปริมาณไอโซฟลาโวนในเมล็ด เพื่อประเมินคุณค่าเชื้อพันธุ์ถั่วเหลืองในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช (2559-2561)

การทดลองที่ 3. การประเมินลักษณะประจำพันธุ์และพฤกษเคมี (Phaseolamin) ในถั่วสกุล Phaseolus ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช (2562-2564)

การทดลองที่ 4. การศึกษาปริมาณสารทุติยภูมิจากรากหนอนตายหยากที่ได้จากการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช (2562-2564)

การทดลองที่ 5. การวิเคราะห์ปริมาณแป้ง และโปรตีนในหัวเท้ายายม่อมเพื่อการอนุรักษ์ (2563-2564)

การทดลองที่ 6. การเพิ่มปริมาณน้ำมันหอมระเหยในกลุ่ม terpenoid จากต้นจิงจูฉ่ายโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (2563-2564)

การทดลองที่ 7. การเพิ่มปริมาณสารสำคัญเคอร์ซิตรินและรูตินจากต้นพลูคาวโดยใช้สารกระตุ้น (2564)

ที่มาและความสำคัญ/หลักการและเหตุผล

ปัจจุบันนี้การใช้พืชสมุนไพรเพื่อการดูแลสุขภาพยังคงเป็นกระแสที่เป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย ทำให้พืชสมุนไพรจำนวนไม่น้อยมีคุณสมบัติเป็นพืชเศรษฐกิจ โดยมีการคาดการณ์ว่ายอดขายสมุนไพรหรือสารสกัดสมุนไพรเฉพาะในประเทศสหรัฐอเมริกามีมูลค่าถึง 4 พันล้านดอลลาร์ต่อปี (Chang, 2000) พืชสมุนไพรของไทยกลับมาเป็นที่นิยมในการใช้ทำเป็นยาเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยในการรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง (Saetung *et al*., 2005; Kummalue *et al*., 2014; Senawonga *et al*., 2014) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติช่วยในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Panyaphu *et al*., 2012; Palasuwan and Soogarun, 2014; Klinthong *et al*., 2015 Nugboon and Intarapichet, 2015) ทำให้ร่างกายแข็งแรงไม่เจ็บไข้ได้ป่วยง่าย ด้วยเหตุนี้จึงทำให้พืชสมุนไพร่ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์และยาแผนโบราณอย่างแพร่หลาย เนื่องจากพืชสมุนไพรมีศักยภาพในการรักษาโรคหลายชนิด ซึ่งทำให้ยอดขายสมุนไพรไทยหรือสารสกัดสมุนไพรไทยในช่วงปี พ.ศ. 2554-2559 มีการเติบโตเพิ่มขึ้นถึงประมาณ 68% (Euromonitor International, 2016) ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการสนับสนุนส่งเสริมให้มีการปลูกพืชสมุนไพรไทยอย่างแพร่หลาย จึงทำให้แผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564 ถูกจัดตั้งขึ้นเพื่อมุ่งสู่การเป็นผู้นำในการส่งออกวัตถุดิบสำหรับการผลิตสมุนไพรในภูมิภาคอาเซียนและเพื่อเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทย (แผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1, 2560) ซึ่งโครงการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษา กวาวเครือขาว ถั่วเหลือง ถั่วสกุล Phaseolus หนอนตายหยาก เท้ายายม่อม จิงจูฉ่าย และพลูคาว ซึ่งเป็นสมุนไพรไทย เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรมยาที่จะนำมาใช้ต่อไปในอนาคต

กวาวเครือขาว [*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvatabandhu) Niyomdham] (ชวลิต, 2538) มีลักษณะใกล้เคียงกับ *Pueraria candollei* Grah. หรือที่เรียกว่า เครือเขาปู้ หรือ

กรมวิชาการเกษตร

ตาลานเครือ ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae อนุวงศ์ Papilionoideae ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ.2518 ได้กำหนดให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสงวน พืชชนิดนี้มีชื่อท้องถิ่นแตกต่างกันเช่น กาวเครือ จานเครือ กวาวเครือขาว ทองเครือ ตานจอมทอง กวาวหัว ตาลานเครือ จอมทอง เป็นต้น (วุฒิ, 2540) สารสำคัญที่พบในหัวกวาวเครือขาว ได้แก่ สารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิกลุ่มใหญ่ที่พบในพืชทั่วไป มีหน้าที่สำคัญหลายอย่าง เช่น เป็นรงควัตถุ เป็น signaling molecule เป็นสารป้องกัน หรือต่อต้านความเครียดจากสิ่งมีชีวิต และไม่มีชีวิต และเป็นสารดึงดูดแมลงเพื่อช่วยผสมเกสรของพืช (Wade et al., 2003)

สารสำคัญในหัวกวาวเครือขาวแบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่ม (รุจน์, 2547; Ingham et al., 1994) คือ

กลุ่ม 1 Isoflavones ได้แก่ daidzein, genistein, kawakhurin และ kawakhurin hydrate ทำหน้าที่คล้าย hormone estrogen ซึ่งสารธรรมชาติที่ได้จากพืชเรียกว่า phytoestrogens มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เอสโทรเจนิกช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ผิวชั้นบนสุดของหนังกำพร้า และเพิ่มความหนาแน่นของเส้นใยคอลลาเจน (collagen fibers) ช่วยลดอาการในสตรีวัยทอง ช่วยให้กระดูกแข็งแรง ป้องกันโรคกระดูกพรุน เป็นต้น (รุจน์, 2547)

กลุ่ม 2 Isoflavone glycosides ได้แก่ daidzin, genistin, puerarin, mirificin และ puerarin-6-monoacetate เป็นอนุพันธุ์ของ isoflavone ที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีหน้าที่ป้องกันโรคกระดูกพรุน กระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ป้องกันโรคหลอดเลือดแข็งตัว ใช้รักษาอาการติดสุราเรื้อรัง รักษาโรคเบาหวาน เป็นต้น (รุจน์, 2547)

กลุ่ม 3 Coumestans ได้แก่ coumestrol, mirificoumestan, mirificoumesta glycol และ mirificoumestan-hydrate เป็นสารธรรมชาติในกลุ่ม phytoestrogen หน้าที่ป้องกันโรคมะเร็ง เป็นต้น (รุจน์, 2547, Stadbauer and Kappe, 1993)

กลุ่ม 4 Chromene ได้แก่ miroestrol และ deoxymiroestrol ซึ่ง miroestrol เป็นสารที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน พบเป็นปริมาณ 0.002-0.003% ของน้ำหนักหัวแห้ง miroestrol เป็นสารออกฤทธิ์ชนิดแรกที่สกัดได้จากรากสะสมอาหารกวาวเครือขาว และออกฤทธิ์แรงที่สุด ทำหน้าที่ป้องกันโรคมะเร็ง ทำให้ช่องคลอดของสัตว์เพศเมียวัยก่อนเจริญพันธุ์มีขนาดขยายใหญ่ เป็นต้น (รุจน์, 2547, Jones and Pope, 1960)

กลุ่ม 5 Steroids ได้แก่ β-sitosterol และ stigmasterol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น เซลล์มะเร็งเต้านมมนุษย์ 2 ชนิด คือ MCF-7 และ MDA-MB-231 เป็นต้น (รุจน์, 2547, Awad et al., 2007)

กลุ่ม 6 สารอื่น ๆ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคสไขมันโปรตีน ใยอาหาร แอลกอฮอร์ แคลเซี่ยม และฟอสฟอรัส

จากปริมาณความต้องการใช้วัตถุดิบจากหัวกวาวเครือขาว ทั้งทางด้านงานวิจัย และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ ส่วนใหญ่ได้จากการเก็บจากธรรมชาติ จึงได้มีประกาศพระราชบัญญัติ ทั้งพ.ร.บ. คุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 ของกรมวิชาการเกษตร ให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสงวน และพ.ร.บ. คุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย พ.ศ. 2542 ของสถาบันการแพทย์แผนไทย ให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรควบคุม ซึ่งในสภาพธรรมชาติมีการกระจายพันธุ์ด้วยเมล็ด แต่ประสบปัญหาของการถูกทำลายด้วยศัตรูธรรมชาติ ปัญหาการเกิดไฟป่า การถูกบุกรุกจากการขยายตัวของสังคมเมือง และลักลอบขุดขายของชาวบ้านทำให้ไม่สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ได้ อีกทั้งสรีรวิทยาของกวาวเครือขาวออกดอกและติดฝัก เมื่ออายุ 8-18 เดือน (กรมวิชาการเกษตร, 2548 และ กรมวิชาการเกษตร, 2550)

กรมวิชาการเกษตร

ถั่วเหลืองจัดเป็นพืชที่สำคัญและเป็นพืชอาหารเก่าแก่พืชหนึ่งของโลก ชาวจีนรู้จักใช้ประโยชน์พืชนี้มานานกว่า 4,700 ปีมาแล้ว ประโยชน์ของถั่วเหลืองมีมากมายหลายประการ เช่น ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ ทั้งในรูปของการบริโภคโดยตรง ใช้ปรุงแต่งอาหารในรูปแบบต่างๆ หรือใช้ในอุตสาหกรรม นอกนั้นยังใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ทั้งนี้เพราะถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีโปรตีนและน้ำมันสูงมาก เมล็ดมีโปรตีนตั้งแต่ 35 ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำมัน 15 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ (กรมพัฒนาที่ดิน, มปป) ถั่วเหลืองมีสารสำคัญต่างๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย โดยเฉพาะ ไอโซฟลาโวน (isoflavones) นั้นเป็นสารที่พบมากในถั่วเหลือง และเป็นสารตัวหนึ่งที่โดดเด่นและน่าสนใจ ไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองจะอยู่ในธรรมชาติเป็น 2 รูปแบบ คือ aglycones และ glucoside โดยไอโซฟลาโซนในรูป glucoside สามารถอยู่ในรูปอนุพันธ์ 2 ชนิดคือ malonyl และ acetyl สารดังกล่าวข้างต้นจะพบในถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน (วันดีและคณะ, มปป) สารไอโซฟลาโวนเป็นพฤกษเคมี (phytochemical) ที่มีสรรพคุณต่อสุขภาพเป็นสารโภชนเภสัชมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และเป็นไฟโตเอสโทรเจน (phytoestrogen) ซึ่งทำงานคล้ายกับฮอร์โมนเพศหญิง (Estrogen, 17b-estradiol E2 Isoflavones) เนื่องจากมีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกัน ทำให้ไดแอดเซอินสามารถจับกับโปรตีนตัวรับของเอสโตรเจน (estrogen receptor) ในร่างกายได้ สามารถใช้สารนี้ลดปัญหาที่เกี่ยวเนื่องกับอาการหลังการหมดประจำเดือน (menopausal symptoms) หรืออาจมีผลป้องกันหรือปรับเปลี่ยนภาวะความผิดปกติของร่างกายหรือการเกิดโรคต่างๆ เช่น มะเร็งบางชนิด โรคหัวใจและหลอดเลือด (Shimoni, E. 2003) อีกทั้งยังช่วยรักษาความชุ่มชื้น ยืดหยุ่น และลดความเหี่ยวย่นของผิวหนัง มีการวิจัยพบอีกด้วยว่า ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองช่วยลดและป้องกันโรคมะเร็งเต้านม และส่วนในเพศชายช่วยป้องกันและยับยั้งโรคมะเร็งต่อมลูกหมาก แม้ว่ากลไกในการทำงานยังไม่ทราบแน่ชัดแต่นักวิจัยพบว่าผู้ชายที่รับประทานผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองยิ่งมากเท่าไร การเป็นโรคมะเร็งต่อมลูกหมากยิ่งพบน้อยลง (Good health, 2006)

ปัจจุบันในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชยังไม่มีข้อมูลของสารไอโซฟลาโวนในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง เพื่อเก็บไว้เป็นฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และเชื่อว่าปริมาณของสารไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์นั้นมีปริมาณที่ไม่เท่ากันซึ่งถือว่าเป็นฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมที่มีความหลากหลาย หากมีฐานข้อมูลเหล่านี้ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชแล้วจะทำให้เกิดความสะดวกในการใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ของนักปรับปรุงพันธุ์ รวมถึงการคัดเลือกพันธุ์ที่จะนำไปใช้ในทางการค้าได้ในอนาคต ในการหาปริมาณสารดังกล่าวจะใช้วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ และใช้เทคนิค NIR (Near Infrared) ซึ่งเป็นการใช้เครื่องมือวิเคราะห์โมเลกุลที่ไม่ทำลายตัวอย่างโดยอาศัยการตรวจวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างเป็นวิธีการที่ให้ผลที่ดีและรวดเร็ว หลักการของ NIR Spectroscopy คือ (หน่วยบริการทางห้องปฏิบัติการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, มปป) การสร้างสมการจากค่าสหสัมพันธ์ (R, R2) ระหว่างค่าการดูดซับแสง Near Infrared ที่ส่องผ่านวัตถุที่ต้องการวิเคราะห์จำนวนหนึ่งและค่าที่วิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการ เมื่อได้สมการที่มีค่าความสัมพันธ์สูง ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction, SEP) ต่ำ ก็นำสมการนี้ใช้ทำนายค่าของตัวอย่างแทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป (อนุวัฒน์และคณะ, มปป)

การบริโภคอาหารของคนโดยส่วนใหญ่นิยมบริโภคอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจัดเป็นกลุ่มอาหารหลักของคนทุกเชื้อชาติทั่วโลก ตัวอย่างอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่เรารู้จักกันดี คือ ข้าว แป้ง น้ำตาล ซึ่งหาก

ไม่ระวังการบริโภคอาหารประเภทดังกล่าวแล้วอาจจะทำให้เกิดโรคตามมาโดยไม่รู้ตัว เช่น โรคอ้วน โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคความดัน โรคเบาหวาน โรคไต และโรคอื่นๆ อีกมากมาย ในปัจจุบันคนหันมาใส่ใจสุขภาพกันมากขึ้นโดยเฉพาะเรื่องรูปร่างและการควบคุมน้ำหนัก หากกล่าวเฉพาะการลดการบริโภคอาหารเพียงอย่างเดียวแล้วส่วนใหญ่คนจะเริ่มหันมาสนใจวิธีลดการรับประทานคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเชื่อกันว่าส่งผลให้ลดน้ำหนักได้ดีกว่าการลดการรับประทานอาหารประเภทอื่นๆ หรือหากหลีกเลี่ยงการบริโภคคาร์โบไฮเดรตไม่ได้แล้วในปัจจุบันยังมีทางเลือกอื่นเพื่อลดน้ำหนักได้อีก เช่น การบริโภคสารสกัดฟาซิโอลามิน (phaseolamin) ที่ได้จาก**ถั่วในสกุล Phaseolus** เพื่อยับยั้งกระบวนการเปลี่ยนรูปของคาร์โบไฮเดรตไปเป็นน้ำตาล ซึ่งสารสกัดฟาซิโอลามีนจากถั่วมีหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสในน้ำลาย ทำให้ไม่สามารถเกิดกระบวนการย่อยของคาร์โบไฮเดรตที่กินเข้าไปให้เปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลที่โมเลกุลเล็กลงได้ ทำให้ไม่เกิดการสะสมพลังงานตามส่วนต่างๆ ของร่างกายจนแปรเปลี่ยนเป็นไขมันในภายหลัง และเมื่อไม่มีพลังงานและไขมันส่วนเกินแล้วร่างกายจะดึงพลังงานสำรองหรือไขมันที่สะสมมาใช้ทดแทน ทำให้เกิดการเผาผลาญไขมันภายในร่างกายอย่างต่อเนื่องเป็นการลดความเสี่ยงของการเกิดโรค และถือว่าเป็นคุณสมบัติอันยอดเยี่ยมในการช่วยคุมน้ำหนัก รักษารูปร่างที่เราได้รับจากการบริโภคสารสกัดฟาซิโอลามินจากถั่ว ปัจจุบันธนาคารเชื้อพันธุ์พืชยังขาดข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์และปริมาณฟาซิโอลามินซึ่งเป็นพฤกษเคมีที่พบอยู่ในถั่วโดยเฉพาะอย่างยิ่งถั่วในสกุล Phaseolus ที่เก็บอนุรักษ์ที่ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

พืชสมุนไพร**หนอนตายหยาก**เป็นพืชที่เคยพบการกระจายพันธุ์ทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศไทย แต่ปัจจุบันพบได้น้อย และไม่ค่อยเป็นที่รู้จักเหมือนในอดีต พืชสมุนไพรในสกุลหนอนตายหยากมีหลายชนิด (species) มีลักษณะทางกายภาพที่คล้ายคลึงกัน เป็นพืชสมุนไพรที่ชาวบ้านพื้นถิ่นรู้จักนำมาใช้ประโยชน์ต่างๆ เช่น การใช้ฆ่าเห็บเหาในสัตว์ประเภทโคกระบือ (วีระพล, 2536) บางชนิดใช้ฆ่าหนอนหรือใส่ในไหปลาร้าเพื่อป้องกันหนอนแมลงวัน (พนมกร, 2550) เป็นต้น จากตำราการแพทย์แผนไทย พบมีรายชื่อยาแผนโบราณหลายตำรับ ใช้รากหนอนตายหยากเป็นส่วนผสมในการปรุงเป็นยารับประทาน รักษาอาการไอ ขับเสมหะ ฆ่าพยาธิ มีการนำมาพอกรักษาโรคผิวหนัง (วุฒิ, 2552) ระบบรากหนอนตายหยากนั้นเป็นรากสะสมอาหาร ออกเป็นกระจุกจำนวนมาก (ปาจารีย์, 2551) มีสารทุติยภูมิหรือสารสำคัญสะสมอยู่ในส่วนของราก เป็นสารออกฤทธิ์ในกลุ่มอัลคาลอยด์เรียกว่า Stemona alkaloids ตัวอย่างสารที่สำคัญ เช่น stemonine, stemocurtisine และ stemocurtisinol เป็นต้น โดยสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช (เช่น หนอน หนอนกระทู้ผัก เพลี้ยส้ม ด้วงถั่วเขียว) และจุลินทรีย์สาเหตุของโรคพืชได้หลายชนิด (Pilli and Ferreira de Oliveira, 2000; สุภาณี และคณะ, 2546) สามารถนำมาทดแทนการใช้สารเคมีในภาคเกษตรกรรมได้ และถ้าใช้ในปริมาณที่เหมาะสมเพียงเพื่อการป้องกันควบคุมหรือกำจัดแมลงศัตรูพืช หรือเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชก็ไม่มีสารตกค้างและ/หรือเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อม (ไพบูลย์, 2551; อภิฤทธิ์, 2551; วีระพล และคณะ, 2536) นอกจากนี้ มีรายงานว่าสาร 1',2' –didehydrostemofoline และ stemofoline ที่สกัดได้จากรากพืชสมุนไพรหนอนตายหยากมีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคอัลไซเมอร์ จึงถือว่ามีศักยภาพในการป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้อีกทางหนึ่ง (Baird *et al*., 2009) ด้วยคุณประโยชน์หลากหลายทำให้ปัจจุบันมีความต้องการใช้รากพืชสมุนไพรหนอนตายหยากเพิ่มมากขึ้น การขยายพันธุ์ธรรมชาติต้องใช้เวลาประมาณหลายปี จึงจะได้ต้นหนอนตายหยากที่มีรากขนาดที่เหมาะในการนำมาใช้ประโยชน์ได้ ส่งผลให้มีการขุดต้นหนอนตายหยากออกจากป่ามาขายเป็นจำนวนมาก ประกอบกับมีการถากถางพื้นที่เพื่อสร้างเป็นแปลงเพาะปลูกทางเกษตรเพิ่มขึ้น ด้วยสาเหตุนี้ ปัจจุบันการค้นหาต้นหนอนตายหยากต้องบุกลึกเข้าไปในเขตพื้นที่ป่ามากขึ้น ทำให้พืชสกุลหนอนตายหยากในหลายท้องถิ่นลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว บางพื้นที่ก็ไม่พบพืชสกุลนี้ใน

กรมวิชาการเกษตร

บริเวณนั้นอีกเลย จึงเริ่มมีการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ไว้เพื่อไม่ให้สูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติในประเทศไทย อย่างไรก็ตาม พืชสมุนไพรสกุลหนอนตายหยากมีหลายชนิด ซึ่งมีลักษณะภายนอกที่คล้ายคลึงกันมาก แต่ปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ในรากสะสมอาหารนั้น นอกจากมีปริมาณสารชนิดเดียวกันที่อาจมีไม่เท่ากันหรือมีไม่เหมือนกันแล้ว คุณภาพของสารก็อาจมีไม่เท่ากันด้วยเช่นกัน

เท้ายายม่อม จัดเป็นพืชแป้งชนิดหนึ่งแต่มีปริมาณแป้งไม่มาก เมื่อเทียบกับพืชให้แป้งตามธรรมชาติอื่น คุณสมบัติของแป้งเท้ายายม่อมคล้ายคลึงกับแป้งกลอย สาคู สาคูเทศ มันเหน็บ และมันพร้าว แต่ลักษณะที่เด่นแตกต่างจากแป้งชนิดอื่น คือ เม็ดแป้งมีลักษณะมันและลื่นกว่า มีความละเอียดของเม็ดแป้งมากกว่า สีของแป้งขาวกว่า และที่สำคัญมีความหนืด (ความคงตัวของแป้ง) เมื่อโดนความร้อนสามารถคงตัวอยู่ได้นานกว่าแป้งชนิดอื่น ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารและทำขนมไทยได้หลายชนิด ทางการแพทย์ใช้เป็นอาหารบำรุงกำลังสำหรับคนฟื้นไข้ โดยละลายแป้งในน้ำกวนจนสุกเดิมด้วยน้ำตาลกรวด สำหรับสารสำคัญที่สกัดจากหัวเท้ายายม่อม คือ สารรสขม มีประมาณ 2.2 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยสารหลายชนิดได้แก่ sitosterol, cerylic alcohol, taccalin, alkaloids, steroidal saponins และสารสกัดจากใบ คือ steroidal saponins มีฤทธิ์ฆ่าหอยได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง มีคุณสมบัติในการรักษาโรคได้หลายชนิด เช่น โรคกระเพาะอาหาร ท้องร่วง และบิด และสามารถหยุดอาการเลือดออกในกระเพาะอาหาร ทั้งนี้ แทนนิน มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รักษาโรคท้องเสีย ในด้านอุตสาหกรรมใช้แทนนินเป็นตัวลดตะกรันในหม้อไอน้ำ และใช้ฟองหนังคือตกตะกอนโปรตีน

แป้งต้านทานการย่อย (resistant starch) เป็นแป้งที่มีปริมาณน้อยที่ผสมอยู่ในองค์ประกอบของแป้งส่วนใหญ่ แต่พบว่ามีประโยชน์อย่างมากต่อร่างกาย สามารถเป็นแหล่งอาหารจุลินทรีย์สำหรับจุลินทรีย์ ช่วยส่งเสริมสุขภาพร่างกายให้แข็งแรง ส่งผลต่อระบบทางเดินอาหารบริเวณลำไส้ใหญ่ โดยถูกนำมาดัดแปรเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพในหลากหลายรูปแบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารเสริมเพื่อสุขภาพที่มีเส้นใยอาหารสูงออกมาจำหน่ายในรูปแบบแป้งทางการค้า ทำให้สะดวกต่อผู้บริโภคที่สามารถหาแหล่งอาหารที่มีแป้งต้านทานการย่อยเป็นส่วนประกอบมาบริโภคได้มากขึ้น เนื่องจากกระบวนการหมักแป้งต้านทานการย่อยโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์คือ กรดไขมันชนิดสายสั้นที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายประการ โดยเฉพาะผลต่อระบบทางเดินอาหาร (ธนาภร, 2560) แป้งต้านทานการย่อยมีสมบัติคลายเส้นใยอาหาร (dietary fiber) นอกจากจะใช้ประโยชน์ในการเป็นส่วนผสมผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อช่วยในการปรับปรุงคุณภาพด้านเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสของอาหารแล้ว แป้งต้านทานการย่อยยังมีประโยชน์ต่อร่างการในการป้องกันการเกิดโรค เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และลดปริมาณน้ำตาลในเลือดสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน เป็นต้น ปัจจุบันแป้งต้านทานการย่อยได้รับความนิยมสูงในการนำมาใช้เป็นส่วนผสมอาหารเพื่อสุขภาพ และเพิ่มมูลค่าในผลิตภัณฑ์อาหาร (กุหลาบ, 2553) ซึ่งจากรายงานการวิจัยของ Vu (2018) พบว่า เท้ายายม่อมเป็นพืชที่ให้แป้งที่มี ปริมาณของไฟเบอร์สูง (high fiber) สูงกว่าแป้งจากพืชชนิดอื่น และในทางเภสัชกรรม ศึกษาการผลิตแผ่นฟิล์มชนิดรับประทานได้ที่มีสมุนไพรผสมเพื่อใช้การแก้ง่วง จากแป้งชนิดต่างๆ 7 ชนิด ซึ่งฟิล์มที่มีส่วนผสมแป้งเท้ายายม่อม มีคุณลักษณะที่ดี ละลายน้ำเร็ว เรียบไม่กรอบแตกง่าย ไม่เหี่ยวเร็วและมีความคงตัว และเป็นส่วนประกอบในการพัฒนาแผ่นฟิล์มสารสกัดใบชาสำหรับยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ที่เป็นสาเหตุของกลิ่นปาก ในทางอุตสาหกรรมสิ่งทอมีศึกษานำแป้งเท้ายายม่อมทำเป็นฟิล์มเพื่อใช้งานเป็นวัสดุรองปักที่สามารถละลายน้ำได้ ทำให้ชิ้นผ้ามีลวดลายปักชัดเจน ผ้าในลวดลายปักเรียบ เส้นไหมเรียงตัวสวยงามดีกว่าชิ้นผ้าที่รองปักด้วยฟิล์มละลายน้ำพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol) เท้ายายม่อมเป็นพืชท้องถิ่นให้แป้ง ถูกทำลายลงเนื่องจากพื้นที่แหล่งอาศัยหรือแหล่ง

กรมวิชาการเกษตร

กระจายพันธุ์ที่เกิดอยู่ในพื้นที่ป่าตามธรรมชาติถูกบุกรุกทำลายจากมนุษย์จำกัดการกระจายพันธุ์จากปัจจัยธรรมชาติเองทั้งทางตรงและทางอ้อม

จิงจูฉ่าย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Artemisia lactiflora* อยู่ในวงศ์ Asteraceae มีถิ่นกำเนิดมาจากภาคตะวันออกเฉียงใต้ของจีน คือ มณฑลกุ้ยโจว จิงจูฉ่ายเป็นพืชล้มลุกไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 0.5 – 1 ฟุต ใบเป็นรูปรีขอบเป็นแฉกๆ 5 แฉกสีเขียว เนื้อใบหนา คล้ายต้นขึ้นฉ่าย รากหรือเหง้าใหญ่จะกระจายเป็นวงกว้าง แตกกิ่งก้านหนาแน่นเป็นกอคล้ายๆ ใบบัวบก จะมีกลิ่นหอม รสชาติขมเล็กน้อย สามารถขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดได้ เจริญงอกงามได้ดีในที่แสงแดดรำไร ปลูกได้ดีในอากาศเย็นมากกว่าอากาศร้อน (Bown, 1995) ดังนั้นจึงพบว่ามีการปลูกจิงจูฉ่ายในจังหวัดทางภาคเหนือของประเทศไทย เช่น เชียงราย เชียงใหม่ เป็นต้น

จิงจูฉ่าย มีกลิ่นน้ำมันหอมระเหยในใบและลำต้น น้ำมันหอมระเหยที่พบนั้นมีหลายชนิด เช่น (E)-13-farnesene, nerolidol, spathulenol, caryophyllene oxide และ zingiberene โดยพบ กลุ่ม terpenoid มากที่สุด (Jing *et al*., 2011) ซึ่งช่วยปรับสมดุลความดันเลือดในร่างกาย และช่วยขับลมในกระเพาะอาหารได้ดี อีกทั้งลำต้นสดและเมล็ดนั้นมีปริมาณโซเดียมต่ำผู้เป็นโรคไตจึงรับประทานได้ นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณในการล้างพิษ ควบคุมการมีประจำเดือน รวมทั้งนำมาใช้รักษาโรคไวรัสตับอักเสบ ไตอักเสบได้อีกด้วย (Bown, 1995) ปัจจุบันมีรายงานว่าพบปริมาณวิตามินซีในจิงจูฉ่ายมากกว่าในมะนาวถึง 58 เท่า และให้สรรพคุณทางยาสูง อีกทั้งมีวิตามินและเกลือแร่ต่างๆ อาทิ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต กากใยอาหาร เหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส วิตามินซีสูง วิตามินเอ วิตามินอี และวิตามินบี 6 เป็นต้น รวมทั้งผ่านการพิสูจน์แล้วว่าสามารถรักษาไข้มาลาเรียซึ่งคล้ายๆ กับเซลล์ของมะเร็ง คือจะมีประมาณธาตุเหล็กสูงกว่าเซลล์ปกติประมาณ 5 – 1,000 เท่า ซึ่งการทานใบสดจะได้ผลดีกว่าผ่านกระบวนความร้อน (Worarakkulwong and Wongsawadwech, 2012)

สำหรับประเทศไทย นิยมนำมารับประทานสดโดยใส่ในต้มเลือดหมู และนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น ชาและ ผงยาแคบซูล และในปัจจุบันนี้เริ่มมีการเพาะปลูกจิงจูฉ่ายเป็นการค้ามากยิ่งขึ้น เนื่องจากเป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพในการนำไปผลิตเป็นผงยาแคบซูล จึงมีการปลูกโดยใช้สารเคมีเพื่อให้ได้ผลผลิตในปริมาณมาก จึงอาจเกิดการตกค้างหรือมีสารเคมีปนเปื้อนในธรรมชาติ นอกจากนี้การปลูกในสภาพธรรมชาติยังไม่สามารถควบคุมปริมาณสารสำคัญให้ได้ตามเกณฑ์มาตรฐานขององค์การอุตสาหกรรมได้ ดังนั้นการจะผลิตเพื่อส่งออกสู่ตลาดโลกจึงมีโอกาสค่อนข้างน้อยเนื่องจาก ส่วนใหญ่ยาจากสมุนไพรหรือผลผลิตจากสมุนไพรในประเทศไทยยังไม่มีการควบคุมคุณภาพ วัตถุดิบสมุนไพรที่นำมาใช้อาจมีสิ่งปนเปื้อน เช่น ดิน ทราย วัชพืช แมลง รา แบคทีเรีย เป็นต้น หรืออาจมีปริมาณสารสำคัญน้อยกว่าที่กำหนด ซึ่งต่างจากยาสมุนไพรของต่างประเทศที่ต้องผ่านกระบวนการให้ได้มาตรฐานตามข้อกำหนดที่ระบุไว้ตามเภสัชตำรับ ซึ่งแตกต่างจากตลาดของผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรในประเทศยุโรปและอเมริกาเพิ่มขึ้นอย่างมากและยังคงมีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนทำให้อุตสาหกรรมด้านนี้มีการลงทุนและมีโอกาสในตลาดโลกอย่างไม่มีที่สิ้นสุด ในปี 2002 ตลาดของผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรในประเทศสหรัฐเอมริกาเพียงประเทศเดียวมีมูลค่าถึง 3 หมื่นล้านดอลลาร์ (Raskin *et al*., 2002; Fowler, 2006) เพราะมีการควบคุมคุณภาพได้ดีกว่า

พลูคาว (*Houttuynia cordata* Thunb.) จัดเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่ในปัจจุบันทางการแพทย์ อุตสาหกรรมยา รวมทั้งอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพให้ความสนใจที่จะนำมาใช้ พลูคาวสามารถแปรรูปเป็นยารักษาโรคต่างๆ ได้ เช่น ยายับยั้งแบคทีเรียและไวรัส ยาขับปัสสาวะ ยาลดอาการบวมน้ำ ยาแก้โรคผิวหนัง และแก้ผื่นคัน เป็นต้น (Chen *et al*., 2011; Kumar *et al*., 2014; Hung *et al*., 2015) นอกจากนี้พืชพลูคาวยังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพและเครื่องดื่มได้ โดยไวน์สมุนไพรจากพลูคาวนั้นเป็นสินค้าหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ (OTOP) และได้รับรางวัลให้เป็นสินค้าดีเด่นของภูมิภาค ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าทางการตลาดและเป็นโอกาสในการสร้างอาชีพให้กับเกษตรกร และยังเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับ

กรมวิชาการเกษตร

ชุมชน (ชนวัตร, 2554) ซึ่งไม่เพียงแต่ตลาดในประเทศไทยเท่านั้น โดยจากการสำรวจตลาดเครื่องดื่มชาเพื่อสุขภาพในประเทศจีนพบว่าชาที่มีส่วนผสมของพลูคาวเป็นที่นิยมมากเป็นอันดับ 4 ในตลาดการขายชาในเขตเฉาซานของประเทศจีน (Li *et al*., 2017)

Quercitrin และ rutin เป็นสารพฤกษ์เคมีหรือสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavoniods) ที่พบในพลูคาว ซึ่งสาร 2 ชนิดนี้มักนิยมใช้เพื่อวัตถุประสงค์ทางการแพทย์ โดย quercitrin เป็นพฤกษ์เคมีที่มีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ (Fu *et al*., 2013; Rogerio *et al*., 2007) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่า quercitrin มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเชื้อ HIV โดยจะไปยับยั้งฟังก์ชันของโปรตีน Vpr ที่ทำหน้าที่เป็น accessory proteins ของเชื้อ HIV (Shimura *et al*., 1999) ส่วน rutin นั้นเป็นพฤกษ์เคมีที่มีฤทธิ์ในการป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ และยังช่วยให้ร่างกายผลิตคอลลาเจน นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Wangchauy and Chanprasert, 2012) ซึ่งปัจจุบันนี้แบรนด์เครื่องสำอางต่างๆ ทั้งในไทยและต่างประเทศนิยมนำสาร rutin มาใช้เป็นส่วนประกอบ จึงทำให้สารสำคัญชนิดนี้มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าพลูคาวจะสามารถสังเคราะห์ quercitrin และ rutin ได้เองตามธรรมชาติแต่มีปริมาณไม่สม่ำเสมอ ซึ่งบางครั้งจะได้สาร quercitrin และ rutin ในปริมาณน้อย โดยการสังเคราะห์ quercitrin ที่พบตามธรรมชาติจะอยู่ในช่วงประมาณ 0.2-1.5 mg/g (ของน้ำหนักแห้ง) ส่วนการสังเคราะห์ rutin ที่พบตามธรรมชาติจะอยู่ในช่วงประมาณ 0.2-2.6 mg/g (ของน้ำหนักพืชแห้ง) (มณฑิรา ภูติวรนาถ และคณะ, 2557) ในขณะที่งานวิจัยเพื่อประยุกต์ใช้สารเหล่านี้เพื่อยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในมนุษย์ชนิด HL-60 ต้องใช้ rutin ที่ปริมาณ 120 mg/kg (ของน้ำหนักตัว) (Lin *et al*., 2012) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าปริมาณสารสำคัญมักแปรผันตามสภาพแวดล้อมของพื้นที่ที่เก็บ ในปัจจุบันจึงได้มีการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นแหล่งผลิตสารสำคัญ โดยจะสามารถทดแทนการผลิตสารจากการเพาะปลูกพืชตามธรรมชาติ ซึ่งทำให้การผลิตสารสำคัญสามารถทำได้อย่างต่อเนื่อง (วราภรณ์ ภูตะลุน, 2551) นอกจากนี้ยังพบว่าพลูคาวถูกจัดเป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรที่กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงสาธารณสุข และภาคเอกชน ได้วิเคราะห์และคัดเลือกให้เป็นพืชสมุนไพรทางเศรษฐกิจที่มีความต้องการใช้แต่ขาดแคลน (อำพล ไมตรีเวช, 2548; สุรพล นธการกิจกุล, 2556) ดังนั้นงานวิจัยนี้จะพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้พลูคาวที่มีคุณภาพโดย มีสาร quercitrin และ rutin ในปริมาณสูงขึ้น ปราศจากการปนเปื้อนสารพิษและสิ่งเจือปน ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมคุณภาพในการผลิตวัตถุดิบสมุนไพรพลูคาวให้มีสารสำคัญสม่ำเสมอและมีปริมาณมากเพียงพอที่จะนำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป เพื่อจะเป็นการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชและเพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจให้กับพืชสมุนไพรพลูคาว

อย่างไรก็ตามการที่จะส่งเสริมให้พืชสมุนไพรมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้นนั้นจะต้องมีข้อมูลทางด้านพฤกษศาสตร์ ลักษณะประจำพันธุ์และปริมาณพฤกษเคมี (สารเคมีหรือสารสำคัญ) ในสมุนไพร ควบคู่ไปพร้อมกับการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์กรรมพืชใช้เป็นส่วนประกอบในการนำเชื้อพันธุ์พืชไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสม ยั่งยืน รวมทั้งควบคุมคุณภาพมาตรฐานในการผลิตสมุนไพรไทยในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปริมาณสารทุติยภูมิ/สารสำคัญ (ปริมาณพฤกษเคมี) : พิวรารินในหัว**กวาวเครือขาว** (เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลทางการผลิตเพื่อการค้า สำหรับนักวิจัยและผู้ที่มีความสนใจพืชสมุนไพร) ฟาซิโอลามินของ**ถั่วในสกุล Phaseolus** (ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช) สารสำคัญ/สารอัลคาลอยด์ จากรากต้น**หนอนตายหยาก** (ที่ได้จากการเก็บรวบรวมเพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช) ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย โปรตีนจากหัว**เท้ายายม่อม** และสารในกลุ่ม terpeniod ของสมุนไพร**จิงจูฉ่าย** ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุพืชสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

กรมวิชาการเกษตร

2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณสารสำคัญในกลุ่ม terpeniod ของสมุนไพรจิงจูฉ่าย และการใช้สาร methyl jasmonate และ salicylic acid เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณสาร quercitrin และ rutin ในพลูคาว 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ก้านม่วงและพันธุ์ใบเขียวในสภาพปลอดเชื้อในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเป็นแหล่งข้อมูล ทางการผลิตเพื่อการค้าและใช้ประโยชน์ในด้านการวิจัย รวมทั้งผู้ที่มีความสนใจผลิตสมุนไพรชนิดนี้ในด้านการแพทย์ต่อไปในอนาคต

ขอบเขตการศึกษา

ปัจจุบันข้อมูลสารสำคัญในพืช ถูกนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย แต่ข้อมูลดังกล่าวยังไม่มีการนำมาใช้เป็นข้อมูลในการประเมินสารสำคัญในพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพแปลงปลูก การทำนายปริมาณสารสำคัญของเมล็ดที่จัดเก็บในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชเพื่อเป็นฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และการใช้สิ่งกระตุ้นในการเพิ่มสารทุติยภูมิในพืช ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาข้อมูลดังกล่าวใน กวาวเครือขาว ถั่วเหลือง ถั่วสกุล Phaseolus หนอนตายหยาก เท้ายายม่อม จิงจูฉ่าย และพลูคาว

ทั้งนี้ภายใต้โครงการวิจัยนี้มี**ดำเนินการทำการทดลองต่อเนื่องจากการทดลองที่สิ้นสุด**จำนวน 2 เรื่องคือ **1)**การทดลองการอนุรักษ์กวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ ของกรมวิชาการเกษตรสิ้นสุดในปี 2558 (ดำเนินการวิจัยต่อเนื่องในปี 2559-2564) การขยายพันธุ์นำกวาวเครือขาวดังกล่าวออกปลูกในสภาพโรงเรือนหลังจากนั้นนำออกปลูกในแปลงทดลอง เพื่อศึกษาการประเมินสารพิวรารินในหัวกวาวเครือขาวเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการเพาะปลูกเป็นการค้าต่อไปในอนาคตและ**2)** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตากหยาก (*Stemona* spp.) เพื่อการอนุรักษ์พันธุ์พืช ของกรมวิชาการเกษตรสิ้นสุดในปี 2558 (ดำเนินการวิจัยต่อเนื่องในปี 2562-2564) เพื่อศึกษาปริมาณสารทุติยภูมิ/สารสำคัญ จากรากสะสมอาหารของพืชสมุนไพรหนอนตายอยาก และเนื่องด้วยไม่มีการวิเคราะห์ข้อมูลการประเมินค่าองค์ประกอบทางเคมีใน(ฟาซิโอลามีน) ของถั่วสกุล Phaseolus ที่เก็บอนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์ เพื่อรวบรวมเป็นฐานข้อมูลควบคู่กับการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชสำหรับใช้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร และสามารถนำเอาฐานข้อมูลนี้ไปประยุกต์ใช้ในการผลิตสารทุติยภูมิในระดับอตุสาหกรรม ด้านผลิตภัณฑ์อาหารประเภทออร์แกนิก อาหารเสริมที่ผลิตจากสมุนไพรที่มีแนวโน้มเติบโตอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากกระแสรักสุขภาพของผู้บริโภค ตลาดเครื่องสำอางจากสมุนไพร ทางด้านเภสัชกรรม และเพื่อสุขภาพที่ดีแข็งแรงปราศจากโรคภัยเป็นเสริมสร้างสุขภาพ และคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นของประชากรในประเทศ

นิยามศัพท์

ศัพท์	**นิยาม**
ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช	ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร
Phaseolus spp.	ถั่วในสกุล Phaseolus
พฤกษเคมี หรือ ไฟโตนิวเทรียนท์	สารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช
ลักษณะประจำพันธุ์	ลักษณะของพืชที่แสดงออกของพืชนั้นๆ โดยมีหน่วยพันธุกรรมเป็นตัวกำหนด

กรมวิชาการเกษตร

ฟาซิโอลามิน	สารสำคัญที่พบในถั่วขาว มีสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ อะไมเลส (amylase)
สารสำคัญ	สารประกอบที่บ่งบอกความเฉพาะตัวของสมุนไพร เป็นสารที่ก่อให้เกิดฤทธิ์

บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน

1.วิธีการดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 การประเมินพิวรารินในหัวกวาวเครือขาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

- ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2559 ปีที่สิ้นสุด 2564
- วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 การขยายพันธุ์กวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ (2559-2561)

นำเมล็ดกวาวเครือขาว มาล้างทำความสะอาดโดยผ่านน้ำไหล และล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาด หรือผงซักฟอก 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดคราบผงซักฟอก วางผึ่งไว้ให้หมาด เริ่มฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 70 % ประมาณ 10 วินาที แล้วนำไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 % ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยดเขย่าเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 10 นาที เขย่าเป็นครั้งคราว นำเนื้อเยื่อไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS + IAA 0.1 mg/l + BA 2 mg/l นำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดเป็นต้นในอาหารสูตร MS + IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l จากนั้นเพิ่มจำนวนและชักนำให้เกิดรากโดยสารเร่งการเจริญเติบโต และปริมาณน้ำตาล NAA 1 mg/l น้ำตาลร้อยละ 2 ในอาหารสูตร WPM ที่มีอาหารสูตร MS SH และ WPM

ขั้นตอนที่ 2 กวาวเครือขาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ลงปลูกในแปลง (ดำเนินการปี2562-2564)

นำต้นกวาวเครือขาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในขั้นตอนที่1 ออกปลูกในโรงเรือนทดลอง เพื่อเตรียมความพร้อมก่อนนำลงปลูกในแปลงทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี ในเดือนสิงหาคม 2562 โดยวางแผนการทดลองแบบ บลอกสุ่มสมบูรณ์ (RCB) จำนวน 5 ซ้ำ (blocks) มี 4 กรรมวิธี คือ เก็บเกี่ยวกวาวเครือขาวเมื่ออายุ 9, 12, 15 และ18 เดือนหลังปลูกในแปลง

ปรับสภาพพื้นที่โดยใช้ปุ๋ยคอกอัตรา 1,000 กิโลกรัมต่อไร่ ใช้ต้นกวาวเครือขาว ซึ่งได้จากการเพาะเนื้อเยื่อเพื่อการอนุรักษ์ ลงปลูกในแปลงทดลอง ระยะปลูก 2 เมตร x 2 เมตร ใส่ปุ๋ยทุกๆ 6 เดือน เมื่ออายุครบ 9, 12, 15 และ 18 เดือนหลังปลูกในแปลง เก็บตัวอย่างของหัวกวาวเครือขาว ในแต่ละทรีตเมนต์ ล้างน้ำให้สะอาด ปอกเปลือกหัวกวาวเครือขาว เอาเฉพาะเนื้อสีขาวข้างใน หั่นหัวกวาวเครือขาวเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบในตู้อบลมร้อน ที่ 50°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วบดด้วยเครื่องบดจนละเอียด

- กรรมวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบบลอกสุ่มสมบูรณ์ (RCB) จำนวน 5 ซ้ำ (blocks) มี 4 กรรมวิธี คือ เก็บเกี่ยวกวาวเครือขาวเมื่ออายุ 9, 12, 15 และ 18 เดือนหลังปลูกในแปลง

ขั้นตอนที่ 3 การสกัด puerarin จากรากสะสมอาหารของกวาวเครือขาว(ดำเนินการปี2562-2564)

3.1 การวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการในกวาวเครือขาว (2562-2564)

rsu.ac.th

การวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของกวาวเครือขาวสามารถทำได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบหลักในอาหาร ซึ่งได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน ความชื้น เถ้า และใยอาหารทั้งหมด การทดสอบใช้วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารของ AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International 2019

3.2 การตรวจสอบหาปริมาณสารสำคัญในกวาวเครือขาว (2562-2564)

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณของตัวอย่างจากกวาวเครือขาว เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในกวาวเครือขาว โดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์สำหรับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนส์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ยี่ห้อ Waters รุ่น Delta 600 ตรวจสอบด้วยเครื่องตรวจวัด Waters 2996 Photodiode array detector ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ด้วยคอลัมน์ชนิด HPLC C18 column (C18; 25 cm x 4.6 mm, 10 mm) และใช้ปริมาณตัวอย่างในการฉีดวิเคราะห์ 10 มิลลิลิตร โดยเลือกใช้ระบบตัวทำละลายในการวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 2.1.1

ตารางที่ 2.1.1 ระบบตัวทำละลายสำหรับวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของตัวอย่างจากกวาวเครือขาว

เวลา (นาที)	**ร้อยละโดยปริมาตรของตัวทำละลาย** (v/v)		**อัตราการไหล (มล./นาที)**
	0.01 โมล/ล. กรดอะซิติกในอะซิโตไนไตรล์	**0.01 โมล/ล.กรดอะซิติกในน้ำ (Milli-Q water)**	
5	25	75	1.0
10	30	70	1.0
20	50	50	1.0
30	85	15	1.0
40	100	0	1.0

การตรวจสอบชนิดและปริมาณสารสำคัญประเภทสารประกอบไอโซฟลาโวนส์ (isoflavones) ที่พบในกวาวเครือขาว ซึ่งได้แก่ puerarin (1) daidzein (2) และ genistein (3) และการวิเคราะห์เชิงปริมาณนั้นทำได้โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (1) – (3) คิดเป็นปริมาณของสารสำคัญ (มิลลิกรัม) ต่อสารตัวอย่างจากกวาวเครือขาว 100 กรัม

การทดลองที่ 2 การใช้เทคนิค NIR ในการทำนายปริมาณไอโซฟลาโวนในเมล็ด เพื่อประเมินคุณค่าเชื้อพันธุ์ถั่วเหลืองในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

- ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2559 ปีที่สิ้นสุด 2561
- วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

1. นำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจากธนาคารเชื้อพันธุ์พืช และศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จำนวนไม่น้อยกว่า 100 ตัวอย่าง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง MPA FT-NIR Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น

กรมวิชาการเกษตร

800 – 2500 นาโนเมตร ที่ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2. วิเคราะห์ปริมาณสารไอโซฟลาโวน 6 ชนิด ได้แก่ Daidzin Daidzein Glycitin Glycitein Genistin Genistein และ Total isoflavone ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Cherdshewasart *et al*., 2007) ศูนย์วิจัยและปฏิบัติการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน

3. นำ spectra ต้นแบบ (original spectra) ที่ได้สร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ด้วยวิธี Partial Least Square (PLS) จากโปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler ของบริษัท Camo Oslo ของประเทศนอร์เวย์

4. ทำการคัดเลือกสมการโดยพิจารณาค่า Correlation Coefficient (R) สูง ค่า Standard Error of Calibration (SEC) ต่ำ และค่า Standard Error of Prediction (SEP) ต่ำ

5. ตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำของสมการที่สร้างขึ้น โดยนำสมการไปประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวน 6 ชนิด ได้แก่ Daidzin Daidzein Glycitin Glycitein Genistin Genistein และ Total isoflavone ในตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับค่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

6. นำสมการประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนในตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

การทดลองที่ 3 การประเมินลักษณะประจำพันธุ์และพฤกษเคมี (Phaseolamin) ในถั่วสกุล Phaseolus ที่อนุรักษ์ใน
ธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

- ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2562 ปีที่สิ้นสุด 2564
- วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

1. คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วในสกุล Phaseolus ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช จำนวน 11 สายพันธุ์ รวมถึงพันธุ์ตรวจสอบ ได้แก่ ถั่วเหลือง และถั่วเขียวที่เป็นพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร (ปี 2562)

2. ปลูกเพื่อเพิ่มปริมาณเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้เพียงพอต่อการประเมินลักษณะประจำพันธุ์ ทำการปลูกเพิ่มปริมาณเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ (ปี 2562)

3. ปลูกประเมินลักษณะประจำพันธุ์ถั่วในสกุล Phaseolus โดยใช้หลักเกณฑ์ของ IPGRI พร้อมทั้งการปลูกเพิ่มปริมาณเมล็ดเชื้อพันธุ์ให้เพียงพอต่อการวิเคราะห์หาปริมาณพฤกษเคมีในห้องปฏิบัติการ โดยทำการปลูกประเมินลักษณะประจำพันธุ์และเพิ่มปริมาณเมล็ดเชื้อพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ (ปี 2563)

4. ทำการวิเคราะห์หาปริมาณพฤกษเคมีในห้องปฏิบัติการสถาบันโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดล (ปี 2563-2564)

5. เปรียบเทียบปริมาณพฤกษเคมีในเมล็ดของถั่วสายพันธุ์ต่างๆ ในสกุล Phaseolus ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช (ปี 2564)

การทดลองที่ 4 การศึกษาปริมาณสารทุติยภูมิจากรากหนอนตายหยากที่ได้จากการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช.

- ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2562 ปีที่สิ้นสุด 2564
- วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

1) การสำรวจและรวบรวมพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

ค้นคว้าข้อมูล สำรวจ และรวบรวม ตัวอย่างสมุนไพรหนอนตายหยากจากสถานที่ต่างๆในพื้นที่ที่มีรายงานการกระจายพันธุ์ นำมาปลูกเก็บไว้ในเรือนเพาะชำ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ (บางเขน) สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อใช้เป็นวัสดุวิจัย จากนั้นบันทึกข้อมูลทางสัณฐานวิทยา

กรมวิชาการเกษตร

เปรียบเทียบกับรายงานของ Flora of Thailand (2011) และรายงานของ Pajaree (2008) เพื่อระบุชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงงานวิจัย (Voucher specimen) ตามวิธีการจัดทำพรรณไม้แห้งและส่งเก็บรักษาที่พิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ/พิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร

2) การศึกษาสารทุติยภูมิ/สารสำคัญ ที่สกัดได้จากรากพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

2.1) การสกัดสารทุติยภูมิจากรากของต้นหนอนตายหยาก

นำตัวอย่างที่ที่รวบรวมมาได้จากข้อ 1 เข้าสู่กระบวนการสกัดสารทุติยภูมิจากราก ดัดแปลงตามขั้นตอนของ Chotikadachanarong (2011) โดยมีรายละเอียดดังนี้

(1) ตัดแยกส่วนรากออกจากส่วนต้นของต้นหนอนตายหยาก นำมาล้างให้สะอาดและชั่งน้ำหนักสด ก่อนนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท แล้วชั่งน้ำหนักแห้งของราก

(2) บดตัวอย่างให้ละเอียด นำไปสกัดด้วย ethanol 20 มล. ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 0.2 ก. เป็นเวลา 24 ชม. แล้วกรองสารละลายออกมา

(3) สกัดส่วนของกากซ้ำตามขั้นตอนที่ 1-2 อีก 2 รอบ

(4) นำสารละลายที่ได้มารวมกัน แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท ได้สารสกัดหยาบ ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบ

(5) นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปหาปริมาณสารทุติยภูมิด้วยเทคนิค HPLC

2.2) การหาปริมาณสารทุติยภูมิด้วย HPLC (High Perfomance Liquid Chromatography)

นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 2.1 มาสกัดอีกครั้งเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ ดัดแปลงตามขั้นตอนของเจษฎาภรณ์ (2556) โดยมีรายละเอียดดังนี้

(1) นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 2.1 มาละลายใน methanol 1 มล. จากนั้นเติมน้ำ 1 มล. และตามด้วย dichloromethane (DCM) 2 มล. เมื่อสารละลายแยก ดูดส่วนของสารชั้นล่างซึ่งเป็นส่วนผสมของ DCM กับสารทุติยภูมิออกใส่ใน vial ให้ได้ปริมาตร 10 มล. นำไประเหยแห้งในตู้อบลมร้อน 40 องศาเซลเซียส จะได้ crude DCM extract ชั่งน้ำหนักแห้ง แล้วจึงนำไปละลายด้วย methanol อัตราส่วน 1:1 (crude:methanol) กรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ใส่สารละลายกรองแล้วใน vial ขนาด 2 มล. สำหรับวิเคราะห์ด้วย HPLC ต่อไป

(2) การวิเคราะห์ตัวอย่างจากรากของหนอนตายหยาก โดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์สำหรับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนส์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ยี่ห้อ Waters รุ่น Delta 600 ตรวจสอบด้วยเครื่องตรวจวัด Waters 2996 Photodiode array detector ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ด้วยคอลัมน์ชนิด HPLC C18 column (C18; 25 cm x 4.6 mm, 10 mm) และใช้ปริมาณตัวอย่างในการฉีดวิเคราะห์ 10 มิลลิลิตร โดยเลือกใช้ stemocurtisine และ stemofoline บริสุทธิ์ เป็นสารมาตรฐาน ใช้สภาวะระบบตัวทำละลายในการวิเคราะห์จากโครมาโตแกรมสภาพขั้วและการละลายตามความเหมาะสมในแต่ละตัวอย่าง 2 ระบบ ดังแสดงในตารางที่

กรมวิชาการเกษตร

2.4.1 และ 2.4.2 จากนั้นนำปริมาณสารที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสาร stemocurtisine และ stemofoline ที่มีในน้ำหนักแห้งของราก 1 ก.

(3) บันทึกผล วิเคราะห์ผลการทดลอง สรุปผล

ตารางที่ 2.4.1 HPLC gradient flow condition system1 : สำหรับวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของตัวอย่างจากรากหนอนตายหยาก

เวลา (นาที)	ร้อยละโดยปริมาตรของตัวทำละลาย (v/v)		อัตราการไหล (มล./นาที)
	เมทานอล	0.01 โมล/ล. แอมโมเนียมอะซิเตตในน้ำ (Milli-Q water)	
5	90	10	1.0
10	85	15	1.0
15	80	20	1.0
20	70	30	1.0
30	90	10	1.0

ตารางที่ 2.4.2 HPLC gradient flow condition system2 : สำหรับวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของตัวอย่างจากรากหนอนตายหยาก

เวลา (นาที)	ร้อยละโดยปริมาตรของตัวทำละลาย (v/v)		อัตราการไหล (มล./นาที)
	เมทานอล	0.01 โมล/ล. แอมโมเนียมอะซิเตตในน้ำ (Milli-Q water)	
5	30	70	1.0
10	55	45	1.0
15	70	30	1.0
20	85	15	1.0
30	100	0	1.0

3) การเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

(1) การเพาะเลี้ยงต้นหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ โดยตัดส่วนยอดใหม่ที่แตกออกมาจากเหง้า (rhizome) ของหนอนตายหยากที่ได้จากการสำรวจรวบรวม (อย่างน้อยจาก 3 แหล่งตัวอย่างหรือชนิดตัวอย่าง) ซึ่งมียอดอ่อนยาวอย่างน้อย 3-4 ข้อปล้อง มาล้างดินออกโดยล้างผ่านน้ำไหล จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาดหรือผงซักฟอก แล้วจึงล้างด้วยน้ำสะอาดจนหมดคราบผงซักฟอก วางผึ่งไว้ให้หมาด เริ่มฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยนำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 5-10 % เติม tween20 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 10-

กรมวิชาการเกษตร

15 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ย้ายปลายยอดและข้อไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เพื่อเตรียมเป็น stock culture ในการทดลองต่อไป

(2) การทดลองสูตรอาหารชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อ

นำชิ้นส่วนหนอนตายหยากขนาดประมาณ 1 ซม. ที่มีตาติดอยู่ ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลองสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน 3 ชนิด ได้แก่ 6-benzyladenin (BA) Kinetin (KN) และ Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 2 4 และ 8 มก./ล. รวมทั้งหมด 12 สูตร และมีสูตรควบคุม (control) คือสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. และปรับค่า pH ที่ 5.75-5.8 เพาะเลี้ยงในสภาพที่ให้แสงเป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ขวด เป็นเวลา 60 วัน บันทึกผลการเกิดยอด จำนวนยอดต่อชิ้น ความยาวยอด จำนวนใบ และร้อยละการเกิดราก

(3) การทดลองสูตรอาหารชักนำให้เกิดราก/รากสะสมอาหาร

นำชิ้นส่วนหนอนตายหยากขนาดประมาณ 1 ซม. ที่มีตาติดอยู่ ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลองสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 และ 60 ก./ล. และเติม thiamine ความเข้มข้น 0 และ 1 มก./ล. ร่วมกับการไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน หรือการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน 2 ชนิด คือ Indole-3-butyric acid (IBA) ความเข้มข้น 1 มก./ล. และ Naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 1 มก./ล. โดยมีสูตรควบคุม (Cr=control) คือสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและเติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. อาหารทุกสูตรปรับค่า pH ที่ 5.7 เพาะเลี้ยงในสภาพที่ให้แสงเป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ วางแผนการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่สนใจศึกษา คือ การตอบสนองของชิ้นส่วนพืชในการเกิดรากต่ออาหารทั้ง 12 สูตร สูตรละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ขวด เป็นเวลา 60 วัน บันทึกผลเปอร์เซ็นต์การเกิดราก ลักษณะรากที่เกิดขึ้น ความยาวราก จำนวนราก

(4) ทดสอบการย้ายออกปลูก โดยนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงและเกิดเป็นต้นสมบูรณ์ ย้ายออกปลูกในโรงเรือน บันทึกผลร้อยละการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์ หลังย้ายปลูกนาน 2 เดือน

4) สรุปผลการทดลองทั้งหมด และรายงานผล

การทดลองที่ 5 การวิเคราะห์ปริมาณแป้ง และโปรตีนในหัวเท้ายายม่อมเพื่อการอนุรักษ์

- ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2563 ปีที่สิ้นสุด 2564
- วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 การเปรียบเทียบผลผลิต หัวเท้ายายม่อมจากต่างแหล่งพันธุ์ 6 แห่ง (ปี 2563-2564)

วางแผนการวิจัย นำหัวเท้ายายม่อมที่ได้จากแหล่งพันธุ์ธรรมชาติ 6 แหล่ง มีขนาด 150-200 กรัม มาจัดสิ่งทดลอง ดำเนินการทดลองในเดือน พฤษภาคม 2563 โดยวางแผนการทดลองแบบ CBD จำนวน 6 กรรมวิธี มี 4 ซ้ำ คือ

กรรมวิธีที่ 1 หัวเท้ายายม่อม จาก จ.จันทบุรี

กรรมวิธีที่ 2 หัวเท้ายายม่อม จาก จ.กาฬสินธุ์

กรรมวิธีที่ 3 หัวเท้ายายม่อม จาก จ.ฉะเชิงเทรา

กรรมวิธีที่ 4 หัวเท้ายายม่อม จาก จ.อุบลราชธานี

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 5 หัวเท้ายายม่อม จาก จ.พังงา

กรรมวิธีที่ 6 หัวเท้ายายม่อม จาก จ.ตรัง

นำหัวเท้ายายม่อมปลูกลงกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 18 นิ้ว ใช้จำนวนหัว 6 หัวต่อซ้ำในแต่ละกรรมวิธี บันทึกผลการเจริญเติบโตทุกเดือน เก็บเกี่ยวผลผลิตหัวเท้ายายม่อม เมื่อใบแก่มีสีเหลืองและเหี่ยว เก็บข้อมูลผลผลิตน้ำหนักหัวสด วิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยตามวิธีการของ AOAC (2002) และโปรตีน

การทดลองที่ 6 การเพิ่มปริมาณน้ำมันหอมระเหยในกลุ่ม terpenoid จากต้นจิงจูฉ่ายโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2563 ปีที่สิ้นสุด 2564
- วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

1. ฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของข้อและยอดจิงจูฉ่าย และเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นจิงจูฉ่ายอายุ 6 เดือน ตัดยอดออกมาจากกระถางเพาะเลี้ยง ล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ตัดใบส่วนเกินออกและนำไปล้างทำความสะอาดเอาเศษดินที่ติดมาออกด้วยน้ำยาล้างจาน 1 ครั้ง ผึ่งให้สะเด็ดน้ำแล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้ Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 และ 20 นาที พอครบตามเวลานำไปล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ครบตามเวลานำไปซับด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเพื่อซับน้ำส่วนเกินออก จากนั้นนำไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 2 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลองโดย นับจำนวนข้อและยอดที่มีชีวิต และปราศจากเชื้อ

2. ศึกษาผลของ 6-Benzylaminopurine (BA) ที่ชักนำให้เกิดยอด

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชุดทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เริ่มจากนำข้อและยอดจิงจูฉ่ายจากต้นที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

- สูตรอาหาร MS + BA 0 mg/l
- สูตรอาหาร MS + BA 1 mg/l
- สูตรอาหาร MS + BA 2 mg/l
- สูตรอาหาร MS + BA 4 mg/l
- สูตรอาหาร MS + BA 6 mg/l
- สูตรอาหาร MS + BA 12 mg/l

เพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายลงอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ในช่วงเวลาดังกล่าวมีการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 2 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลองโดยตรวจนับจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน (โดยนับยอดที่มีความยาวตั้งแต่ 0.5 เซนติเมตรขึ้นไป) วัดความยาวยอด และบันทึกภาพ การทดลองนี้ใช้ 15 ซ้ำ ให้ 1 ซ้ำคือ 1 ขวดเพาะเลี้ยง

กรมวิชาการเกษตร

3. การนำต้นจิงจูฉ่ายออกปลูกในโรงเรือน

นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นจิงจูฉ่ายที่มีระบบรากสมบูรณ์มาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องพร้อมกับคลายฝาขวดไว้ ศึกษาระยะเวลาในการปรับสภาพที่แตกต่างกันคือ 3, 5, 7 และ 10 วัน นำต้นออกจากขวดล้างทำความสะอาดวุ้นที่ติดกับรากออกให้หมด และพักไว้ หลังจากนั้นย้ายปลูกลงกระถางโดยใช้ดินผสมสำเร็จรูปพร้อมปลูก (ราชาดินปลูก) เป็นเวลา 1 เดือน บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนต้นจิงจูฉ่ายที่รอดชีวิตและมีลักษณะต้นแข็งแรงสมบูรณ์

4. ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาในการได้รับ salicylic acid ต่อการเพิ่มปริมาณสาร total terpenoids และ สาร ascorbic acid ในต้นจิงจูฉ่าย

ปัจจัยที่ 1 คือความเข้มข้นของสิ่งกระตุ้น (Salicylic acid ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 3 และ 5 mM)

ปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาที่จิงจูฉ่ายสัมผัสสิ่งกระตุ้น (ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน) รวม 18 ชุดทดลอง (treatment combination) ชุดทดลองละ 4 ซ้ำ นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชุดทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

นำยอดจิงจูฉ่ายที่ได้จากการเพิ่มปริมาณในการทดลองที่ 1 ปีงบประมาณ 2563 มาเพาะเลี้ยงจนมีอายุ 12 สัปดาห์ หลังจากนั้นเติมสิ่งกระตุ้นการผลิตสารทุติยภูมิคือ salicylic acid ซึ่งกรองผ่านแผ่นกรองชนิด PTFE ขนาดช่อง 0.20 ไมโครเมตรให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

- สูตรอาหาร MS + ชุดควบคุมใช้ absolute ethanol และน้ำ deionized
- สูตรอาหาร MS + Salicylic acid 0.1 mM
- สูตรอาหาร MS + Salicylic acid 0.5 mM
- สูตรอาหาร MS + Salicylic acid 1 mM
- สูตรอาหาร MS + Salicylic acid 3 mM
- สูตรอาหาร MS + Salicylic acid 5 mM

บันทึกผลการทดลองและนำไปวิเคราะห์ปริมาณสาร total terpenoids ด้วยเครื่อง spectrophotometer วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยเครื่อง Ultra-High Performance Liquid chromatography (HPLC) ภายหลังจากทำการกระตุ้น 1, 3 และ 5 วัน

วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในกลุ่ม total terpenoid และ ปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid)

ตัวอย่างต้นจิงจูฉ่ายที่ได้จากขั้นตอนที่ 3 นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ทั้ง 2 ชนิดตามวิธีการดังนี้

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในกลุ่ม total terpenoid

ด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยเปรียบเทียบกับต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ ตามวิธีการของ Chang และคณะ (2012)

<u>การเตรียมตัวอย่าง</u>

นำตัวอย่างต้นจิงจูฉ่าย (ผ่านการกระตุ้น ไม่ผ่านการกระตุ้น และปลูกในสภาพธรรมชาติ) มาอบที่ 50°C เป็นเวลา 12-15 ชั่วโมง บดให้ละเอียด เก็บไว้ในภาชนะที่แห้งและสะอาด

<u>การสกัด</u>

กรมวิชาการเกษตร

สกัดตัวอย่าง 2 g ด้วย methanol 10 ml โดยใช้วิธี ultrasonic extraction เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนสารละลาย แล้วสกัดซ้ำด้วย methanol 10 ml อีก 2 ครั้ง นำส่วนใสที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 ครั้งไประเหยให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ละลายกลับด้วย methanol 15 ml ก่อนนำไปวิเคราะห์

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ละลายมาตรฐาน ursolic acid ด้วย methanol ให้ได้ความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5 และ 1 mg/ml

การวิเคราะห์ปริมาณ total terpenoid

การวิเคราะห์ปริมาณ total terpenoid ในสารสกัดจิงจูฉ่าย โดยนำสารสกัดตัวอย่าง 100 µL ทำปฏิกิริยากับ vanillin-glacial acetic acid solution (150 µL, 5% w/v) และ perchloric acid solution (500 µL) บ่มตัวอย่างที่ 60oC เป็นเวลา 45 นาที แล้วเติม glacial acetic acid (2.25mL) แล้วนำไปวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 548 nm (UV1800; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) ผลการวิเคราะห์แสดงในรูป milligram ursolic acid equivalents (mg ursolic acid/g ตัวอย่าง (น้ำหนักแห้ง)

การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

ด้วยเครื่อง Ultra High Liquid Chromatograph (UHPLC) ตามวิธีการของ M. Stan *et al.*, (2014)

การสกัด

บดตัวอย่างต้นจิงจูฉ่ายสด (ผ่านการกระตุ้น ไม่ผ่านการกระตุ้น และปลูกในสภาพธรรมชาติ) ปริมาณ 10 g ใน 1% acetic acid (4 °C) ปริมาตร 100 ml ด้วยเครื่องบด เป็นเวลา 2 นาที เก็บส่วนสารละลายส่วนใสกรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.22 µm ก่อน นำไปฉีด UHPLC

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ละลายมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic) ด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ความเข้มข้น 3.125, 6.25, 12.5, 25 และ 50 mg/ml

การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

การวิเคราะห์วิตามินซี ในสารจิงจูฉ่ายด้วยเครื่อง Ultra High Liquid Chromatograph (UHPLC) ผลิตภัณฑ์ของ Shimadzu รุ่น Nexera-2 LD-30AD เครื่องตรวจวัดชนิด Photo diode array รุ่น SPD-M20A ระบบฉีดสารอัตโนมัติรุ่น SIL-30AC (สภาวะเครื่อง UHPLC: ใช้คอลัมน์: Supelco Titan C18 (100mm × 2.1mm × 1.9 µm) ที่อุณหภูมิคอลัมน์: 30°C อัตราการไหล: 0.5 ml/min ตัวพา: Isocratic: 15 mM phosphate buffer pH 2.7 (ตัวพา A) และ methanol (ตัวพา B) เครื่องตรวจวัด: PDA 245 nm ปริมาตรการฉีด: 1 µl เวลาที่ใช้: 6 นาที)

การทดลองที่ 7 การเพิ่มปริมาณสารสำคัญเคอร์ซิตรินและรูตินจากต้นพลูคาวโดยใช้สารกระตุ้น

- ระยะเวลาที่ดำเนินการ ปีที่เริ่มต้น 2564 ปีที่สิ้นสุด 2564
- วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลูคาว

1. คัดเลือกต้นพลูคาวก้านม่วงสายพันธุ์ไทยที่มีความสมบูรณ์ปราศจากโรคและศัตรูพืชที่มีอายุ 6 เดือน จากนั้นตัดชิ้นส่วนบริเวณปลายยอดและข้อออกมาจากกระถางเพาะเลี้ยง นำชิ้นส่วนพืชที่ตัดได้มาล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ตัดใบส่วนเกินแล้วนำมาล้างทำความสะอาดเอาเศษดินที่ติดมาออกด้วยน้ำยาล้างจาน จำนวน 1 ครั้ง และล้างน้ำไหลผ่าน เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชมาตัดเป็นท่อนสั้นๆ ทำความสะอาดชิ้นส่วนข้อ

กรมวิชาการเกษตร

และยอดพลูคาวโดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อและเวลาในการทำความสะอาดแตกต่างกัน ซึ่งทุกทรีตเมนต์เติมสาร Tween20 เพื่อลดแรงตึงผิว โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี 20 ซ้ำ โดย 1 หน่วยการทดลอง (1 ขวดเพาะเลี้ยง) คือ

กรรมการวิธีที่ 1 ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที

กรรมการวิธีที่ 2 ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที

กรรมการวิธีที่ 3 ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที

กรรมการวิธีที่ 4 ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ 15 นาที และคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ 5 นาที

2. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดนำชิ้นส่วนไปล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ตายออกแล้วตัดชิ้นส่วนข้อให้ได้ความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกจำนวนชิ้นที่ปราศจากการปนเปื้อนและสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Tukey's HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของ BA ในการชักนำให้เกิดยอด

1. นำต้นพลูคาวที่อยู่ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS อายุ 2 เดือน มาตัดใบและปลายยอดออกให้หมดแล้วตัดแยกเป็นข้อเดี่ยว ๆ

2. นำข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0, 1.0, 2.0, 3.0, และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแต่ละทรีทเมนต์มี 20 ซ้ำ โดย 1 หน่วยการทดลอง คือ 1 ขวดเพาะเลี้ยง ในทุกสูตรอาหารเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 2.5 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วัน โดยมี 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมการวิธีที่ 1 BA ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมการวิธีที่ 2 BA ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมการวิธีที่ 3 BA ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมการวิธีที่ 4 BA ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมการวิธีที่ 5 BA ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. บันทึกผลโดยนับจำนวนยอดและบันทึกลักษณะยอดที่เกิดขึ้น จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดลองด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Tukey's HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสาร quercitrin และ rutin ในต้นพลูคาวในสภาพปลอด

1. นำต้นพลูคาวจากขั้นตอนที่ 1-2 ที่มีลักษณะต้นและระบบรากสมบูรณ์แข็งแรง มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมสิ่งกระตุ้นการผลิตสารทุติยภูมิคือ methyl jasmonate และ salicylic acid ซึ่งกรองผ่านแผ่นกรองชนิด PTFE ขนาดช่อง 0.20 ไมโครเมตร ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันคือ methyl jasmonate : 0, 0.05, และ 0.1 mM และ salicylic acid : 0, 0.25, และ0.5 mM หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 วันตามลำดับ บันทึกผลการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ โดย 1 หน่วยการทดลอง (5 ขวดเพาะเลี้ยง) มี 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรมวิชาการเกษตร

กรรมการวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS
กรรมการวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + methyl jasmonate 0.05 mM
กรรมการวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + methyl jasmonate 0.10 mM
กรรมการวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + methyl jasmonate 1.00 mM
กรรมการวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + salicylic acid 0.25 mM
กรรมการวิธีที่ 6 สูตรอาหาร MS + salicylic acid 0.50 mM
กรรมการวิธีที่ 7 สูตรอาหาร MS + salicylic acid 1.00 mM

2. วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ เคอร์ซิตรินและรูตินด้วย HPLC ภายหลังจากทำการกระตุ้น โดยการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ HPLC สามารถทำได้โดยเมื่อครบระยะเวลาการกระตุ้นให้นำพืชที่ได้มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างแห้งที่ได้ไปบดให้ละเอียดแล้วชั่งให้ได้น้ำหนักแห้งปริมาณ 0.1 กรัม จากนั้นนำไปสกัดด้วยเมทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นระยะเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปใส่ในเครื่องเขย่าสารโดยใช้ความถี่สูงที่ค่าความถี่ 40 กิโลเฮริตซ์ เป็นเวลา 50 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำส่วนใสมากรองต่อด้วยแผ่นกรองไนลอนที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร (PVDF membrane) ตามวิธีของ Fuse (1994)

3. วิเคราะห์สารเคอร์ซิตรินและรูตินด้วย HPLC โดยใช้เครื่อง Shimadzu HPLC (SLC-10Avp) ต่อกับเครื่อง Degasser (DGU-14A) และเครื่องตรวจวัดชนิด Photo-diode array (SPD-M10Avp) ซึ่งสารละลายจะถูกแยกด้วยคอลัมน์ Luna C18 ขนาด 250 × 4.6 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5 ไมโครเมตร โดยใช้เฟสคงที่เป็นแบบผันกลับได้และเชื่อมต่อกับการ์ดคอลัมน์ ขนาด 4x3 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิห้อง และใช้เฟสเคลื่อนที่ของสารละลายผสม H_2O-CH_3CN-HCOOH อัตราส่วน 400:100:0.2 โดยปริมาตรการแยกสารภายใต้ระบบนี้จะใช้อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่คงที่ด้วยอัตราการไหลเท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร เป็นเวลา 45 นาที

4. นำผลค่าความเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณกับกราฟสารละลายมาตรฐานมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชุดทดลองด้วยวิธี Tukey's HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. การปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

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

❑ เปลี่ยนแปลงงบประมาณ โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

❑ เปลี่ยนแปลงวัตถุประสงค์/ผลผลิต โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ผลการดำเนินงานของโครงการ

สรุปผลการดำเนินงานที่ทำได้จริง โดยให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของโครงการ (สรุปภาพรวมของโครงการ)

การทดลองที่ 1 การประเมินพิวรารินในหัวกวาวเครือขาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

การวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของกวาวเครือขาว ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน ความชื้น เถ้า และใยอาหารทั้งหมด โดยวิธีการการทดสอบตามมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารของ AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International 2019 โดยผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบหลักในอาหารแสดงได้ดังตารางที่ 2.1.2

ตารางที่ 2.1.2 ปริมาณของสารประกอบหลักในอาหารของตัวอย่างจากกวาวเครือขาวต่อปริมาณสารตัวอย่าง 100 กรัม

กรรมวิธี	ปริมาณของสารประกอบ (กรัม/ตัวอย่าง 100 กรัม)					
	คาร์โบไฮเดรต	ไขมัน	โปรตีน	ความชื้น	เถ้า	ใยอาหารทั้งหมด
1. อายุ 9 เดือนหลังปลูก	61.22	0.93	9.67	14.91	13.06	18.72
2. อายุ 12 เดือนหลังปลูก	71.82	1.21	5.84	10.81	11.25	9.08

การตรวจสอบหาปริมาณสารสำคัญในกวาวเครือขาว ประเภทสารประกอบไอโซฟลาโวนส์ (isoflavones) ที่พบในกวาวเครือขาว ซึ่งได้แก่ puerarin, daidzein และ genistein พบว่า ให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณพิวรารินและปริมาณ daidzein ในหัวกวาวเครือขาว ที่อายุ 9 เดือนหลังปลูก มีค่าปริมาณ puerarin daidzein และ genistein สูงสุด (80.66, 24.15 และ 0.26 มิลลิกรัม/กวาวเครือขาวแห้ง100กรัม ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 2.1.3

ตารางที่ 2.1.3 ชนิดและปริมาณของสารสำคัญ puerarin (1), daidzein (2) และ genistein (3) ในตัวอย่างจากกวาวเครือขาว

กรรมวิธี	ปริมาณสารสำคัญ (มิลลิกรัม/ตัวอย่าง 100 กรัม)		
	puerarin (1)	daidzein (2)	genistein (3)
1. อายุ 9 เดือนหลังปลูก	80.66	24.15	0.26
2. อายุ 12 เดือนหลังปลูก	55.42	14.74	0.16

การทดลองที่ 2 การใช้เทคนิค NIR ในการทำนายปริมาณไอโซฟลาโวนในเมล็ด เพื่อประเมินคุณค่าเชื้อพันธุ์ถั่วเหลืองในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

จากการทดลองจะได้สมการสำหรับการประเมินคาไอโซฟลาโวนทั้ง 6 ชนิด ซึ่งได้แก่ Daidzin Daidzein Glycitin Glycitein Genistin Genistein และสามารถนำเอาสมการดังกล่าวไปประเมินหาคาไอโซฟลาโวนในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เก็บอนุรักษ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้ โดยที่ไม่ทำลายตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ซึ่งมีปริมาณจำกัด

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 3 การประเมินลักษณะประจำพันธุ์และพฤกษเคมี (Phaseolamin) ในถั่วสกุล Phaseolus ที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

ลักษณะประจำพันธุ์ได้ข้อมูลการประเมินลักษณะประจำพันธุ์ถั่วสกุล phaseolus และพันธุ์ตรวจสอบจำนวนทั้งหมด 17 ตัวอย่างพันธุ์ เพื่อเก็บเป็นฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต และใช้เป็นฐานข้อมูลของนักปรับปรุงพันธุ์ในการคัดเลือกพันธุ์นำไปใช้ในทางการค้าเป็นการเพิ่มมูลค่าในตัวผลิตผลทางการเกษตรสามารถสร้างรายเสริมให้กับเกษตรกร ได้แก่ สีโคน สีดอก สีกลีบเลี้ยง ลักษณะการเจริญ รูปแบบการเจริญ ความยาวก้านใบ ความยาวก้านใบย่อย ขนใบที่ใบ การแตกกิ่ง ความหนาแน่นทรงพุ่ม ลักษณะการแตกกิ่ง การเรียงตัวของกิ่ง เป็นต้น จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดถั่วทุกชนิดสามารถยับยั้งเอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4 ได้ร้อยละ 12-52 ที่ความเข้มข้น 12.5 มก./มล. โดยถั่วเขียวทั้ง 2 ชนิด และถั่วบอย สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้สูงกว่าถั่วชนิดอื่นๆ โดยถั่วทั้ง 3 ชนิดนี้ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมค่อนข้างสูงซึ่งอาจสามารถทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งที่ดีได้ (ตารางที่ 2.3.1)

ตารางที่ 2.3.1 ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวเนื่องกับโรคอ้วน (เอนไซม์ไลเปส) และเบาหวาน (เอนไซม์แอลฟ่า-อะไมเลส เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส และเอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4)

GS.No.	พันธุ์	ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์			
		เอนไซม์ไลเปส*	เอนไซม์แอลฟ่า-อะไมเลส#	เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส#	เอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4#
DOALG00038	TML 92 (2)	17.09 ± 1.46^{c}	**31.06 ± 1.24^{a}**	21.39 ± 1.51^{f}	38.32 ± 2.55^{d}
DOALG00047	ถั่วขาว	12.06 ± 1.01^{d}	25.79 ± 1.47^{b}	12.32 ± 0.83^{g}	35.63 ± 3.39^{d}
DOALG00059	ถั่วบอย	15.99 ± 1.45^{c}	25.04 ± 1.69^{b}	41.36 ± 2.73^{c}	47.33 ± 1.61^{b}
DOALG00107	ถั่วนิ้วนางแดง	6.89 ± 0.48^{f}	30.08 ± 1.33^{a}	48.59 ± 2.94^{bc}	37.02 ± 3.37^{d}
DOALG00108	ถั่วอะซูกิ	**20.87 ± 2.05^{a}**	12.53 ± 0.80^{d}	26.91 ± 2.17^{e}	11.95 ± 0.83^{e}
DOALG00112	ถั่วแดงหลวง	19.31 ± 1.89^{b}	14.15 ± 0.38^{d}	6.43 ± 0.59^{h}	13.02 ± 1.11^{e}
DOASB 1339	ถั่วเหลือง สจ. 5	9.57 ± 0.57^{e}	24.77 ± 2.41^{b}	**59.83 ± 3.96^{a}**	42.44 ± 4.12^{c}
DOASB 1340	ถั่วเหลือง ชม. 60	9.57 ± 0.90^{e}	26.33 ± 2.03^{b}	52.18 ± 4.93^{b}	45.62 ± 2.35^{b}
-	ถั่วเขียวผิวดำ	ND	12.91 ± 0.87^{d}	49.32 ± 3.18^{c}	**51.62 ± 3.37^{a}**
-	ถั่วเขียวผิวมัน	ND	17.26 ± 1.32^{c}	37.98 ± 3.59^{d}	47.97 ± 4.27^{b}

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (*n=3*) และแสดงผลด้วย ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± SD); ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่น $p<0.05$ ด้วยการทดสอบ One-way ANOVA และ Duncan's multiple comparison test; *ความเข้มข้นของสารสกัด = 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร; #ความเข้มข้นของสารสกัด = 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

การทดลองที่ 4 การศึกษาปริมาณสารทุติยภูมิจากรากหนอนตายหยากที่ได้จากการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช

4.1) การสำรวจและรวบรวมพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

รวบรวมตัวอย่างเชื้อพันธุกรรมหนอนตายหยากปลูกลงกระถางเก็บอนุรักษ์ไว้ในโรงเรือน ได้จำนวนทั้งสิ้น 92 ตัวอย่าง จาก 11 แหล่ง ได้แก่ เชื้อพันธุ์ดั้งเดิมที่มีการอนุรักษ์ไว้ในโรงเรือนของธนาคารเชื้อพันธุ์พืช, อ.เมือง จ. พิษณุโลก, อ.เขาวง จ.กาฬสินธุ์, อ.ประทิว จ.ชุมพร, อ.อ่าวลึก จ.กระบี่, อ.เมืองปาน จ.ลำปาง, อ.ไทรโยค

กรมวิชาการเกษตร

จ.กาญจนบุรี, อ.เมืองกระบี่ จ.กระบี่, อ.บางน้ำจืด จ.ชุมพร, อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา และ อ.กาบเชิง จ. สุรินทร์ สามารถจัดจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์โดยเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาจาก Flora of Thailand ได้ 5 ชนิด (species) ไม่สามารถจำแนกได้ 1 ชนิด ได้แก่ *Stemona curtisii* Craib., *S. collinsiae* Craib., *S. tuberosa* Lour., *S. rupestris* Inthachub., *S. pierrei* Gagnep และ *Stemona* sp. (Unknown) ได้จัดทำตัวอย่างพรรณไม้เพื่อจัดเก็บเป็นตัวอย่างอ้างอิง และลงทะเบียนเป็นพรรณไม้อ้างอิงในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ จำนวน 26 ตัวอย่าง

4.2) การศึกษาสารทุติยภูมิ/สารสำคัญ ที่สกัดได้จากรากพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารทุติยภูมิในตัวอย่างของรากหนอนตายหยากแต่ละชนิด (species) จากแหล่งที่มาต่างๆกันด้วยเทคนิค HPLC (High Perfomance Liquid Chromatography) โดยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Waters รุ่น Delta 600 และจากวิเคราะห์สารสกัดที่ได้จากรากหนอนตายหยากแต่ละชนิด (species) พบว่า

สาร stemoncurtisine พบในรากหนอนตายหยาก 2 ชนิด (species) คือ *S. curtisii* Hook. f. และ *S. rupestris* Inthachub. และเป็นสารประกอบหลัก โดยรากหนอนตายหยาก *S. rupestris* Inthachub. จาก อ.เขาวง จ.กาฬสินธุ์ ให้ปริมาณสาร stemocurtisine สูงที่สุด (1.68% w/w) รองลงมาคือรากหนอนตายหยาก *S. curtisii* Hook. f. จาก อ.ประทิว จ. ชุมพร (1.15% w/w)

สาร stemofoline พบในรากหนอนตายหยาก 2 ชนิด (species) ได้แก่ *S. curtisii* Hook. f. และ *S. collinsiae* Craib. โดยสาร stemofoline เป็นสารประกอบหลักใน *S. collinsiae* Craib. แต่ไม่ใช่สารประกอบหลักใน *S. curtisii* Hook. f. และรากหนอนตายหยาก *S. collinsiae* Craib. ที่ได้จาก อ.ไทรโยค จ. กาญจนบุรี ให้ปริมาณสาร stemofoline สูงที่สุด (1.65% w/w)

สำหรับหนอนตายหยากชนิดอื่นๆ ได้แก่ *S. tuberosa* Lour. *S. rupestris* Inthachub. *S. pierrei* Gagnep. และ *Stemona* sp. (unknown) รวมถึง *S. curtisii* Hook. f. จาก อ.เมือง จ.กระบี่ ไม่พบสาร stemocurtisine และ stemofoline จากสารสกัดรากดังกล่าว (ตารางที่2.4.3)

ตารางที่ 2.4.3 ปริมาณสารทุติยภูมิในตัวอย่างรากหนอนตายหยากแต่ละชนิด (species) จากแหล่งที่มาต่างๆกัน

ลำดับ	ชนิด (species)	แหล่งที่มา	ปริมาณร้อยละโดยน้ำหนัก (% w/w)	
			stemocurtisine	stemofoline
1	*Stemona curtisii* Craib.	อนุรักษ์ดั้งเดิม	**1.12 ± 0.28***	0.16 ± 0.08
2	*Stemona tuberosa* Lour.	เมืองปาน ลำปาง	-	-
3	*Stemona collinsiae* Craib.	ไทรโยค กาญจนบุรี	-	**1.65 ± 0.31***
4	*Stemona curtisii* Hook. f.	ประทิว ชุมพร	**1.15 ± 0.25***	0.17 ± 0.05
5	*Stemona curtisii* Hook. f.	อ่าวลึก กระบี่	**0.94 ± 0.10***	-
6	*Stemona collinsiae* Craib.	เมือง พิษณุโลก	-	**1.03 ± 0.42***
7	*Stemona curtisii* Hook. f.	เมือง กระบี่	**0.71 ± 0.20***	-
8	*Stemona curtisii* Hook. f.	บางน้ำจืด ชุมพร	**1.03 ± 0.18***	0.11 ± 0.02
9	*Stemona rupestris* Inthachub.	เขาวง กาฬสินธุ์	**1.68 ± 0.39***	-
10	*Stemona curtisii* Hook. f.	ทุ่งหว้า สตูล	0.76 ± 0.21	0.09 ± 0.02
11	*Stemona pierrei* Gagnep.	กาบเชิง สุรินทร์	-	-

กรมวิชาการเกษตร

ลำดับ	ชนิด (species)	แหล่งที่มา	ปริมาณร้อยละโดยน้ำหนัก (% w/w)	
			stemocurtisine	stemofoline
12	*Stemona tuberosa* Lour.	เมืองปาน ลำปาง	-	-
13	*Stemona* sp.	วังน้ำเขียว นครราชสีมา	-	-

* สารประกอบหลักในตัวอย่าง

4.3) การเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์

(1) ฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อได้สำเร็จ จำนวน 2 ชนิด คือ *Stemona tuberosa* Lour. และ *S. collinsiae* Craib.

(2) การทดลองการชักนำให้เกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อหนอนตายหยากทั้งสองชนิด (*S. tuberosa* Lour. และ *S. collinsiae* Craib.) บนอาหารทดลอง 13 สูตร เป็นเวลา 60 วัน พบว่าหนอนตายหยากทั้งสองชนิด (species) สามารถเจริญเติบโตขึ้นเป็นยอดใหม่ได้จากทุกสูตรอาหาร โดย *S. tuberosa* Lour. สามารถเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 6 มก./ล. (S3) และสูตรที่เติม BA 8 มก./ล. (S4) (3 ยอดต่อชิ้น) ในขณะที่ *S. collinsiae* Craib. สามารถเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. (S9) (3 ยอดต่อชิ้น) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

(3) การทดลองการชักนำให้รากยอดในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อหนอนตายหยากบนอาหารทดลอง 12 สูตร เป็นเวลา 60 วัน พบว่า สามารถชักนำให้ *S. collinsiae* Craib. เกิดรากได้ดีที่สุดคิดเป็นร้อยละ 71.23 บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล sucrose 3% ร่วมกับการเติม NAA 1 มก./ล. และเพิ่มวิตามิน thiamine 1 มก./ล. (R11) แต่สูตรอาหารทดลองชุดนี้ ไม่สามารถชักนำให้หนอนตายหยาก *S. tuberosa* Lour. เกิดรากบนอาหารทดลองได้

4.4) การทดสอบการย้ายออกปลูกในโรงเรือน พบว่า หนอนตายหยากดังกล่าวไม่สามารถรอดชีวิตได้ จำเป็นต้องเพิ่มจำนวนต้นกล้าสมบูรณ์ในสภาพหลอดทดลองแล้วทดสอบหาวิธีการที่เหมาะสมที่จะนำต้นกล้าออกปลูกในโรงเรือนและสามารถรอดชีวิตได้ต่อไป

การทดลองที่ 5 การวิเคราะห์ปริมาณแป้ง และโปรตีนในหัวเท้ายายม่อมเพื่อการอนุรักษ์

การเจริญเติบโตของเท้ายายม่อมที่อายุ 5 เดือนหลังปลูก (กันยายน 2563) โดยทั้ง 6 กรรมวิธี มีจำนวนก้านใบ อยู่ระหว่าง 1-6 ก้านต่อหัว มีความยาวก้านใบอยู่ระหว่าง 11-86 เซนติเมตร (ซม.) จำนวนก้านช่อดอก 1 ก้านต่อหัวโดยมีความยาวก้านช่อดอกอยู่ระหว่าง 94-167 ซม. ดังแสดงในตารางที่ 2.5.1

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.5.1 การเจริญเติบโตของเท้ายายม่อมที่อายุ 5 เดือนหลังปลูก

กรรมวิธี	ก้านใบ		ก้านช่อดอก	
	จำนวน	ความยาว (ซม.)	จำนวน	ความยาว (ซม.)
1.เท้ายายม่อมจากจันทบุรี	2-4	25-83	1	122
2.เท้ายายม่อมจากกาฬสินธุ์	2-4	11-67	1	94
3.เท้ายายม่อมจากฉะเชิงเทรา	1-3	18-57	1	88
4.เท้ายายม่อมจากอุบลราชธานี	3-6	12-71	1	111
5.เท้ายายม่อมจากพังงา	2-4	12-60	1	167
6.เท้ายายม่อมจากตรัง	2-4	12-86	1	150

การเก็บเกี่ยวหัวเท้ายายม่อม เมื่อใบแก่มีสีเหลืองและเหี่ยว ผลการทดลองพบว่า เท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัดให้ผลผลิตหัวมีน้ำหนักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เท้ายายม่อมจาก จ.จันทบุรีมีน้ำหนักหัวสูงสุด (416.88 กรัม) แต่ไม่แตกต่างกับหัวจาก จ.ฉะเชิงเทรา (411.88 กรัม) ดังแสดงในตารางที่ 2.5.2 และการแปรรูปแป้งเท้ายายม่อมพบว่า ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมที่แปรรูปจากจากทั้ง 6 จังหวัดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมจากพันธุ์จ.อุบลราชธานีสูงสุด (220.37 ก./นน.สด 1 กก.) รองลงมาคือ จ.จันทบุรี (202.37 ก./นน.สด 1 กก.) ดังแสดงในตารางที่ 2.5.2

ตารางที่ 2.5.2 น้ำหนักหัวเท้ายายม่อมที่อายุ 8 เดือนหลังปลูก

กรรมวิธี	น้ำหนักหัว (กรัม)	แป้ง (กรัม)/หัวสด 1กก.
1.เท้ายายม่อมจากจันทบุรี	416.88 a	202.37
2.เท้ายายม่อมจากกาฬสินธุ์	246.88 bc	189.36
3.เท้ายายม่อมจากฉะเชิงเทรา	411.88 a	183.11
4.เท้ายายม่อมจากอุบลราชธานี	261.88 b	220.37
5.เท้ายายม่อมจากพังงา	191.88 c	178.81
6.เท้ายายม่อมจากตรัง	291.25 b	188.38
F-test	**	ns
CV (%)	18	13

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละทรีตเม้นต์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการในเท้ายายม่อม

การวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของเท้ายายม่อมสามารถทำได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบหลักในอาหาร ซึ่งได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน ความชื้น เถ้า และใยอาหารทั้งหมด จากแป้งเท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัด การทดสอบใช้วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารของ AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International 2019 โดยผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบหลักในอาหาร

กรมวิชาการเกษตร

พบว่า คาร์โบไฮเดรต และ โปรตีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตอยู่ระหว่าง 87.48 - 88.67 กรัม/ตัวอย่าง 100 กรัม และโปรตีนมีปริมาณ น้อยกว่า 0.1 กรัม/ตัวอย่าง 100 กรัม สำหรับปริมาณไขมัน ความชื้น เถ้า และใยอาหารทั้งหมดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ปริมาณไขมันของแป้งเท้ายายม่อม จาก จ.จันทบุรี มีปริมาณไขมันสูงสุด (0.68 กรัม/ตัวอย่าง 100 กรัม) ปริมาณเถ้าของแป้งเท้ายายม่อมจาก จ. ฉะเชิงเทรา มีปริมาณสูงสุด (0.11 กรัม/ตัวอย่าง 100 กรัม) ปริมาณใยอาหารทั้งหมดของแป้งเท้ายายม่อมจาก จ. อุบลราชธานี มีปริมาณสูงสุด (1.60 กรัม/ตัวอย่าง 100 กรัม) ดังแสดงในตารางที่ 2.5.3

ตารางที่ 2.5.3 ปริมาณของสารประกอบหลักในอาหารของตัวอย่างจากเท้ายายม่อมต่อปริมาณสารตัวอย่าง 100 กรัม

กรรมวิธี	ปริมาณของสารประกอบ (กรัม/ตัวอย่าง 100 กรัม)					
	คาร์โบไฮเดรต	ไขมัน	โปรตีน	ความชื้น	เถ้า	ใยอาหารทั้งหมด
1.เท้ายายม่อมจากจันทบุรี	87.48	0.68a	<0.10	11.47b	0.088bc	1.09ab
2.เท้ายายม่อมจากกาฬสินธุ์	87.48	0.61ab	<0.10	11.47b	0.107a	0.25c
3.เท้ายายม่อมจากฉะเชิงเทรา	87.52	0.25b	<0.10	13.26a	0.110a	0.64bc
4.เท้ายายม่อมจากอุบลราชธานี	88.46	0.43b	<0.10	11.18b	0.073c	1.60a
5.เท้ายายม่อมจากพังงา	88.23	0.43b	<0.10	11.57b	0.085c	0.30c
6.เท้ายายม่อมจากตรัง	88.67	0.01c	<0.10	11.42b	0.103ab	0.36c
F-test	ns	**	ns	**	**	**
CV (%)	1	17	0	7	0	63

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละทรีตเม้นต์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 6 การเพิ่มปริมาณสารสำคัญในกลุ่ม terpenoid จากต้นจิงจูฉ่ายโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

6.1. ฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของข้อและยอดจิงจูฉ่าย และเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนข้อจิงจูฉ่ายโดยใช้ Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 และ 20 นาที พบว่าหลังจากผ่านไป 2 สัปดาห์ชิ้นส่วนข้อจิงจูฉ่ายที่รอดชีวิตโดยปราศจากเชื้อจำนวน 15 และ 6 ชิ้น ตามลำดับ จากชิ้นส่วนข้อเริ่มต้นจำนวนอย่างละ 50 ชิ้น คิดเป็น 7.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และลักษณะข้อที่รอดชีวิตมีลักษณะเป็นสีเขียว บางข้อเริ่มมียอดอ่อนเกิดขึ้น สำหรับชิ้นส่วนยอดจิงจูฉ่ายที่รอดชีวิตโดยปราศจากเชื้อจำนวน 10 และ 3 ชิ้น ตามลำดับ จากชิ้นส่วนยอดเริ่มต้นจำนวนอย่างละ 50 ชิ้น คิดเป็น 5 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และลักษณะยอดที่รอดชีวิตมีลักษณะที่สมบูรณ์สีเขียว และเริ่มมีใบอ่อนเกิดขึ้นจำนวน 2-3 ใบ หลังจากนั้นนำข้อและยอดที่รอดชีวิตนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนจนอายุครบ 8 สัปดาห์ พบว่ามีการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์มีสีเขียวและเริ่มมีรากเกิดขึ้นเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงได้เพียง 4 สัปดาห์ และเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงจนอายุครบ 8 สัปดาห์ มีการแตกยอดใหม่เกิดขึ้นรวมทั้งมีปริมาณรากเพิ่มขึ้นจำนวนมาก จึงนำไปตัดแยกยอดแล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน สำหรับเพิ่มปริมาณต้นจิงจูฉ่ายให้เพียงพอสำหรับนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

6.2. ศึกษาผลของ 6-Benzylaminopurine (BA) ที่ชักนำให้เกิดยอด

การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณยอดให้ได้จำนวนมาก โดยการชักนำให้เกิดยอดกลุ่ม (Multiple shoots) โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนข้อ และ ยอดจิงจูฉ่าย เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้นต่าง 0, 1, 2, 4, 6 และ 12 mg/l เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าหลังจากได้ทำการยืนยันประสิทธิภาพของสูตรอาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่ได้ในการเพาะเลี้ยงทั้งสองครั้ง ให้ผลไปในทางเดียวกัน โดยชิ้นส่วนยอดและข้อเริ่มเกิดยอดใหม่ขนาดเล็กเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ และยอดพัฒนาจนเห็นได้ชัดเจนในสัปดาห์ที่ 4 โดยชิ้นส่วนของข้อจิงจูฉ่ายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 12. 2 ยอด ต่อ 1 ข้อ และสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่จากชิ้นส่วนข้อเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 12 mg/l จำนวนการเกิดยอดใหม่เฉลี่ย 0.3 ยอด สำหรับยอดจิงจูฉ่ายให้ผลไปในทางเดียวกันคือ ยอดจิงจูฉ่ายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่เฉลี่ย 11.6 ยอด ต่อ 1 ยอด และสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่จากยอดเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 12 mg/l จำนวนการเกิดยอดใหม่เฉลี่ย 0 ยอด หรือมีการตายหลังจากที่นำชิ้นส่วนยอดไปเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงทำให้ไม่มียอดใหม่เกิดขึ้น (ตารางที่ 2.6.1) สำหรับยอดเกิดใหม่ที่ได้จากการชักนำโดยใช้ BA ความเข้มข้น 1, 2 ละ 4 mg/l จะมีลักษณะยอดสั้นและจำนวนยอดน้อย แต่หลังจากตัดยอดแล้วย้ายลงอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA พบว่ามีการเจริญเติบโตและออกรากได้ปกติ ไม่ต่างกับยอดที่ได้จากการชักนำโดยใช้ BA ความเข้มข้น 0 mg/l

ตารางที่ 2.6.1 จำนวนการเกิดยอดใหม่ที่ชักนำจากชิ้นส่วนข้อ และยอดจิงจูฉ่าย เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0 1 2 4 6 และ 12 mg/l ในสภาพแสง 55 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ	**จำนวนยอดเกิดใหม่ที่ได้จาก**	
BA (mg/l)	**ชิ้นส่วนข้อ**	**ชิ้นส่วนยอด**
0	12.2[a]	11.6[a]
1	5.3[b]	4.5[b]
2	2.8[c]	2.0[c]
4	2.7[cd]	1.5[cd]
6	1.7[d]	1.0[d]
12	0.3[e]	0[e]
C.V. (%)	32.26	33.79
Pr > F	<.0001	<.0001

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าด้วยวิธี DMRT

6.3. การนำต้นจิงจูฉ่ายออกปลูกในโรงเรือน

การย้ายต้นจิงจูฉ่ายที่มีลักษณะต้นและรากสมบูรณ์ โดยนำต้นจิงจูฉ่ายมาปรับสภาพที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาที่แตกต่างกัน คือ 3, 5, 7 และ 10 วัน จึงนำออกปลูกในโรงเรือน พบว่า ต้นจิงจูฉ่ายมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100% หลังออกปลูกนาน 1 เดือนในทุกระยะเวลาการปรับสภาพ แต่ในช่วง 1-2 เดือนแรกต้นจิงจูฉ่ายมีอาการชะงักการเจริญเติบโตเนื่องจากยังปรับตัวกับสภาพอากาศได้ไม่ดีเท่าที่ควร หลังจากมีอายุครบ 6 เดือน มีการแตกกอเพิ่มมากขึ้น สามารถตั้งตัวได้ดีใบมีขนาดใหญ่ ต้นแข็งแรงและสมบูรณ์

กรมวิชาการเกษตร

6.4. ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาในการได้รับ salicylic acid ต่อการเพิ่มปริมาณสาร total terpenoids และ สาร ascorbic acid ในต้นจิงจูฉ่าย

ได้นำต้นจิงจูฉ่ายที่มีอายุครบ 24 สัปดาห์ มาตัดแยกยอดแล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เพื่อเพิ่มปริมาณให้เพียงพอต่อการนำไปศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสารทุติยภูมิ ในต้นจิงจูฉ่าย หลังจากนั้นเมื่อต้นจิงจูฉ่ายมีอายุครบ 12 สัปดาห์ ซึ่งมีลักษณะต้นและระบบรากสมบูรณ์แข็งแรง มาเลี้ยงในอาหารที่เติมสิ่งกระตุ้นการผลิตสารทุติยภูมิคือ salicylic acid ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันคือ 0, 0.1, 0.5, 1, 3 และ 5 mM (ปัจจัยหลัก) หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1, 3 และ 5 วัน (ปัจจัยรอง) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณสาร total terpenoids โดยใช้สารมาตรฐาน ursolic acid ด้วยเครื่อง Spectrophotometer และวิเคราะห์ปริมาณสาร ascorbic acid ด้วยเครื่อง Ultra High Liquid Chromatograph (UHPLC) โดยใช้สารมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic) โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ

หลังจากนำตัวอย่างต้นจิงจูฉ่ายไปวิเคราะห์ปริมาณสาร total terpenoids โดยใช้สารมาตรฐาน ursolic acid ด้วยเครื่อง Spectrophotometer และวิเคราะห์ปริมาณสาร ascorbic acid โดยใช้สารมาตรฐานวิตามินซี (L-ascorbic) ด้วยเครื่อง Ultra-High Liquid Chromatograph (UHPLC) พบว่าความเข้มข้นของ salicylic acid (ปัจจัยหลัก) และระยะเวลาที่ต้นจิงจูฉ่ายสัมผัส salicylic acid (ปัจจัยรอง) ไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณสาร total terpenoids และ ascorbic acid ซึ่งเป็นผลรวมของปริมาณสาร total terpenoids และ ascorbic acid ที่วิเคราะห์ได้ในต้นจิงจูฉ่าย แต่อิทธิพลหลักจากทั้ง 2 ปัจจัยต่างมีผลต่อปริมาณสาร total terpenoids และ ascorbic acid รวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1, 0.5 และ 1 mM สามารถกระตุ้นให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตสาร total terpenoids และสาร ascorbic acid เพิ่มสูงขึ้นกว่าต้นจิงจูฉ่ายที่ไม่ได้รับการกระตุ้น ส่วนความเข้มข้นสุดท้าย 3 และ 5 mM กระตุ้นให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตสาร total terpenoids ต่ำกว่าต้นจิงจูฉ่ายที่ไม่ได้รับการกระตุ้น และกระตุ้นให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตสาร ascorbic acid ใกล้เคียงต้นจิงจูฉ่ายที่ไม่ได้รับการกระตุ้น แต่ salicylic acid ทุกความเข้มข้นสามารถกระตุ้นให้ต้นจิงจูฉ่ายผลิตสารทั้งสองชนิดสูงกว่าต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ

โดยการกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 และ 0.5 mM ทำให้ต้นจิงจูฉ่ายมีการผลิตสาร total terpenoids ในปริมาณ 23.05 และ 22.13 mg/100g หลังจากกระตุ้น 1 วัน และสูงกว่าต้นจิงจูฉ่ายที่ไม่ได้รับการกระตุ้น คือ 20.54 mg/100g แต่หลังจากนั้นการผลิตสาร total terpenoids จะเริ่มลดลง ส่วนการกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 1, 3 และ 5 mM นั้น ทำให้ต้นจิงจูฉ่ายมีการผลิตสาร total terpenoids ในปริมาณที่ต่ำลงหลังจากกระตุ้น 1 วัน และมีปริมาณเพิ่มขึ้น คือ 22.58, 19.47 และ 19.87 mg/100g หลังจากกระตุ้น 3 วัน หลังจากนั้นการผลิตสาร total terpenoids กลับลดต่ำลงมา สำหรับตัวอย่างต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ สามารถผลิตสาร total terpenoids ได้ปริมาณต่ำที่สุดคือ 11.55 mg/100g หลังจากดูในภาพรวมการกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5, 1, 3 และ 5 mM สามารถผลิตสาร total terpenoids ได้น้อยกว่าการกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 mM (23.05 mg/100g คิดเป็น 2 เท่าของต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ) แต่สามารถผลิตสาร total terpenoids ได้สูงกว่าตัวอย่างต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติในทุกความเข้มข้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร

การกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 และ 0.5 mM ทำให้ต้นจิงจูฉ่ายมีการผลิตสาร ascorbic acid ในปริมาณ 6.0 และ 6.6 mg/100g หลังจากกระตุ้น 3 วัน และใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลา 5 วัน และสูงกว่าต้นจิงจูฉ่ายที่ไม่ได้รับการกระตุ้น คือ 4.7 mg/100g ส่วนการกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 1, 3 และ 5 mM นั้น ทำให้ต้นจิงจูฉ่ายมีการผลิตสาร ascorbic acid ในปริมาณที่ต่ำลงหลังจากกระตุ้น 1 วัน และมีปริมาณเพิ่มขึ้น คือ 5.6, 5.2 และ 5.4 mg/100g หลังจากกระตุ้น 3 วัน หลังจากนั้นการผลิตสาร ascorbic acid กลับลดต่ำลงมา ยกเว้นการกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 3 mM มีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากกระตุ้น 5 วัน สำหรับตัวอย่างต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ สามารถผลิตสาร ascorbic acid ได้ปริมาณต่ำที่สุดคือ 4.7 mg/100g หลังจากดูในภาพรวมการกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1, 1, 3 และ 5 mM สามารถผลิตสาร ascorbic acid ได้น้อยกว่าการกระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 mM (6.6 mg/100g คิดเป็น 2.2 เท่าของจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติ) แต่สามารถผลิตสาร ascorbic acid ได้สูงกว่าตัวอย่างต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในธรรมชาติในทุกความเข้มข้น

การทดลองที่ 7 การเพิ่มปริมาณสารสำคัญเคอร์ซิตรินและรูตินจากต้นพลูคาวโดยใช้สารกระตุ้น

การฟอกฆ่าเชื้อสมุนไพรพลูคาวก้านม่วงและพลูคาวใบเขียวสายพันธุ์ไทยด้วยกรรมวิธีต่างๆ พบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อข้อพลูคาวที่เหมาะสมคือการใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยไฮเตอร์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และไฮเตอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ทำให้ได้ข้อพลูคาวก้านม่วงและพลูคาวใบเขียวที่ปลอดเชื้อและสามารถพัฒนาเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุดถึง 95 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2.7.1) นอกจากนี้ การศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสมุนไพรพลูคาวให้เกิดยอดจำนวนมาก พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ได้ยอดจำนวนมากที่สุด (ตารางที่ 2.7.2) และเมื่อต้นพลูคาวมีอายุครบ 12 สัปดาห์ มาเลี้ยงในอาหารที่เติมสิ่งกระตุ้นการผลิตสารทุติยภูมิเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ เคอร์ซิตรินและรูตินด้วย HPLC หลังจากทำการกระตุ้น พบว่า สูตรอาหารที่เติมกรดซาลิไซลิก 0.50 มิลลิโมลาร์ เป็นสูตรอาหารที่ชักนำให้พลูคาวผลิตสาร เคอร์ซิตรินและรูตินสูงที่สุด (ตารางที่ 2.7.3)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.7.1 เปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อของวิธีการฟอกในพลูคาวและจำนวนใบที่พัฒนาจากต้นปลอดเชื้อหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธีการฟอก	การปลอดเชื้อ (%)	จำนวนใบต่อต้น
พลูคาวพันธุ์ก้านม่วง		
ไฮเตอร์ 15% 15 นาที	30	1.10±1.74^{c}
ไฮเตอร์ 15% 15 นาที, 5% 5 นาที	75	2.35±1.42^{b}
แอลกอฮอล์ 95 % 1 นาที, ไฮเตอร์ 15% 15 นาที, 5% 5 นาที	95	3.80±1.01^{a}
แอลกอฮอล์ 95 % 5 นาที, ไฮเตอร์ 15% 15 นาที, 5% 5 นาที	95	1.75±1.29^{b}
พลูคาวพันธุ์ใบเขียว		
ไฮเตอร์ 15% 15 นาที	30	0.75±1.55^{c}
ไฮเตอร์ 15% 15 นาที, 5% 5 นาที	75	2.05±1.57^{b}
แอลกอฮอล์ 95 % 1 นาที, ไฮเตอร์ 15% 15 นาที, 5% 5 นาที	85	3.45±1.54^{a}
แอลกอฮอล์ 95 % 5 นาที, ไฮเตอร์ 15% 15 นาที, 5% 5 นาที	80	1.80±1.51^{bc}

^{abc} เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละคอลัมน์ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Tukey's test; $p < 0.05$)

ตารางที่ 2.7.2 อิทธิพลของ BA ที่มีต่อการเกิดยอดใหม่ของพลูคาวที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 45 วัน

BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0	1	2	3	4
จำนวนยอดพลูคาวก้านม่วง (ยอด/ต้น)	1.10±0.30^{b}	4.15±0.90^{a}	1.25±0.53^{b}	1.15±0.36^{b}	1.40±0.58^{b}
จำนวนยอดพลูคาวใบเขียว(ยอด/ต้น)	1.15±0.36^{b}	4.05±0.74^{a}	1.20±0.40^{b}	1.25±0.43^{b}	1.25±0.54^{b}

^{ab} เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละแถวตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Tukey's test; $p < 0.05$)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 2.7.3 อิทธิพลของสารกระตุ้นที่มีต่อการผลิตสารเคอร์ซิตรินและรูตินของพลูคาวก้านม่วงและใบเขียวที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมสารกระตุ้นความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง

กรรมวิธีการกระตุ้น	เคอร์ซิตริน (มิลลิกรัม/กรัม)	รูติน (มิลลิกรัม/กรัม)
พลูคาวพันธุ์ก้านม่วง		
สูตรอาหาร MS	2.16±0.56^{c}	0.55±0.05^{a}
สูตรอาหาร MS + กรดซาลิไซลิก 0.25 mM	5.86±0.64^{ab}	0.55±0.04^{a}
สูตรอาหาร MS + กรดซาลิไซลิก 0.50 mM	6.46±1.08^{a}	0.59±0.08^{a}
สูตรอาหาร MS + เมทิลจัสโมเนต 0.05 mM	5.61±0.14^{ab}	0.57±0.04^{a}
สูตรอาหาร MS + เมทิลจัสโมเนต 0.10 mM	4.52±0.45^{b}	0.41±0.04^{b}
พลูคาวพันธุ์ใบเขียว		
สูตรอาหาร MS	nd*	1.31±0.12^{b}
สูตรอาหาร MS + กรดซาลิไซลิก 0.25 mM	nd	2.14±0.15^{a}
สูตรอาหาร MS + กรดซาลิไซลิก 0.50 mM	nd	2.14±0.30^{a}
สูตรอาหาร MS + เมทิลจัสโมเนต 0.05 mM	nd	2.06±0.50^{ab}
สูตรอาหาร MS + เมทิลจัสโมเนต 0.10 mM	nd	1.45±0.13^{ab}

^{ab} เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละคอลัมน์ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Tukey's test; $p<0.05$)

*nd = ไม่สามารถตรวจพบสารได้

3.2 ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output)

(Output)ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
1. องค์ความรู้	**1**	เรื่อง	1. องค์ความรู้	**6**	เรื่อง	1.1การพัฒนาคุณภาพสมุนไพรพลูคาวเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในตลาดโลก (หนังสือ) (ภาคผนวกที่ 1)	การใช้กรดซาลิไซลิกเพิ่มปริมาณสารเคอร์ซิติน และรูตินในพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อ และผลิตต้นพลูคาวที่มีคุณภาพจำนวนมากภายในระยะเวลาอันสั้น โดยเคอร์ซิตินมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ และรูตินมีฤทธิ์ในการป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก ต้านการเกิดอนุมูลอิสระและช่วยให้ร่างกายผลิตคอลลาเจน
						1.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจิงจูฉ่าย (*Artemisia lactiflora*) (แผ่นพับ) (ภาคผนวกที่ 2)	การขยายพันธุ์จิงจูฉ่ายโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้โดยมีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลความดันเลือดในร่างกาย และช่วยขับลมในกระเพาะอาหารได้ดี ลำต้นสดมีปริมาณโซเดียมต่ำเหมาะสมผู้เป็นโรคไต
						1.3 เท้ายายม่อมพืชหัวให้แป้ง (แผ่นพับ) (ภาคผนวกที่ 3)	เท้ายายม่อมเป็นพืชล้มลุก ฤดูเดียวลงหัวใต้ดินให้แป้ง พืชทางเลือกของเกษตรกร เพื่อเพิ่มรายได้

กรมวิชาการเกษตร

(Output)ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
						1.4 สมุนไพรหนอนตายหยาก (แผ่นพับ) (ภาคผนวกที่ 4)	หนอนตายหยากเป็นพืชสมุนไพรอยู่ในตำรับยาไทย มีอายุหลายฤดู ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด การแบ่งเหง้า และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
						1.5 สมุนไพรพลูคาว และการผลิตต้นกล้าปลอดโรค (หนังสือกสิกร ปีที่ 95 ฉบับที่ 2 / 2565 ธันวาคม 2564 – มกราคม 2565 : หน้า 32-36) (ภาคผนวกที่ 5)	การผลิตพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อ และสามารถเพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์ เพื่อผลิตต้นที่มีคุณภาพจำนวนมากภายในระยะเวลาอันสั้นได้ พลูคาวมีปริมาณสารเคอร์ซิตินมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ และสารรูตินมีฤทธิ์ในการป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก ต้านการเกิดอนุมูลอิสระและช่วยให้ร่างกายผลิตคอลลาเจน
						1.6 ปังมากเทคโนโลยีผลิตพลูคาวปลอดโรคพร้อมสารสำคัญเพิ่มขึ้นถึง 3 เท่า (https://www.youtube.com/watch?v=U-erZ-RJkno)	การผลิตพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อผลิตต้นที่มีคุณภาพจำนวนมากภายในระยะเวลาอันสั้นได้ พลูคาวมีปริมาณสารเคอร์ซิตินมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ และสารรูตินมีฤทธิ์ในการป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก ต้านการเกิดอนุมูลอิสระและช่วยให้ร่างกายผลิตคอลลาเจน
2. การประชุมเผยแพร่ผลงาน/สัมมนา ระดับชาติ	4	เรื่อง	2.1 การนำเสนอโปสเตอร์ในการประชุมวิชาการระดับชาติ (poster)	2	เรื่อง	2.1.1 การศึกษาการเก็บรักษากวาวเครือขาวเพื่อการอนุรักษ์ (ภาคผนวกที่ 5)	การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อได้ สนับสนุนความหลากหลายเชื้อพันธุกรรมพืชของประเทศไทย
						2.1.2 การเพิ่มปริมาณสารสำคัญเคอร์ซิตรินและรูตินจากต้นพลูคาวโดยใช้สารกระตุ้น (ภาคผนวกที่ 6)	-ได้พลูคาวที่มีปริมาณสารเคอร์ซิตินมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ และสารรูตินมีฤทธิ์ในการป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก ต้านการเกิดอนุมูลอิสระและช่วยให้ร่างกายผลิตคอลลาเจน -ได้วิธีการกระตุ้นสารสำคัญในพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อได้
3. การประชุมเผยแพร่ผลงาน/สัมมนา ระดับนานาชาติ	-	เรื่อง	3.1 การนำเสนอโปสเตอร์ในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ (poster)	2	เรื่อง	3.1. Conservation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. for Utilization (การประชุมนานาชาติด้านความหลากหลายทางชีวภาพแห่งชาติ"International Conference on Biodiversity (IBD2019)" ในวันที่	-วิธีการเพาะเลี้ยงเท้ายายม่อมในสภาพปลอดเชื้อและในโรงเรือน -การเก็บรักษาเมล็ดเท้ายายม่อมในอุณหภูมิ 4^{o}Cได้ -การแปรรูปทำแป้งเท้ายายม่อมเพื่อการใช้ประโยชน์ซึ่งเป็นส่วนประกอบในอาหารที่ปรุงสุกไม่คืนตัวในเวลาอันสั้น และขนมไทย ทำให้มีความมันวาว

กรมวิชาการเกษตร

(Output)ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
						22-24 พฤษภาคม 2562) (ภาคผนวกที่ 7)	
						3.2. Chloroplast DNA Barcode for Genetic Relationship of *Tacca leontopetaloides* (การประชุมนานาชาติด้านความหลากหลายทางชีวภาพแห่งชาติ"International Conference on Biodiversity (IBD2019)" ในวันที่ 22-24 พฤษภาคม 2562) (ภาคผนวกที่ 8)	Chloroplast DNA barcode สามารถช่วยในการจำแนกจัดกลุ่มเท้ายายม่อมจากจ.จันทบุรีกับแหล่งต่างๆ ในประเทศไทยได้
4. ผลงานตีพิมพ์ 4.1ระดับชาติ	-	เรื่อง	4.1 บทความในวารสารระดับชาติ (Paper)	2	เรื่อง	4.1 การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ ในงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 13 (CRDC 13), 13 พฤษภาคม 2564, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย และได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 52: 1 (พิเศษ) : 345-348. (ภาคผนวกที่ 9)	-ได้พลูคาวที่มีปริมาณสารเคอร์ซิตินมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ และสารรูตินมีฤทธิ์ในการป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก ต้านการเกิดอนุมูลอิสระและช่วยให้ร่างกายผลิตคอลลาเจน -ได้วิธีการกระตุ้นสารสำคัญในพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อได้
						4.2 การขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณสารเทอร์พีนอยด์รวมในจิงจูฉ่ายด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (นำเสนอปากเปล่า) ในการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 18 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม เมื่อวันที่ 8-9 ธันวาคม 2564 และได้รับการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 ประจำเดือน	-ได้จิงจูฉ่ายที่มีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลความดันเลือดในร่างกายและช่วยขับลมในกระเพาะอาหารได้ดี ลำต้นสดมีปริมาณโซเดียมต่ำเหมาะสมผู้เป็นโรคไต สามารถการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ และการใช้ salicylic acid เพิ่มปริมาณสาร total terpenoid และ ascorbic acid ได้

กรมวิชาการเกษตร

(Output)ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
						มกราคม – เมษายน 2565 (ภาคผนวกที่ 10)	
5. หนังสือ	-	เรื่อง	บทความในวารสารกสิกร	1	เรื่อง	5.1. สมุนไพรพลูคาวและการผลิตต้นกล้าปลอดโรค (หนังสือกสิกร ปีที่ 95 ฉบับที่ 2 / 2565 ธันวาคม 2564 – มกราคม 2565 : หน้า 32-36) (ภาคผนวกที่ 11)	ได้เทคนิคการผลิตต้นกล้าปลอดโรคของพลูคาวที่มีปริมาณสารเคอร์ซิตินมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ และสารรูตินมีฤทธิ์ในการป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก ต้านการเกิดอนุมูลอิสระและช่วยให้ร่างกายผลิตคอลลาเจน

3.3 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome) (ถ้ามี)

ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลลัพธ์
โครงการวิจัยนี้เกิดประโยชน์กับนักวิชาการ นักปรับปรุงพันธุ์ เกษตรกร เอกชน ที่จะได้นำองค์ความรู้นี้ไปใช้ต่อยอดงานวิจัย และ/หรือ การประยุกต์ใช้ในเชิงอุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์ และเชิงพาณิชย์ 1. ข้อมูลระยะเวลาเก็บเกี่ยวหัวกวาวเครือขาวที่เหมาะสมต่อปริมาณสารพิวรารินี 2. การนำวิธีการ NIR ไปปรับใช้วัดระดับสารสำคัญกับเมล็ดพันธุ์ที่ถูกจัดเก็บในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชกรมวิชาการเกษตร 3. ข้อมูลพฤกษเคมีของถั่วสกุล phaseolus ซึ่งมีคุณประโยชน์ในด้านอาหารสุขภาพ 4. ข้อมูลปริมาณสารทุติยภูมิจากสารสกัดที่ได้จากหนอนตายหยาก ในด้านการแพทย์แผนไทย และสารกำจัดแมลง 5. วิธีการผลิตต้นพลูคาวปลอดเชื้อ/สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับกระตุ้นให้พลูคาวเจริญเติบโตเกิดยอดจำนวนมาก/สูตรอาหารสำหรับชักนำให้สมุนไพรพลูคาวผลิตสารเคอร์ซิตินและรูติเพิ่มขึ้น	2564

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

3.4 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact) (ถ้ามี)

ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลกระทบ
ด้านวิชาการ : สนับสนุนองค์ความรู้ความมั่นคงทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศ เป็นแหล่งวัตถุดิบที่จะนำมาการใช้ประโยชน์ในพืชอาหาร เภสัชกรรม และสารกำจัดศัตรูพืช เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน ได้แก่ 1. ได้เชื้อพันธุกรรมพืชที่อนุรักษ์ในธนาคารเชื้อพันธุกรรมพืชกรมวิชาการเกษตร สามารถนำมาการใช้ประโยชน์เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม 2. ได้ฐานข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ด้านสารสำคัญของพืช เพื่อการพัฒนา และปรับปรุงพันธุ์ ต่อยอดงานวิจัยในด้านต่างๆ สร้างมูลค่าเพิ่มให้กับชุมชน **ด้านนโยบาย** ได้ข้อมูลสนับสนุนด้านความหลากหลายทางชีวภาพและการอนุรักษ์นำไปใช้ประโยชน์ ตามอนุสัญญาว่าด้วยความหลากหลายทางชีวภาพ (Conservation on Biological Diversity) ซึ่งเป็นปฏิญญาสากลของโลก มีเป้าหมาย 3 เป้าหมาย คือ การอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพ การใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน และการแบ่งปันการใช้ประโยชน์อย่างเท่าเทียมกัน และสอดคล้องกับนโยบายประเทศ นโยบายกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และนโยบายตามยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปี (พ.ศ. 2561-2580) การวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศ **ด้านเศรษฐกิจ : -** **ด้านสังคม : -**	2569

กรมวิชาการเกษตร

ด้านสิ่งแวดล้อม : -	

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

3.5 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีการ/กระบวนการผลักดันงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (โปรดแนบหลักฐานเชิงประจักษ์การนำผลงานไปใช้ประโยชน์)

1. เผยแพร่องค์ความรู้ให้แก่สาธารณะชนผ่านช่องทางสื่อต่างๆ ได้แก่https://www.youtube.com/watch?v=U-erZ-RJkno

และทางช่องทางอื่นๆ ได้แก่

www.prachachat.net/economy/news-836917

www.naewna.com/likesara/627060

www.thailandplus.tv/archives/455867

https://tigernewsreport.com/?p=36941

www.ryt9.com/s/prg/3287338

www.newswit.com/th/LSj9

www.thaipr.net/general/3141811

www.thailand4.com/th/LSj9

www.infoquest.co.th/2022/162180

https://liff.line.me/1454988218-NjbXbq18/v2/article/nX6JLZg?utm_source=lineshare

www.asiapostnews.com/07/01/2022/76958

www.bluechipthai.com/news-เกษตรฯ_ผลิตพลูคาวสารสำคัญเพิ่มขึ้น_3_เท่า_ปลอดโรค_ไร้สารพิษสำเร็จ-3231373836

2. อบรมและถ่ายทอดวิธีการการผลิตต้นสมุนไพรพลูคาวปลอดโรคและต้นแบบผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรพลูคาวให้กับเจ้าหน้าที่ของรัฐ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย หรือเกษตรกรผู้สนใจ มีรายละเอียดการอบรมดังนี้

1. ภาคบรรยาย
   - หลักการผลิตต้นสมุนไพรพลูคาวปลอดโรคด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
   - วิธีการอนุบาลสมุนไพรพลูคาวก่อนการย้ายไปปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกห้องปฏิบัติการ
   - วิธีการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรพลูคาว
2. ภาคปฏิบัติการ
   - ฝึกปฏิบัติการผลิตต้นสมุนไพรพลูคาวปลอดโรค

กรมวิชาการเกษตร

- ฝึกปฏิบัติการทำผลิตภัณฑ์นูกัตสมุนไพรพลูคาว

3. ประเมินผลความพึงพอใจและการยอมรับต้นสมุนไพรพลูคาวปลอดโรคและต้นแบบผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรพลูคาว และให้คำปรึกษาต่อเนื่องหลังการถ่ายทอดเทคโนโลยีให้กับเจ้าหน้าที่รัฐศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย หรือเกษตรกรผู้สนใจ

เทคโนโลยีการผลิตสมุนไพรพลูคาวปลอดโรค

1. <u>การฟอกฆ่าเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลูคาว</u>

คัดเลือกต้นพลูคาวที่มีความสมบูรณ์ปราศจากโรคและศัตรูพืชที่มีอายุ 6 เดือน จากนั้นทำการตัดชิ้นส่วนบริเวณปลายยอดและข้อออกมาจากกระถางเพาะเลี้ยง แล้วนำชิ้นส่วนพืชที่ตัดได้มาล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ตัดใบส่วนเกินออก แล้วนำมาล้างทำความสะอาดเอาเศษดินที่ติดมาออกด้วยน้ำยาล้างจาน 1 ครั้ง และล้างน้ำไหลผ่าน เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชมาตัดเป็นท่อนสั้นๆ ทำความสะอาดชิ้นส่วนข้อและยอดพลูคาว โดยฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อหรือไฮเตอร์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และไฮเตอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำชิ้นส่วนไปล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ตายออกแล้วตัดชิ้นส่วนข้อให้ได้ความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

2. <u>การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากด้วย BA</u>

นำต้นพลูคาวที่อยู่ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS อายุ 2 เดือน มาตัดใบและปลายยอดออกให้หมดแล้วตัดแยกเป็นข้อเดี่ยวๆ จากนั้นนำข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 2.5 กรัมต่อลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วัน

3. <u>การอนุบาลสมุนไพรพลูคาวก่อนการเพาะเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์</u>

ก่อนการเลี้ยงในระบบไฮโดรโปนิกส์นั้น พืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องได้รับการอนุบาลก่อนที่จะย้ายไปปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกห้องปฏิบัติการ เนื่องจากต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะมีการสร้างคิวตินที่ทำหน้าที่ควบคุมการสูญเสียน้ำจากใบน้อย และใบมีความสามารถในการสังเคราะห์แสงต่ำ หากไม่มีการอนุบาลก่อนจะทำให้พืชมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำ โดยการอนุบาลพืชสามารถทำได้โดยนำขวดที่เพาะเลี้ยงพลูคาวที่มีรากสมบูรณ์มาปรับสภาพ โดยทำการคลายฝาเกลียวแล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้องในบริเวณที่มีแสงเป็นระยะเวลา 3–7 วัน จากนั้นนำต้นอ่อนพลูคาวออกจากขวดอย่างระมัดระวัง อย่าให้ต้นและรากช้ำ โดยอาจใช้ปากคีบดึงต้นอ่อนออกจากขวด ทำการล้างวุ้นอาหารที่ติดอยู่บริเวณรากออกให้หมดด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 2 ครั้ง เนื่องจากหากมีวุ้นอาหารตกค้างอยู่บริเวณรากอาจจะเป็นตัวชักนำให้เกิดการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นย้ายต้นกล้าไปปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ ทำการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์เพื่อลดการสูญเสียน้ำโดยอนุบาลในกระถางที่คลุมด้วยพลาสติก เป็นเวลา 2–3 วัน นอกจากนี้ทำการควบคุมความเข้มแสง โดยอาจใช้ตาข่ายพรางแสงที่มีเปอร์เซ็นต์การพรางแสงสูงในช่วง 3–4 วันแรก เพื่อลดการสังเคราะห์แสง และลดการเปิดปิดของปากใบที่ทำให้เกิดการคายน้ำในต้นกล้า จากนั้นจึงลดเปอร์เซ็นต์การพรางแสงลงตามความเหมาะสมเพื่อให้ต้นอ่อนพลูคาวได้รับแสงมากขึ้นหลังจากการปรับสภาพพืชเป็นระยะเวลา 1–3 สัปดาห์

กลุ่มเป้าหมาย

เจ้าหน้าที่ของรัฐ ได้แก่ เจ้าหน้าที่ผลิตสมุนไพรพลูคาวหรือเจ้าหน้าที่เกี่ยวข้องของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย หรือเกษตรกรผู้สนใจ อย่างน้อย 10 คน

ด้านนโยบาย : กรมวิชาการเกษตร

อย่างไร: องค์ความรู้ด้านการผลิต ข้อมูลด้านสารสำคัญในตัวพืชสมุนไพร (กวาวเครือขาว ถั่วเหลือง ถั่วสกุล phaseolus หนอนตายหยาก เท้ายายม่อม จิงจูฉ่าย และพูลคาว) และการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในธนาคารเชื้อพันธุพืช กรมวิชาการเกษตร และการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ

ด้านสังคม ด้านสังคม โดยใคร: ประชาชน และเกษตรกร

อย่างไร: เสริมสุขภาพร่างกายที่เข็งแรง และสร้างรายได้ให้เกษตรกรทำให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

ด้านเศรษฐกิจ โดยใคร: ผู้ประกอบการ และเกษตรผู้สนใจในการผลิตวัตถุดิบพืชสมุนไพร

อย่างไร: ด้วยข้อมูลเชิงวิชาการของหน่วยงานราชการเป็นสิ่งบ่งชี้ถึงคุณสมบัติของสมุนไพรที่สามารถต่อยอดมีมูลค่าเพิ่ม (เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่) ซึ่งปัจจุบันสารสำคัญในพืชสมุนไพรนั้นเข้ามามีส่วนแบ่งทางการตลาดด้านอาหารเสริมหรือตัวยาในการเสริมภูมิคุ้มกันและเพื่อสุขภาพร่างกายที่ดี

กรมวิชาการเกษตร

ด้านวิชาการ โดยใคร: การนำเสนอบทความทางวิชาการ นำเสนอโปสเตอร์ ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ เพื่อเผยแพร่ความรู้ด้านสมุนไพร ทั้งในด้านการผลิต สารสำคัญในตัวพืชสมุนไพร (กวาวเครือขาว ถั่วเหลือง ถั่วสกุล phaseolus หนอนตายหยาก เท้ายายม่อม จิงจูฉ่าย และพูลคาว) และการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรม ให้แก่ เกษตรกร ผู้ประกอบการอุตสาหกรรม นักวิชาการ/นักวิจัย นิสิต/นักศึกษา หน่วยงานอนุรักษ์สมุนไพร มหาวิทยาลัยต่างๆ กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร ประชาชนผู้ที่สนใจทั่วไป

1. วรารัตน์ ศรีประพัฒน์, ประกาย อ่อนวิมล, สุพินญา บุญมานพ, ภุมรินทร์ วนิชชนานันท์, มัลลิกา แก้ววิเศษ และ ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์. 2564. การพัฒนาคุณภาพสมุนไพรพลูคาวเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในตลาดโลก. ห้างหุ้นส่วนจำกัด พรี-วัน, กรุงเทพ, ประเทศไทย.

อย่างไร : เพื่อเป็นเอกสารอ้างอิงในหนังสือ เรื่องการพัฒนาคุณภาพสมุนไพรพลูคาวเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในตลาดโลก

* คำจำกัดความการนำใช้ประโยชน์ในแต่ละด้าน

1. **ด้านนโยบายและสาธารณะ** การนำความรู้จากงานวิจัยไปใช้ในกระบวนการกำหนดนโยบาย อาจเป็นนโยบายระดับประเทศ ระดับภูมิภาค ระดับจังหวัด ระดับท้องถิ่นการใช้ประโยชน์ด้านนโยบายจะรวมทั้งการนำองค์ความรู้ไปสังเคราะห์เป็นนโยบายหรือทางเลือกเชิงนโยบาย (Policy options) แล้วนำนโยบายนั้นไปสู่ผู้ใช้ประโยชน์ในวงกว้างเพื่อประโยชน์ของสังคม และประชาชนทั่วไป เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตของประชาชน สร้างสังคมคุณภาพ และส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม
2. **ด้านพาณิชย์/เศรษฐกิจ** เป็นผลงานวิจัยที่เน้นสร้างนวัตกรรม เทคโนโลยี ผลิตภัณฑ์ใหม่ หรือการพัฒนาจากสิ่งที่มีอยู่เดิม โดยเป็นการนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเชิงพาณิชย์หรือลดการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศ หรือนำไปสู่การพัฒนารูปแบบธุรกิจใหม่ โดยมีเป้าหมายเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม เพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการผลิตและบริการ
3. **ด้านสังคมและชุมชน** การนำกระบวนการ วิธีการ องค์ความรู้ การเปลี่ยนแปลงการเสริมพลัง อันเป็นผลกระทบ ที่เกิดจากการวิจัยและพัฒนาชุมชน ท้องถิ่นพื้นที่ ไปใช้ให้เกิดประโยชน์การขยายผลต่อชุมชน ท้องถิ่น หรือรวมถึงสังคมอื่น
4. **ด้านวิชาการ** เป็นผลงานตีพิมพ์ทางวิชาการ การนำองค์ความรู้จากผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ ระดับชาติหนังสือ ตำรา บทเรียน ไปเป็นประโยชน์ด้านวิชาการ การเรียนรู้ การเรียนการสอนในวงนักวิชาการและผู้สนใจด้านวิชาการ รวมถึงการนำผลงานวิจัยไปวิจัยต่อยอดสื่อสาธารณะ การเผยแพร่ความรู้จากผลงานวิจัยที่ได้ต่อสาธารณะ ผ่านทางหนังสือพิมพ์ / วารสาร / โทรทัศน์ / วิทยุ / คู่มือ / แผ่นพับ การฝึกอบรม และสื่อสังคมออนไลน์ต่าง ๆ เป็นต้น

บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผล

1. การเก็บเกี่ยวกวาวเครือขาว ที่อายุ 9 เดือนหลังปลูก มีปริมาณของ puerain daidzein และgenistein สูง คือ 80.66, 24.15 และ 0.26 มก./ ตัวอย่าง 100 กรัมตามลำดับ และมีโอกาสเป็นไปได้ว่า ระยะเวลา และช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยวมีผลต่อปริมาณสารสำคัญ ควรมีการซึ่งศึกษาในต่อเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการปลูกเพื่อในเชิงการค้า ทั้งนี้หากระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่สั้น และมีปริมาณสารสำคัญที่สูงกว่าระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่ยาว ทำให้มีผลต่อผลผลิต รายได้ และใช้ประกอบการพิจารณาในการลงทุนผลิตกวาวเครือขาวในเชิงธุรกิจต่อไปในอนาคต

2. สามารถใช้สมการที่ได้ในการประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวนทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ Daidzin Daidzein Glycitin Glycitein Genistin Genistein และ Total isoflavone ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้ ซึ่งสามารถนำเอาวิธีการนี้ไปประยุกต์ใช้กับการประเมินปริมาณสารในเมล็ดพันธุ์ชนิดอื่นๆได้ อีกทั้งเป็นข้อมูลในฐานข้อมูลไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร สำหรับการใช้ประโยชน์ของนักปรับปรุงพันธุ์พืช

3. ได้ข้อมูลการจากการประเมินลักษณะประจำพันธุ์ถั่วสกุล phaseolus และพันธุ์ตรวจสอบ จำนวนทั้งหมด 17 ตัวอย่างพันธุ์ เพื่อเก็บเป็นฐานข้อมูลของธนาคารเชื้อพันธุ์พืชสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต และสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลของนักปรับปรุงพันธุ์ในการคัดเลือกพันธุ์นำไปใช้ในเชิงการค้าเป็นการเพิ่มมูลค่าในตัวผลิตผลทางการเกษตร สร้างรายเสริมให้กับเกษตรกรผู้ปลูก ซึ่งลักษณะประจำพันธุ์ได้แก่ สีโคน สีดอก สีกลีบเลี้ยง

กรมวิชาการเกษตร

ลักษณะการเจริญ รูปแบบการเจริญ ความยาวก้านใบ ความยาวก้านใบย่อย ขนใบที่ใบ การแตกกิ่ง ความนาแน่นทรงพุ่ม ลักษณะการแตกกิ่ง การเรียงตัวของกิ่ง เป็นต้น

การวิเคราะห์หาปริมาณพฤกษเคมี จากการทดลองพบว่า สารสกัดที่ได้จากถั่วสกุล Phaseolus สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคอ้วน (เอนไซม์ไลเปส) และเบาหวาน (เอนไซม์แอลฟ่า-อะไมเลส เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส และเอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4) หากสามารถนำสารสกัดที่ได้จากถั่วสกุล phaseolus มาใช้บริโภคแทนสารที่ได้จากการสังเคราะห์เพื่อป้องกันการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง ซึ่งน่าจะเป็นทางเลือกที่ดี มีความปลอดภัย ไม่มีผลข้างเคียง อีกทั้งยังช่วยให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นจากการปลูกพืชเป็นการเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตร

4. หนอนตากหยาก มีสารทุติยภูมิที่สำคัญ ซึ่งสามารถนำไปสกัดทำเป็นยารักษาโรค และสารกำจัดแมลงได้ รากของหนอนตายหยาก *S. rupestris* Inthachub ให้ปริมาณสาร stemocurtisine สูงที่สุด (1.68% w/w) สาร stemofoline สามารถตรวจพบได้ในรากของหนอนตายหยาก 2 ชนิด คือ *S. curtisii* Hook. f. และ *S. collinsiae* Graib. โดยรากหนอนตายหยาก *S. collinsiae* Graib. ให้ปริมาณสาร stemofoline สูงที่สุด (1.65% w/w) หนอนตายหยาก *S. curtisii* Hook. f. ที่ได้จาก จ.ชุมพร และ จ.สตูล ตรวจพบสาร stemocurtisine และ stemofoline ได้ทั้งสองชนิด ในขณะที่หนอนตายหยาก *S. curtisii* Hook. f. ที่ได้จาก จ. กระบี่ ตรวจพบเพียงสาร stemocurtisine เพียงอย่างเดียว จึงควรมีการศึกษาต่อยอดเพื่อพิสูจน์และเก็บข้อมูลประกอบการพิจารณาการนำรากหนอนตายหยากมาสกัดสารทุติยภูมิเป้าหมายได้เหมาะสมมากยิ่งขึ้น การเพาะเลี้ยง *S. tuberosa* Lour. ในสภาพปลอดเชื้อสามารถเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยได้ดีบนอาหารสูตร MS+6mg/l BA และ MS+8mg/l BA โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น แต่ยังไม่สามารถชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ และ *S. collinsiae* Craib. สามารถเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS+2mg/l TDZ โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น และสามารถเกิดรากได้บนอาหารสูตร MS+3%sucrose+1mg/l NAA+1mg/l thiamine คิดเป็นร้อยละ 71.23

5. เท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัดให้ผลผลิตหัวมีน้ำหนักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เท้ายายม่อมจาก จ.จันทบุรีมีน้ำหนักหัวสูงสุด (416.88 ก.) แต่ไม่แตกต่างกับหัวจาก จ.ฉะเชิงเทรา (411.88 ก.) ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมที่แปรรูปจากจากทั้ง 6 จังหวัดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมจากพันธุ์ จ.อุบลราชธานีสูงสุด (220.37 ก./นน.สด 1 กก.) รองลงมาคือ จ.จันทบุรี (202.37 ก./นน.สด 1 กก.) อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของเท้ายายม่อมปริมาณของสารประกอบหลักในอาหาร พบว่า คาร์โบไฮเดรต และ โปรตีน จากแป้งเท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ปริมาณไขมัน ความชื้น เถ้า และใยอาหารทั้งหมดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

6. อาหารที่ชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากการเพาะเลี้ยงส่วนข้อและยอดจิงจูฉ่ายคือ สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม BA สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 12. 2 ยอดต่อ 1 ข้อ และ 11.6 ยอดต่อ 1 ยอด การย้ายต้นจิงจูฉ่ายที่มีลักษณะต้นและรากสมบูรณ์ที่เพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ มาปรับสภาพเป็นเวลา 3 วัน จึงนำออกปลูกในโรงเรือนมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100% และสามารถตั้งตัวได้ดีมีการแตกกอและเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นภายใน 6 เดือน กรดซาลิไซลิกมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการผลิตสารเทอร์พีนอยด์รวมจากต้นจิงจูฉ่าย โดยพบการผลิตสารเทอร์พีนอยด์รวมมากที่สุด เท่ากับ 23.05 มิลลิกรัม/100 กรัม คิดเป็น 2 เท่าของต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ เมื่อกระตุ้นด้วยกรดซาลิไซลิกความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลานาน 1 วัน และพบการผลิต

กรมวิชาการเกษตร

สาร ascorbic acid มากที่สุดในต้นจิงจูฉ่ายที่กระตุ้นด้วย salicylic acid ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 mM เท่ากับ 6.6 mg/100g คิดเป็น 2.2 เท่าของต้นจิงจูฉ่ายที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ ภายหลังทำการกระตุ้น 3 วัน

7. เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อต้นพลูคาวที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดคือการใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยไฮเตอร์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และตามด้วยไฮเตอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้สามารถชักนำให้เกิดยอดพลูคาวจำนวนเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสารเคอร์ซิตรินและรูตินในต้นพลูคาว คือสูตรอาหารที่เติมกรดซาลิไซลิก 0.50 มิลลิโมลาร์

อภิปรายผล

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของสมุนไพร คือปริมาณสารสำคัญ หรือสารที่ออกฤทธิ์ทางยาของสมุนไพร ซึ่งโดยทั่วไปมีผลมาจากกรรมพันธุ์ ระยะเวลาการเจริญเติบโต สภาพแวดล้อม (สภาพของดิน ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ ความสูงจากระดับน้ำทะเล ช่วงเวลาการเก็บเกี่ยว และการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว จากข้อมูลการวิจัยอายุการเก็บเกี่ยวน่าจะมีผลต่อปริมาณสารสำคัญของกวาวเครือขาว ผลการวิจัยนี้พบว่า ปริมาณของ puerain และ daidzein ที่อายุ 9 เดือนหลังปลูกนั้น มีปริมาณ 80.66และ 24.15 มก./ ตัวอย่าง 100 กรัมตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าปริมาณจากตัวอย่างกวาวเครือขาวจากแหล่งต่างๆ ในจ. เชียงรายของสุรพจน์ วงศ์ใหญ่ อ้างในรายงานการวิจัยของปราโมทย์และคณะ (2548) แต่ปริมาณ genistein มีปริมาณใกล้เคียงกัน ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของกวาวเครือขาว ได้แก่ แหล่งที่มาของวัตถุดิบ อายุ และขนาด ในการวิจัยนี้จึงเป็นไปได้ว่า ระยะเวลา และช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยวมีผลต่อปริมาณสารสำคัญ ซึ่งจากข้อมูลนี้จะสามารถสนับสนุนการเลือกใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพสำหรับการสกัดเพื่อเกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ได้ในอนาคต

จากการสร้างสมการและปรับสมการจากเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจำนวน 200 ตัวอย่าง ทำ calibration ด้วยวิธี PLS regression โดยการใช้ spectra เริ่มต้น (original) แบบ Full cross validation กับค่าปริมาณสารไอโซฟลาโวนในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่ความยาวคลื่น 800-2500 นาโนเมตร พบว่าสมการจาก original spectra ของสารไอโซฟลาโวน 6 ชนิด ได้แก่ Daidzin Daidzein Glycitin Glycitein Genistin Genistein และ Total isoflavone จากการหาความสัมพันธ์จากการทำนายค่าสารไอโซฟลาโวน Daidzin Daidzein Glycitin Glycitein Genistin Genistein และ Total isoflavone ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วย NIR และค่าที่วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R2) มีค่า 0.90 0.82 0.86 0.84 0.86 0.80 และ 0.85 ตามลำดับ (ภาพที่ 2.3) จากการสร้างสมการจากจำนวนตัวอย่าง 200 ตัวอย่าง ถึงแม้ว่าค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจจะสูงขึ้น หากมีการทดลองต่อไปควรเพิ่มตัวอย่างที่มีค่าสารไอโซฟลาโวนที่หลากหลายมากขึ้น เช่น Daidzin 75-85 ppm Daidzein 8-10 ppm Glycitin 50-60 ppm Glycitein 1-2 ppm Genistin 75-150 ppm Genistein 4.5-5 ppm และ Total isoflavone 200-300 ppm

ขั้นตอนการทำ validation หลังจากได้สมการ calibration แล้ว ทำการทวนสอบว่าสมการที่สร้างขึ้นมาสามารถนำมาทำนายข้อมูลชุดอื่นได้ ซึ่งการทดสอบสมการประเมินค่าปริมาณสารไอโซฟลาโวน 6 ชนิดในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง เปรียบเทียบกับค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีความถูกต้องมากน้อยแค่ไหน (Standard Error of Prediction ; SEP) ค่าเฉลี่ยของการทำนายกับค่าเฉลี่ยของค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการมีความแตกต่างกัน

กรมวิชาการเกษตร

หรือไม่ (bias) การคำนวณค่า SEP และค่า bias ของปริมาณสารไอโซฟลาโวน 6 ชนิด ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่ทำนายได้กับค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการไม่แตกต่างกันมาก และนำสถิติ t-test ใช้ทดสอบความแตกต่างหรือเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของวิธีการ 2 วิธี พบว่า สมการสำหรับการประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวน 6 ชนิด ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง กับค่าวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงสามารถนำสมการไปใช้ประเมินปริมาณสารไอโซฟลาโวน 6 ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้

การศึกษาสารทุติยภูมิ/สารสำคัญ ที่สกัดได้จากรากพืชสมุนไพรหนอนตายหยาก จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารทุติยภูมิจากรากหนอนตายหยากแต่ละชนิด หนอนตายหยากแต่ละชนิด (species) มีสารแอลคาลอยด์ที่อาจเหมือนหรือต่างชนิดกันก็ได้ เช่น หนอนตายหยาก *S. rupestris* Inthachub ที่พบว่ามีสาร stemocurtisine ซึ่งเป็นสารประกอบหลัก และมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างต่างชนิดกัน แต่ไม่พบว่ามีสาร stemofoline จากรากหนอนตายหยาก *S. rupestris* Inthachub ในขณะที่สารสกัดจากรากหนอนตายหยาก *S. curtisii* Hook. f. สามารถตรวจพบว่ามีสารทุติยภูมิทั้งสองชนิดคือสาร stemocurtisine และสาร stemofoline สอดคล้องกับรายงานของ Jiraporn (2013) ซึ่งศึกษาการผลิตสารทุติยภูมิจากหนอนตายหยากโดยการปลูกแบบไม่ใช้ดิน โดยสารแอลคาลอยด์ที่วิเคราะห์ได้นั้น มีสาร stemocurtisine และสาร stemofoline ร่วมอยู่ด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตาม จากการศึกษานี้ จะเห็นได้ว่า แม้จะเป็นพืชที่เป็นชนิดเดียวกันแต่หากมีแหล่งที่มาต่างสถานที่กัน ก็อาจมีสารทุติยภูมิแตกต่างกันได้ ดังที่เห็นได้จากหนอนตายหยาก *S. curtisii* Hook. f. จาก จ. ชุมพร และ จ. สตูล พบว่า มีสาร stemocurtisine และ stemofoline แต่หนอนตายหยาก *S. curtisii* Hook. f. จาก จ. กระบี่ นั้นพบว่ามีสาร stemocurtisine เพียงอย่างเดียว

การเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ สามารถฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อได้สำเร็จ จำนวน 2 ชนิด คือ *S. tuberosa* Lour. และ *S. collinsiae* Craib. และได้ทดลองสูตรอาหารเพื่อเพิ่มจำนวนยอดและชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดและเพิ่มจำนวนยอดได้เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินเป็นส่วนประกอบ (รังสฤษดิ์, 2540; อารีย์, 2541) สอดคล้องกับรายงานการวิจัยหลายฉบับที่มีการนำส่วนข้อที่มีตาข้างติดอยู่ของต้นหนอนตายหยากมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของไซโตไคนิน เช่น BA Kinetin TDZ ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน สามารถชักนำให้ส่วนข้อต้นหนอนตายหยากดังกล่าวเกิดยอดขึ้นใหม่ได้ (สุมนา และคณะ, 2548; Montri *et al.*,2006; Singlaw *et al*., 2008; Montri *et al.*,2009; Animesh *et al.*, 2011) โดยผลการทดลองสูตรที่ใช้ BA ความเข้มข้น 6 และ 8 มก./ล. เกิดยอดเฉลี่ย 3.0 ยอดต่อชิ้น ในหนอนตายหยาก *S. tuberosa* Lour. ส่วนหนอนตายหยาก *S. collinsiae* Craib. ในการทดลองนี้สามารถเกิดยอดใหม่ ได้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. ได้จำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้น สอดคล้องกับรายงานของ Montri *et al*. (2006) ซึ่งเพาะเลี้ยงส่วนข้อของต้นหนอนตายหยาก (*S. curtisii* Hook f.) บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 20 µM (ประมาณ 5 มก./ล.) ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.4 ยอดต่อชิ้น และรายงานของ Singlaw *et al*. (2008) เพาะเลี้ยงหนอนตายหยาก (*S. tuberosa* Lour.) ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 2.62 ยอดต่อชิ้น และการทดลองขยายพันธุ์หนอนตายหยาก *S. collinsiae* Craib. ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ กาญจนา และ อริยาภรณ์ (2551) ซึ่งสามารถชักนำให้หนอนตายหยาก *S. collinsiae* Craib. เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 7 ยอดต่อชิ้น บน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. การทดลองการชักนำให้รากยอดในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า *S. collinsiae* Craib. สามารถเกิดรากได้บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล sucrose 3% ร่วมกับการเติมสารในกลุ่ม Auxin: NAA 1 มก./ล. และเพิ่มวิตามิน thiamine 1 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 71.23 คล้ายกับรายงานของกาญจนาและอริยาภรณ์ (2551) รายงานว่าการเติมสารในกลุ่ม Auxin: IBA 1-3 มก./ล. สามารถชักนำต้นหนอนตายหยาก (*S. collinsae* Craib.) ให้เกิดรากได้ดีที่สุด แต่สูตรอาหารทดลองกลุ่มนี้ไม่สามารถชักนำให้ยอดหนอนตายหยาก *S. tuberosa* Lour. เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ ซึ่งขัดแย้งกันกับการรายงานของ Animesh *et al.*(2011) ซึ่งสามารถชักนำยอดหนอนตายหยาก (*S. tuberosa* Lour.) ให้เกิดรากได้เฉลี่ย 4.7 รากต่อยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร half strength MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามการชักนำให้ต้นพืชในสภาพปลอดเชื้อเกิดรากขึ้นได้นั้น มีปัจจัยหลากหลายที่มีผล เช่น ชนิด (species) ของพืชที่นำมาใช้เพาะเลี้ยง ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม Auxin ที่นำมาใช้สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง และอีกหลายปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากในสภาพเพาะเลี้ยง (รังสฤษฎ์, 2540) โดยหากใช้ชนิดหรือความเข้มข้นที่ไม่เหมาะสมกับพืชและชิ้นส่วนนั้นๆ หรือมีความเข้มแสงหรืออุณหภูมิที่แตกต่างก็ทำให้ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้เช่นกัน (Geogre, 1993)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเท้ายายม่อมจากทั้ง 6 จังหวัดมีลักษณะที่แตกต่างกันในด้านสีและความยาวของก้านใบ ซึ่งเท้ายายม่อมจาก จ.จันทบุรี จ.อุบลราชธานี จ.ตรัง และจ.พังงา มีความยาวกว่าเท้ายายม่อมจาก จ. กาฬสินธุ์ และจ.ฉะเชิงเทรา โดยผลผลิตหัวมีน้ำหนักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เท้ายายม่อมจาก จ. จันทบุรีมีน้ำหนักหัวสูงสุด (416.88 ก.) แต่ไม่แตกต่างกับหัวจากจ.ฉะเชิงเทรา (411.88 ก.) ซึ่งมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่แตกต่างกัน ใบของเท้ายายม่อมจาก จ.จันทบุรีจะมีความยาวกว่า จ.ฉะเชิงเทรา การแปรรูปแป้งเท้ายายม่อมพบว่า ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมที่แปรรูปจากจากทั้ง 6 จังหวัดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณแป้งเท้ายายม่อมจากพันธุ์จ.อุบลราชธานีสูงสุด (220.37 ก./นน.สด 1 กก.) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าในการสะสมอาหารของเท้ายายม่อมไม่จะเกี่ยวข้องกับความยาวของก้านใบ แต่จะขึ้นอยู่กับปริมาณธาตุอาหารที่เพียงพอในดินหรือวัสดุปลูก การทดลองนี้มีความยาว (ความสูงของใบ) และน้ำหนักหัว ของเท้ายายม่อมในบางจังหวัด ผลการวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของเท้ายายม่อมจาก 6 จังหวัด พบว่า มีค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรต และใยอาหารสอดคล้องกับสุภาภรณ์ และคณะ (2546ก) ซึ่งพบว่า ประกอบทางโภชนาการในแป้ง มีคาร์โบไฮเดรต 89.12 ก./100 ก. และใยอาหาร 0.59 ก./ 100 ก.

การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากโดยใช้ BA นั้นได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ ยงศักดิ์และอัญชลี (2557) ที่พบว่าอาหาร ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนการเกิดยอดของต้นพรมมิเฉลี่ย 8.0 ยอด แต่จำนวนการเกิดยอดเฉลี่ยลดลงเหลือ 1.5 ยอด เมื่อเติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร จากรายงานที่กล่าวมานี้ พบแนวโน้มเดียวกันคือ BA ความเข้มข้นต่ำชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าการใช้ความเข้มข้นสูงในพืชทั้งสองชนิด เนื่องจากการใช้ BA ความเข้มข้นสูงเกินไปส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช สำหรับต้นจิงจูฉ่ายการนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารเจริญเติบโตก็เพียงพอต่อการเกิดยอดกลุ่มเพราะอาหารสูตร MS มีวิตามินและแร่ธาตุครบถ้วน ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพิ่ม

ส่วนการใช้ salicylic acid เป็นสิ่งกระตุ้นนั้นมีรายงานว่าสามารถกระตุ้นการผลิตสารสำคัญของพืชหลายชนิดและมีแนวโน้มว่า salicylic acid ความเข้มข้นต่ำมีประสิทธิภาพให้การกระตุ้นสารทุติยภูมิได้มากกว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

salicylic acid ความเข้มข้นสูง ในการกระตุ้นสาร plumbagin ในเจตมูลเพลิงแดงโดยใช้ salicylic acid ความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 mM ซึ่งรายงานโดย ศศิวิมล และคณะ (2553) ก็ให้ผลสอดคล้องกัน คือพบว่าความเข้มข้นของ salicylic acid 10 และ 20 mM สามารถกระตุ้นให้ hairy root ของเจตมูลเพลิงแดงสร้างสาร plumbagin ได้เพิ่มมากขึ้น แต่ประสิทธิภาพการสร้างสาร plumbagin ลดลงเมื่อใช้ salicylic acid ความเข้มข้น 30 และ 40 mM จากรายงานที่กล่าวมานี้ แม้จะพบแนวโน้มเดียวกันคือความเข้มข้นต่ำกระตุ้นได้ดีและความเข้มข้นสูงให้ผลตรงข้าม แต่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมก็ต่างกันออกไปตามชนิดพืชและชนิดสิ่งกระตุ้น ซึ่งจากการทดลองในการสร้างสาร total terpenoid จากต้นจิงจูฉ่ายนี้ salicylic acid ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่างจากในเจตมูลเพลิงแดงเช่นกัน จากผลการทดลองในการใช้ salicylic acid กระตุ้นการผลิตสาร total terpenoids และ ascorbic acid รวมทั้งการรายงานของ Malarz *et al*. (2007) เป็นสิ่งยืนยันว่าระยะเวลาที่เนื้อเยื่อได้สัมผัสกับสิ่งกระตุ้นมีผลอย่างมากต่อผลผลิตสารสำคัญที่สกัดได้หลังจากกระตุ้น ดังนั้นในการใช้สิ่งกระตุ้นชนิดต่าง ๆ นอกจากที่จะศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการกระตุ้นแล้ว ควรศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารสำคัญหลังจากการกระตุ้นด้วย เพื่อให้ได้ผลผลิตในปริมาณมากที่สุดและคุ้มค่ากับการลงทุนในแต่ละครั้งที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าแม้ว่าต้นจิงจูฉ่ายจะไม่ได้รับสิ่งกระตุ้นแต่ถ้านำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อก็ยังให้สารสำคัญสูงกว่าที่นำไปปลูกธรรชาติ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี

ประสิทธิภาพของการฟอกฆ่าเชื้อจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาและปริมาณความเข้มข้นของสารที่ใช้ ซึ่งเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อต้นพลูคาวที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือการใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยไฮเตอร์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และตามด้วยไฮเตอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่ชักนำพลูคาวเกิดยอดจำนวนมากได้ดีที่สุด นอกจากนี้ พบว่ากรดซาลิไซลิก 0.50 มิลลิโมลาร์ เป็นสารกระตุ้นที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณสารเคอร์ซิตรินและรูตินในต้นพลูคาวในสภาพปลอดเชื้อได้ ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับการที่กรดซาลิไซลิกสามารถกระตุ้นให้พืชมีการสะสมสารเควอซิทิน (Quercetin) ในเซลล์เพิ่มมากขึ้น และมีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์มากเพิ่มขึ้น

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

นักวิชาการ และนักวิจัย นำองค์ความรู้จากผลงานวิจัยไปพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ โดยพัฒนาในระดับภาคสนาม

1. การสกัดพิวรารินจากกวาวเครือขาว เพื่อขยายผลในทางเภสัชกรรม และสารแอลคาลอยด์จากรากหนอนตายหยาก เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เภสัชกรรม

2. การใช้สมการ NIR เพื่อทำนายสารสำคัญในเมล็ดที่จัดเก็บในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช

3. สารสกัดจากถั่วสกุล Phaseolus ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคอ้วน (เอนไซม์ไลเปส) และเบาหวาน (เอนไซม์แอลฟ่า-อะไมเลส เอนไซม์แอลฟ่า-กลูโคซิเดส และเอนไซม์ไดเพปทิดิล-เพปทิเดส-4) เพื่อทดแทนสารสังเคราะห์

4. การส่งเสริมเท้ายายม่อมพันธุ์จาก จ.จันทบุรี และ.จ.อุบลราชธานี เพื่อผลิตหัวเท้ายายม่อม

5. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและชักนำให้สร้างสารสำคัญสูง ได้แก่ จิงจูฉ่ายผลิต total terpenoid และ ascorbic acid เพิ่มขึ้น และพูลคาว ผลิตสารเคอร์ซิตินและรูติน เพิ่มขึ้นได้

กรมวิชาการเกษตร

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน

1. การดำเนินการวิจัยต้องใช้ความหลากหลายของพันธุ์ถั่วเหลืองจำนวนมาก ซึ่งต้องใช้พื้นที่และค่าใช้จ่ายในการปลูก ดูแลรักษาขยายจำนวนเมล็ดพันธุ์ เพื่อนำมาใช้ในการทดลองให้ผลลัพธ์ที่ได้มีค่าความเชื่อมั่นสูง

2. เนื่องจากสถานการณ์ปัจจุบันมีการตรวจพบเชื้อไวรัสโคโรนา และไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ ชนิดกลายพันธุ์ สายพันธุ์โอไมครอน (Omicron) ซึ่งส่งผลทำให้สถานที่ที่ต้องใช้ในการวิเคราะห์ปิด จึงทำให้กำหนดการล่าช้ากว่าแผนที่กำหนดไว้

กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. มปป. ประวัติและความสำคัญของถั่วเหลือง สืบค้นจาก www.ldd.go.th/Lddwebsite/web_ord/Technical//P_Technical06028.pdf [2 พฤษภาคม2557]

กรมวิชาการเกษตร. 2548. กวาวเครือขาว-พืชมหัศจรรย์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 41 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2550. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ : โครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตกวาวเครือขาว. กองทุนสนับสนุนงานวิจัย กรุงเทพฯ. 166 หน้า.

กาญจนา รุ่งรัชกานนท์ และอริยาภรณ์ พงษ์รัตน์. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib.). วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 10(2):1-13.

กุหลาบ สิทธิสวนจิก. 2553. แป้งทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์: แป้งเพื่อสุขภาพ. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์, 10(2):70-77.

ชนวัตร พึ่งนนทสกุล. 2554. คุณค่าของสมุนไพรไทยเพื่อชีวิตที่มีคุณค่า. สืบค้นจาก: http://www.yodsunthonnetwork.com. [22 มี.ค. 2562]

ธนาภร รติธรรมธร. 2560. แป้งต้านทานการย่อย. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 22(1): หน้า 166-176.

ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตา, สุวรรณา เวชอภิกุล, สุนีย์ จันทร์สกาว และวิสินี จันทร์มหเสถียร. 2548. การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารองค์ประกอบสำคัญจากกวาวเครือขาวในช่วงเวลาต่างๆ. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.

ปาจารีย์ อินทชุบ. 2551. พืชสกุลหนอนตายหยาก (*Stemona* Lour.) บางชนิดในประเทศไทย. วารสารข่าวศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. 22(2): 20-23.

แผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564. 2560. สืบค้นจาก: https://www.dtam.moph.go.th/images/download/dl0021/MasterPlanThaiherb.pdf. [22 มี.ค. 2562]

พนมกร ขุนอ่อน. 2550. การใช้น้ำสกัดชีวภาพสมุนไพรหนอนตายหยากควบคุมหนอนแมลงวันบ้าน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. คณะพัฒนาสังคมและสิ่งแวดล้อม, สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.

ไพบูลย์ ปะนาเส. 2551. ผลของสารกำจัดแมลงชีวภาพจากหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook.f.) และสารภี (*Mammea siamensis* Miq. T.) ต่อระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและกิจกรรมไลโซไซม์ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ. 2557. อิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรมมิ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. Thai Journal of Science and Technology. 3 (1):7–14.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 219 หน้า.

รุจน์ สุทธิศรี. 2547. สารเอสโตรเจนจากพืช (phyoestrogen). ภาควิชาเภสัชวิทยา. คณะเภสัชศาสตร์.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

วราภรณ์ ภูตะลุน. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร: แนวทางการศึกษาเพื่อผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา, สำนักพิมพ์ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา, ขอนแก่น, 120 หน้า.

วันดี รังสีวิจิตรประภา, ไชยวัฒน์ ไชยสุต, จินตนา นภาพร, นัทที พัชราวนิช และจารุวรรณ ธนวิรุฬห์. มปป. การพัฒนาสารสกัดถั่วเหลืองบรรจุแคปซูลและการกำหนดขนาดรับประทาน สืบค้นจาก http://www.arda.or.th/kasetinfo/north/research_soybean/research_soybean_39.pdf [3 พฤษภาคม 2557]

วีระพล จันทร์สวรรค์ สถาพร จิตตปาลพงศ์ และนงนุช จันทราช. 2536. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากหนอนตายหยากต่อเห็บโค. ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย์.). 27:336-340.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2552. ย่อเภสัชกรรมไทยและสรรพคุณสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 3. ศิลป์สยายบรรจุภัณฑ์และการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 224 น.

กรมวิชาการเกษตร

ศศิวิมล จันทร์สุเทพ. 2553. การผลิตสาร plumbagin จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ hairy root ของเจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* Linn.) ในฟลาสก์และถังปฏิกรณ์ชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาณี พิมพ์สมาน, รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา และสังวาล สมบูรณ์. 2546. สารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona* spp.) เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช. สืบค้นจาก : http://plantpro.doae.go.th/insectpest_research/A-14-pdf.

สุภาภรณ์ ภัทรสุทธิ, นพรัตน์ หยีดจันทร์ และ ดวงจันทร์ ภูเขียวศักดิ์. 2546ก. การศึกษาส่วนประกอบทางโภชนาการและลักษณะกายภาพบางประการของพืชหัวพื้นเมือง. การประชุมวิชาการ กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร ประจำปี 2542 เรื่อง ความก้าวหน้าด้านพฤกษศาสตร์สมุนไพร และวัชพืช: 9-10 มีนาคม 2542 : หน้า 17-18.

สุมนา นีระ, ปรีชา นีระ และ วชิระ เกตุเพชร. 2548. การขยายพันธุ์สมุนไพรหนอนตายหยากโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *ใน* การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว (ภาคโปสเตอร์) ระหว่างวันที่ 20-22 ตุลาคม 2548, หน้า 289-294.

สุรพล นธการกิจกุล. 2556. การพัฒนาห่วงโซ่อุปทานอุตสาหกรรมสมุนไพรไทย เพื่อเตรียมการรวมตัวเป็นประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (ASEAN Economic Community: AEC). วารสารศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 1(2):13-24.

อภิฤทธิ์ จิตใจงาม. 2551. ผลของสารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook. F.) ต่อการสืบพันธุ์ของหนูขาวเพศผู้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อำพล ไมตรีเวช. 2548. โครงการวิจัยและพัฒนานโยบายและกลยุทธ์ในการพัฒนา ผลิตภัณฑ์สมุนไพรในเชิงพาณิชย์. เอกสารประกอบการนำเสนอต่อคณะกรรมการ สภาวิจัยแห่งชาติ สาขาวิทยาศาสตร์เคมีและเภสัช นำเสนอวันที่ 4 ตุลาคม 2548. สืบค้นจาก: http://www1.nrct.go.th/downloads/041005ampol.pp. [22 มี.ค. 2562]

Animesh, B., M. A. Bari, M. Roy and S. K. Bhadra. 2011. *In vitro* Propagation of *Stemona tuberosa* Lour. – A Rare Medicinal Plant through High Frequency Shoot Multiplication using Nodal Explants. Plant Tissue Cult. & Biotech. 21(2):151-159.

Baird, M.C., S.G. Pyne, A.T. Ung, W. Lie, T. Sastraruji, A. Jatisatienr, C. Jatisatienr, S. Dheeranupattana, J. Lowlam and S. Boonchalermkit. 2009. Semisynthesis and biological activity of stemofoline alkaloids. Jaurnal of Natural Product. 72:679-684.

Bown, D. 1995. Encyclopaedia of Herbs and their Uses Dorling Kindersley, London. 424 p.

Chang, C.L., C. S. Lin and G. H. Lai. 2012. Phytochemical Characteristics, Free Radical Scavenging Activities, and Neuroprotection of Five Medicinal Plant Extracts. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume 2012, Article ID 984295, 8 pages.

Chen, X., Wang, Z., Yang, Z., Wang, J., Xu, Y., Tan, R.X., et al.. 2011. *Houttuynia cordata* blocks HSV infection through inhibition of NF-kB activation. Antiviral Res. 92:341-345.

Euromonitor International. 2016. Herbal and traditional products market research. Retrieved March, 2019, from http://www.euromonitor.com/herbal-traditional-products. [.

Fowler, M.W. 2006. Plants, medicines and man. J. Sci. Food Agric. 86:1797 – 1804.

Fu, J., Dai, L., Lin Z. and Lu, H.. 2013. *Houttuynia cordata Thunb.: A review of phytochemistry and pharmacology and quality control.* Chinese Medicine. 4:101-123.

George, E. F. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture: The Technology (2nd Edition). Exegetics Ltd., Edington, Wilts., England.

Good Health (Thailand) Co., Ltd. 2006. คุณประโยชน์ของถั่วเหลือง. Retrieved May 5, 2014, from www.goodhealth.co.th/new_page_28. htm

กรมวิชาการเกษตร

Hung, P.Y., Ho, B.C., Lee, S.Y., Chang, S.Y., Kao, C.L., Lee, S.S., et al.. 2015. *Houttuynia cordata* targets the beginning stage of herpes simplex virus infection. PLoS One., 10: e0115475.

Jing, Z. W., Z. S. Ying and Y. Y. Yi. 2011. Analysis of chemical components of volatile oil from *Artemisia lactiflora* Wall in north Guizhou province of China. Medicinal Plant. 2 (6):59 -61.

Jiraporn Palee. 2013. Secondary metabolites production in soilless cultured *Stemona* spp. Doctor of Philosophy in Biology, The graduate school, Chiang Mai University.

Klinthong, S., R. Khammanit, S. Phornchirasilp, R. Temsiririrkkul and N. Siriwatanametanon. 2015. In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of a Thai traditional formula, Rid-si-duang-ma-ha-kan, for hemorrhoid treatment. Mahidol Univ. J. Pharm. Sci. 42 (3):144-152.

Kumar, M., Prasad, S.K., and Hemalatha, S.. 2014. A current update on the phytopharmacological aspects of *Houttuynia cordata* Thunb. Pharmacogn Rev., 8:22-35.

Kummalue, T., Y. U. pratya, U. Lueangamornnara and W. Jiratchariyakul. 2014. A Thai herbal recipe induces apoptosis in T47D human breast cancer cell line. Pharm Sci. Asia. 41 (4):11-17.

Li, D.L., Zheng, X.L., Duan, L., Deng, S.W., Ye, W., Wang, A.H., Xing, F.W.. 2017. Ethnobotanical survey of herbal tea plants from the traditional markets in Chaoshan, China. J Ethnopharmacol. 205:195-206.

Lin, J.P., Yang, J.S., Lin, J.J., Lai, K.C., Lu, H.F., Ma, C.Y., Sai-Chuen Wu, R., Wu, K.C., Chueh, F.S., Gibson Wood, W., Chung, J.G.. 2012. Rutin inhibits human leukemia tumor growth in a murine xenograft model in vivo. Environ. Toxicol. 27(8):480–484.

Montri, N., Ch. Wawrosch, and B Kopp. 2009. In Vitro Propagation of *Stemona tuberosa* Lour., an Antitussive Medicinal Herb. Acta Horticulturae, 812:165-172.

Montri, N., Wawrosch, C. H. and B. Kopp. 2006. Micropropagation of *Stemona curtisii* Hook f., a Thai medicinal plant. Acta Horticulturae, 725:341-345.

Nugboon, K. and K. Intarapichet. 2015. Antioxidant and antibacterial activities of Thai culinary herb and spice extracts, and application in pork meatballs International. Int. Food. Res. J. 22(5):1788-1800.

Palasuwan, A. and S. Soogarun. 2014. Total antioxidant activity of Thai medicinal plants associated with the treatment of cardiovascular diseases, diabetes and cancers. J. chem. pharm. res. 6(10):27-31.

Panyaphu, K., P. Sirisa-ard, P. N. Ubol, S. Nathakarnkitkul, S. Chansakaow and T. V. On. 2012. Phytochemical antioxidant and antibacterial activities of medicinal plants used in Northern Thailand as postpartum herbal bath recipes by the Mien (Yao) community. Phytopharmacology. 2(1):92-105.

Pilli, R.A. and M.C.F. Ferreira de Oliveira. 2000. Recent progress in the chemistry of the *Stemona* alkaloids. Natural Product Reports. 17:117-127.

Raskin I., D.M. Ribnicky, S. Komarnytsky, N. Ilic, A. Poulev, N. Borisjuk, A. Brinker, D.A. Morena, C. Ripoll, N. Yakoby, J. O'Neal, T. Cornwell, I. Pastor and B. Fridlender. 2002. Plants and human health in the twenty-first century. Trends Biotechnol. 20: 522 – 531.

Rogerio, A.P., Kanashiro, A. and Fontanari, C.. 2007. Anti-inflammatory activity of quercetin and isoquercitrin in experimental murine allergic asthma., Inflamm. Res. 56(10):4028.

Saetung, A., A. Itharat, C. Dechsukum, K. Keawpradub, C. Wattanapiromsakul and P. Ratanasuwan. 2005. Cytotoxic activity of Thai medicinal plants for cancer treatment. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 27(Suppl.2):469-478.

Senawonga, T., S. Khaophaa, S. Misunaa, J. Komaikula, G. Senawonga, P. Wongphakhama and S. Yunchalardd. 2014. Phenolic acid composition and anti cancer activit yagainst human cancer cell lines of the commercially available fermentation products of Houttuynia cordata. ScienceAsia. 40:420-427.

Shimoni, E.. 2003. Stabillity and Shelf Life of Bioactive Compounds during Food Processing and Storage : Soy Isoflavones. Journal of Food Science. 69(6):R160-R166.

Singlaw, C., A. Kongbangkerd, K. Promthep and P. Saenpote. 2008. Effect of cytokinins on *In vitro* shoot proliferation of *Stemona tuberose* Lour. NU Science Journal 5(2):221-229.

Vu, Q. 2018. Resistant Starch of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze by Various Treatment Methods. Conference: The 12th SEATUC Symposium-Engineering Education and Research for Sustaninable Development, at Yogyakarta, Indonesia.

Wangchauy, C., and Chanprasert, S.. 2012. Effects of Houttuynia *cordata* Thunb. extract, Isoquercetin and Rutin on cell growth inhibition and apoptotic induction in K562 human leukemic cells. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 4(5):2590-2598.

Worarakkulwong, T. and S. Wongsawadwech. 2012. Antiproliferation and antioxidation activities of *Artemisia vulgaris* var. *indica*. BS Thesis, Mahidol University, Bangkok. (in Thai)

Zhao, J., L.C. Davis and R. Verpoorte. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnol. Adv. 23:283 – 333.

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก

ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output)

ภาคผนวกที่ 1

วรารัตน์ ศรีประพัฒน์, ประกาย อ่อนวิมล, สุพินญา บุญมานพ, ภุมรินทร์ วนิชชนานันท์, มัลลิกา แก้ววิเศษ และขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์. 2564. การพัฒนาคุณภาพสมุนไพรพลูคาวเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในตลาดโลก. ห้างหุ้นส่วนจำกัด พรี-วัน, กรุงเทพ, ประเทศไทย.

การพัฒนาคุณภาพสมุนไพรพลูคาวเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในตลาดโลก

ข้อมูลทางบรรณานุกรม
การพัฒนาคุณภาพสมุนไพรพลูคาวเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในตลาดโลก.
พิมพ์ครั้งที่ 1. 2564. 20 หน้า.

คณะผู้จัดทำ
วรารัตน์ ศรีประพัฒน์
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร
ประกาย อ่อนวิมล
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร
สุพินญา บุญมานพ
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร
ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร
มัลลิกา แก้ววิเศษ
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร
ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์
สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร

พิมพ์ครั้งแรก : กันยายน 2564
จำนวนที่พิมพ์ : 200 เล่ม
พิมพ์ที่ : ห้างหุ้นส่วนจำกัด พรี-วัน 50 อาคารยู อเวนิว ชั้นที่ 2 ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

กรมวิชาการเกษตร

ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำต้นจิงจูฉ่ายที่ได้ไปเพิ่มปริมาณต้นโดย Subculture ทุก ๆ 4 สัปดาห์

4. ต้นจิงจูฉ่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ลักษณะต้นจิงจูฉ่ายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 3 เดือน ที่มีรากสมบูรณ์พร้อมออกปลูกภายนอกต่อไป

5. นำจิงจูฉ่ายออกปลูกภายในโรงเรือน

โดยย้ายขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง พร้อมกับคลายฝาขวดไว้ เป็นเวลา 7 วัน นำต้นออกจากขวดล้างทำความสะอาดเอารุ้นที่ติดกับรากออกให้หมด และพักไว้ หลังจากนั้นย้ายปลูกลงกระถางโดยใช้ดินผสมสูตรสำเร็จต่อไป

คณะผู้จัดทำ
ประกาย อ่อนวิมล
ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์
วรารัตน์ ศรีประพัฒน์

กรมวิชาการเกษตร

สกสว TSRI

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจิงจูฉ่าย (*Artemisia lactiflora*)

จิงจูฉ่าย (*Artemisia lactiflora*)

มีถิ่นกำเนิดมาจากภาคตะวันออกเฉียงใต้ของจีน คือ มณฑลกุ้ยโจว สำหรับประเทศไทยนิยมปลูกในจังหวัดทางภาคเหนือ เช่น เชียงราย เชียงใหม่ จิงจูฉ่ายมีน้ำมัน หอมระเหยเป็นส่วนประกอบหลายชนิด เช่น (E)-13- farnesene, nerolidol, spathulenol, caryophyllene oxide และ zingiberene โดยพบกลุ่ม terpenoid มากที่สุด

ประโยชน์ของจิงจูฉ่าย

มีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลความดันเลือดในร่างกาย และช่วยขับลมในกระเพาะอาหารได้ดี ลำต้นสดและเมล็ดนั้นมีปริมาณโซเดียมต่ำผู้เป็นโรคไตจึงรับประทานได้ จิงจูฉ่ายให้สรรพคุณทางยาสูง อีกทั้งมีวิตามินและเกลือแร่ ต่าง ๆ อาทิ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต กากใยอาหาร เหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส วิตามินซีสูง มีรายงานพบว่าปริมาณวิตามินซีในจิงจูฉ่ายมากกว่าในมะนาวถึง 58 เท่า นอกจากนี้ยังมีวิตามินเอ วิตามินอี และวิตามินบี 6 เป็นต้น ซึ่งการทานในสดจะได้ผลดีกว่าการนำไปปรุงอาหารโดยผ่านกระบวนการให้ความร้อน

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจิงจูฉ่าย

1. เตรียมเนื้อเยื่อจิงจูฉ่าย

นำจิงจูฉ่ายอายุ 6 เดือน ตัดออกมาจากกระถางเพาะเลี้ยง ล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง ตัดใบส่วนเกินและนำมาล้างทำความสะอาดเอาเศษดินที่ติดมาออกด้วยน้ำยาล้างจาน จำนวน 1 ครั้ง ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ

2. การฟอกฆ่าเชื้อ

นำชิ้นส่วนข้อ และยอดไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 20% ที่เติม tween 20 1-2 หยด นาน 15 นาที นำไปล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วนำไปซับด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเพื่อซับน้ำส่วนเกินออก

3. การชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์

ตัดแยกต้นจิงจูฉ่ายที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วออกเป็น 2 ส่วน โดยแยกเป็นส่วนข้อ และส่วนยอด แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำตาล 30 กรัม/ลิตร ผงวุ้น (Phytagel) 3 กรัม/ลิตร ในสภาพแสง 55 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวกที่ 3

ภาพที่ 3 หัวเท้ายายม่อมขนาด 200-600 กรัม และแป้งเท้ายายม่อม

แป้งเท้ายายม่อม มีลักษณะสีขาวเม็ดเล็กละเอียด (ภาพที่ 5) ในด้านโภชนาการเป็นแป้งที่มีคุณสมบัติพิเศษ มีความคงตัวดีเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งที่ทำมาจากมันสำปะหลัง มันสาคู ข้าวโพด ข้าว เช่น ขนมเทียนแก้ว ขนมเปียกปูน ขนมน้ำดอกไม้ เต้าส่วน ขนมขนมชั้น เป็นต้น เนื่องด้วยเป็นที่ทำให้มีความมันวาวใสน่ารับประทาน และส่วนประกอบในการทำอาหาร เช่น น้ำราดหน้า ออส่วน กระเพาะปลา ซุปเห็ด หอยทอด เป็นต้น ในปัจจุบันเป็นที่ต้องการของตลาดผู้ผลิตขนมไทย และการต่อยอดโดยการนำเป็นส่วนผสมในขนมไดฟุกุ พุดดิ้ง แป้งเท้ายายม่อมตามท้องตลาดซึ่งมีราคาแพง 500-600 บาทต่อกก. ข้อสังเกต คือแป้งเท้ายายม่อมตามท้องตลาดราคา 80-100 บาทต่อกก. นั้นเป็นแป้งที่ผสมกับแป้งชนิดอื่น

ภาพที่ 4 ขั้นตอนการแปรรูปแป้งเท้ายายม่อม

สถานที่ติดต่อ

กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
กรมวิชาการเกษตร
โทร : 02-579-3170
https://www.doa.go.th/genebankthailand/

เท้ายายม่อม

พืชหัวให้แป้ง

จัดทำโดย
สุพินญา บุญมานพ
ปาริฉัตร สังข์สะอาด สุกัลยา ศิริฟองนุกูล

แป้งเท้ายายม่อม

นิยมบริโภคตั้งแต่สมัยโบราณเป็นพืชล้มลุกลงหัวอยู่ในวงศ์กลอย (Dioscoreace) มีชื่ออื่นๆ เช่น บุกรอ ไม้เท้ายุทธ Fiji arrowroot, Polynesian arrowroot (Pia) เป็นต้น จัดเป็นพืชสมุนไพรในตำรับยาทั้งไทยและต่างประเทศ นิยมใช้เป็นอาหารสำหรับผู้ป่วยเป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร เหมาะสำหรับเด็กอ่อน หรือผู้สูงอายุ เป็นพืชที่ชอบขึ้นอยู่ใต้ร่มเงาไม้ยืนต้น ตามป่าโปร่งแต่มีความชื้นสูง สภาพดินที่ขึ้นเป็นดินทราย หรือดินร่วนปนทราย เช่นบริเวณชายฝั่งทะเล พืชพื้นเมืองชนิดนี้พบมากบริเวณแอฟริกาใต้ ตอนเหนือของออสเตรเลีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (มาเลเซีย, อินโดนีเซีย, ฟิลิปปินส์, สิงคโปร์ และประเทศไทย)

ความหลากหลายของเท้ายายม่อมในประเทศไทยพบมากบริเวณชายฝั่งทะเลภาคใต้ (จังหวัดชุมพร, สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา กระบี่ ตรัง ภูเก็ต) ภาคตะวันออก (จังหวัด ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ใช้ประโยชน์ ในทางการแพทย์แผนไทย และการบริโภค (จังหวัดนครราชสีมา สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี อำนาจเจริญ และกาฬสินธุ์) ข้อมูลการพบในพื้นที่ ภาคตะวันตก (จังหวัดกาญจนบุรี) ภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่) พบค่อนข้างน้อย

ทั้งนี้ยังมีความสับสนกันเนื่องจากมีชื่อเรียกคล้ายกันแต่เป็นคนละชนิด คือ **เท้ายายม่อมที่ใช้ทำแป้ง (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze)** และเท้ายายม่อมต้นซึ่งเป็นพืชสมุนไพรในทางการแผนแพทย์ไทยใช้ราก (*Clerodendron indicum* Kuntze) ในที่นี้ขอกล่าวถึงเท้ายายม่อมหัวที่ให้แป้ง

เท้ายายม่อมขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ซึ่งลงหัวในปีที่ 1ซึ่งมีขนาดเล็กน้ำหนัก 5-15กรัม ไม่เหมาะสมในการทำแป้ง นำหัวเท้ายายม่อมลงปลูกในปีที่ 2 มีการเจริญเติบโตจากหัวเก่า และสร้างหัวใหม่เพื่อเก็บสะสมอาหารทำให้หัวเก่าจะฝ่อ ขนาดหัว 50-150 กรัม พันธุ์จากจังหวัดจันทบุรี (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 การเกิดหัวใหม่ของเท้ายายม่อมอายุ 2 ปี

หัวเท้ายายม่อมในปีที่ 3 มีขนาดหัว 150-800 กรัม ขึ้นกับความอุดมสมบูรณ์ของดินและการใส่ปุ๋ย (ภาพที่ 2) การเก็บเกี่ยวเท้ายายม่อมคืออายุ 8-9 เดือนหลังปลูก หรือสังเกตใบมีสีเหลือง โดยลักษณะตามธรรมชาติของพืชล้มลุกลงหัวจะมีการขยายพันธุ์ออกดอกติดฝักและเมล็ดในปีที่ 3

การทำแป้งเท้ายายม่อม ตามภูมิปัญญาชาวบ้าน นำหัวเท้ายายม่อมพันธุ์จากจังหวัดจันทบุรีน้ำหนัก 200-900 กรัม (ภาพที่ 3) มีขั้นตอน (ภาพที่ 4) ดังนี้

1. นำหัวเท้ายายม่อมปอกเปลือก
2. ทั่นหัวเท้ายายม่อมเป็นชิ้นเล็ก เพื่อบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นหรือการขูดเนื้อเป็นฝอยๆ
3. เติมน้ำสะอาดเพื่อช่วยให้การบดเนื้อหัวเท้ายายม่อมได้สะดวก
4. คั้นน้ำเพื่อให้แป้งออกจากเส้นใยเท้ายายม่อม นำผ้าขาวบางกรองน้ำแป้งเท้ายายม่อม
5. ตั้งน้ำเท้ายายม่อมให้ตกตะกอน ซึ่งจะมีสีน้ำตาลอ่อนเทน้ำทิ้งทำการล้างและตกตะกอน 2-3 ครั้ง สังเกตสีของน้ำชั้นบนใส สะอาดจึงเทน้ำออก
6. นำแป้งที่ตกตะกอน ตากแดด หรือ อบ จนแป้งแห้ง ลักษณะแป้งเท้ายายม่อมเป็นเกล็ดละเอียดสีขาว จึงเก็บใส่ภาชนะปิดสนิท พร้อมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้

ภาพที่ 2 การเกิดหัวใหม่ของเท้ายายม่อม

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวกที่ 4

ภาคผนวกที่ 4

สุพินญา บุญมานพ, ปาริฉัตร สังข์สะอาด และอัสนี ส่งเสริม. 2561. การศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กวาวเครือขาวเพื่อการอนุรักษ์.

การศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กวาวเครือขาวเพื่อการอนุรักษ์

Study on Germplasm Preservation of *Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvat.) Niyomdham for Conservation

สุพินญา บุญมานพ*, ปาริฉัตร สังข์สะอาด และ อัสนี ส่งเสริม Suphinya Bunmanop*, Parichart Sangkasa-ad and Assanee Songserm

กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผู้รับผิดชอบบทความ อีเมล์: bsupinya@hotmail.com

บทคัดย่อ

กวาวเครือขาวจัดเป็นพืชสงวน พบสารสำคัญในหัวใต้แก่ สารประกอบฟลาโวนอยด์ ใช้ประโยชน์ในการแพทย์ทางเลือก ปัจจุบันไม่มีข้อมูลการขยายพันธุ์มากนัก การเก็บกวาวเครือขาวมาใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่จึงได้จากในสภาพธรรมชาติ เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้ ในการศึกษานี้จึงศึกษาวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ พบว่า ส่วนปลายยอดกวาวเครือขาวสามารถขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 0.1 มก./ล. + BA 2 มก./ล. และชักนำให้เกิดเป็นต้นในอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 0.5 มก./ล. + BA 1.5 มก./ล. และ MS + IAA 1 มก./ล. + BA 3 มก./ล. หลังจากนั้นชักนำให้เกิดราก บนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IBA 2 มก./ล. (MSr) และ MS + NAA 2.5 มก./ล. + kinetin 0.05 มก./ล. (MSr_2) ตามลำดับ ในการเก็บรักษา พบว่า สามารถเก็บรักษาได้นาน 8.10 เดือน สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยอยู่ในสภาพที่ไม่มีการ subculture บนอาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + mannitol 20 ก./ล. และเมื่อนำชิ้นส่วนสีเขียวกลับมาทดสอบอัตราการรอดชีวิตบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr_2 สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

คำสำคัญ : กวาวเครือขาว การอนุรักษ์ สารชะลอการเจริญเติบโต

ABSTRACT

Pueraria candollei Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvat.) Niyomdham is categorized as a reserved plant. The important compounds found in this plant are flavonoids which used in Thai traditional medicine. At present, there is not any data so much of the plant. It is mainly collected from natural source that leads to the risk of extinction. Therefore, this study was the in vitro germplasm perservation. It was found that the apex plant could be propagated by in vitro method with MS + IAA 0.1 mg/L + BA 2 mg /L and induced in MS + IAA 0.5 mg/L BA + 1.5 mg/L and MS + IAA 1 mg/L + BA 3 mg/L. The roots induction were achieved in MS + IBA 2 mg/L (MSr) and MS + NAA 2.5 mg/L + kinetin 0.05 mg/L (MSr_2), respectively. The result revealed that the plants cultured on ½ MS + mannitol 20 g/L could be conserved by in vitro for 8.10 months without a subculture had the significantly highest. The green parts of those plantlets were tested their survival rate to MSr followed on MSr_2. It showed that they were able to grow normally.

Keywords : *Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvat.) Niyomdham, conservation, growth retardant

คำนำ

กวาวเครือขาว (*Pueraria candollei* Grah. var. *mirifica* (Airy Shaw et. Suvat.) Niyomdham) (ชวลิต, 2538) มีลักษณะใกล้เคียงกับ *Pueraria candollei* Grah. หรือที่เรียกว่า เครือเขาปู่ หรือตาลานเครือ ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Leguminosae อนุวงศ์ Papilionoideae พืชชนิดนี้มีชื่อท้องถิ่นแตกต่างกันเช่น กาวเครือ จานเครือ กาวเครือขาว ทองเครือ เป็นต้น (วุฒิ, 2540) มีรากสะสมอาหารเป็นหัวใต้ดิน ซึ่งนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพร ด้วยมีการสารสำคัญกลุ่มหลักๆ คือ Isoflavones, Isoflavone glycosides, Coumestans, Chromene และ Steroids (Ingham et al., 1994)) จากปริมาณความต้องการใช้วัตถุดิบจากหัวกวาวเครือขาว ทั้งทางด้านงานวิจัย และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ ส่วนใหญ่ได้จากการเก็บจากธรรมชาติ จึงได้มีประกาศพระราชบัญญัติ ทั้งพ.ร.บ. คุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 ของกรมวิชาการเกษตร ให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสงวน และพ.ร.บ. คุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย พ.ศ. 2542 ของสถาบันการแพทย์แผนไทย ให้กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรควบคุม การดิเมล็ดเกิดปีละครั้ง จึงทำให้กวาวเครือขาวเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมของกวาวเครือขาวที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

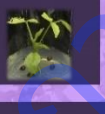
ศึกษาวิธีการเก็บรักษาพันธุ์กวาวเครือขาวโดยชะลอการเจริญเติบโต (slow growth) เพื่อการอนุรักษ์

วิธีการดำเนินการวิจัย

ฟอกฆ่าเชื้อเมล็ด

- ล้างทำความสะอาดโดยผ่านน้ำไหล และน้ำยาทำความสะอาด แล้วราวผึ่งให้หมาด
- จุ่มลงในแอลกอฮอล์ 70 % นาน 10 วินาที
- แช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 % นาน 15 นาที
- ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 10 นาที

นำเมล็ดกวาวเครือขาวเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS



การขยายกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ

การเพิ่มปริมาณแคลลัส และชักนำแคลลัสกวาวเครือขาวให้เกิดต้น โดยใช้ตายอด และตาข้าง

เลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 0.1 mg/l + BA 2 mg/l

การชักนำกวาวเครือขาวให้เกิดต้น โดย

เลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l

การเพิ่มจำนวนและชักนำให้เกิดราก โดย

เลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + IBA 2 mg/l (MSr)

ชักนำให้เกิดรากเพื่อทดสอบการนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน

เลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS + NAA 2.5 mg/l + kinetin 0.05 mg/l (MSr_2)

การเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ

ชะลอการเจริญเติบโตของพืช (slow growth) วางแผนการทดลองแบบ CRD 9 ทรีตเมนต์ 15 ซ้ำ

- อาหารสูตรสังเคราะห์ MS (control)
- อาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS
- อาหารสูตรสังเคราะห์ ¼ MS
- อาหารสูตรสังเคราะห์ MS + 10 m/l
- อาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + 10 m/l
- อาหารสูตรสังเคราะห์ ¼ MS + 10 m/l
- อาหารสูตรสังเคราะห์ MS + 20 m/l
- อาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + 20 m/l
- อาหารสูตรสังเคราะห์ ¼ MS + 20 m/l

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การขยายพันธุ์กวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ สามารถทำได้โดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ และ subculture ใช้ส่วนตายอด และตาข้างของกวาวเครือขาว

ต้นกวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อที่เจริญเติบโตเต็มที่ใช้ระยะเวลา 4-5 เดือน พร้อมออกปลูกในโรงเรือนทดลองได้ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 30 %

การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์ สามารถเก็บรักษาได้นาน 8.10 เดือน โดยไม่มีการ subculture เมื่อเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS โดยเติม mannitol 20 g/l

ขอขอบคุณ คุณสิริพันธุ์ ศรีจักรวาล คุณสราโมทย์ เก่งสิริ คุณสิมลิพัชรเนนี้ ทับถ้วม คุณวิราพรรณ แหล่าเนิน และคุณชนัญญกัญ วังคุหิรัญ ที่ได้ช่วยแก้ไขต้นฉบับให้สามารถสมบูรณ์ยิ่งขึ้น งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงานจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช) และสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

เมล็ดกวาวเครือขาวใช้ระยะเวลาในการงอก 1-2 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 20-25 % เนื่องจากสาเหตุการฉนีพักตัวของเมล็ดจากส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด หนาไม่ยอมให้น้ำและความชื้นผ่านเข้าไป และคุณภาพของเมล็ด จึงทำให้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ต่ำ

การขยายพันธุ์กวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากเพาะเมล็ดกวาวเครือขาว 2-3 เดือน คัดชิ้นส่วนที่มีลักษณะต้นอ่อนที่สมบูรณ์เลี้ยงบนอาหารสูตร MS + IAA 0.1 mg/l + BA 2 mg/l นำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดเป็นต้นในอาหารสูตร MS + IAA 0.5 mg/l + BA 1.5 mg/l และ MS + IAA 1 mg/l + BA 3 mg/l เพื่อเตรียมต้นสำหรับทดสอบสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโต พบว่า กวาวเครือขาวมีระยะเวลาในการเจริญเติบโตที่ล่าช้า เนื่องมาจากกวาวเครือขาวเป็นไม้เนื้ออ่อนหรือไม้พุ่มรอเลื้อย การชักนำให้เกิดรากโดยการ subculture ลงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr หลังจากนั้นย้ายลงอาหารสูตรสังเคราะห์ MSr_2 น้ำตาลร้อยละ 2 เพื่อเพิ่มปริมาณราก สอดคล้องกับการทดลองของ กนกพร (2538)

การเจริญเติบโตของต้นกวาวเครือขาวหลังจากนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า การนำออกปลูกในสภาพโรงเรือนควรมีโบและระบบรากแข็งแรง เพื่อดูดซึมอาหาร ซึ่งใช้ระยะเวลา 2-3 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 30 % ที่อายุ 2 เดือนหลังลงวัสดุปลูก โดยใช้วัสดุปลูก ดิน:ทรายแกลบดำ:ขุยมะพร้าว (1:1:1:1) ซึ่งอัตราการรอดน้อยกว่า กนกพร (2538) อาจจะเนื่องจากสภาพแวดล้อม ความชื้น อณุหภูมิ ขั้นตอนการจัดการ และปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการเจริญเติบโต

การเก็บรักษากวาวเครือขาวในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า กวาวเครือขาวเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ½ MS และ ¼ MS ร่วมกับ mannitol (0, 10 และ 20 g/l) ระยะเวลาในการเก็บรักษาเมื่อไม่มีการเปลี่ยนอาหารก่อนยอดเหลือง 50% แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการเก็บรักษาบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS โดยเติม mannitol 20 g/l (8.10 เดือน) สามารถเก็บรักษาได้นานที่สุด

สูตรอาหาร	Mannitol (g/l)	ระยะเวลาเฉลี่ยการเก็บรักษาก่อนยอดเหลืองร้อยละ50
1. MS full-strength	0	6.97 hcd
2. MS full-strength	10	7.13 bc
3. MS full-strength	20	7.33 b
4. MS half-strength	0	7.28 b
5. MS half-strength	10	7.13 bc
6. MS half-strength	20	8.10 a
7. MS one fourth-strength	0	6.57 d
8. MS one fourth-strength	10	7.00 bcd
9. MS one fourth-strength	20	6.70 cd
CV (%)		8.05

ตารางแสดงระยะเวลาเฉลี่ยการเก็บรักษาต้นกวาวเครือขาวก่อนยอดเหลืองเกินร้อยละ50

เอกสารอ้างอิง

กนกพร สนหงษ์ดิน. การขยายพันธุ์กวาวเครือขาวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้เกิดรากในหลอดทดลอง. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2538. ชวลิต นิ่มอรุโณ. กวาวเครือ. กรุงเทพฯ: ราชบัณฑิตยสถาน. กรุงเทพฯ: เรือนแก้วการพิมพ์. 295 หน้า.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540. สารสกัดจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

Ingham, J.L., Tanora, S. and Chaidir, S.T., 1994. A Chemical Investigation of Pueraria mirifica Roots. Z. Naturforsch. 49c: 603-606.

ลิขสิทธิ์ของกรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวกที่ 6

วรารัตน์ ศรีประพัฒน์, ประกาย อ่อนวิมล, ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์ และ สุพินญา บุญมานพ, 2564. การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ, *งานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 13 (CRDC 13)*, 13 พฤษภาคม 2564, กรุงเทพ, ประเทศไทย.

การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ

In Vitro Multiple Shoot Induction from Nodal Explants of *Houttuynia cordata* Thunb to Improve Medicinal Plant Production Quality

วรารัตน์ ศรีประพัฒน์ [1*] ประกาย อ่อนวิมล [1] ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์ [1] และ สุพินญา บุญมานพ [2]

[1] กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 85 หมู่ 1 ถ.รังสิต-นครนายก ต.รังสิต อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

[2] กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร 50 ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์สมุนไพรพลูคาวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นให้เพียงพอต่อความต้องการ เพื่อรองรับอุตสาหกรรมการผลิตสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อและผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลูคาว ซึ่งพบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อส่วนข้อที่เหมาะสม คือการใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งทำให้ได้ข้อที่ปลอดเชื้อและสามารถพัฒนาเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุดถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ความเข้มข้น 0–4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าการใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด (4.15±0.90 ยอดต่อข้อ)

คำสำคัญ: พลูคาว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การฟอกฆ่าเชื้อ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช

บทนำ

พลูคาว (*Houttuynia cordata* Thunb.) เป็นสมุนไพรที่มีความสำคัญซึ่งในปัจจุบันทางอุตสาหกรรมการผลิตยา เครื่องสำอาง รวมทั้งอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพได้ให้ความสนใจ เนื่องจากสารพฤกษ์เคมีในพลูคาวมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ (Fu *et al.*, 2013) ป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก และยังสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Wangchauy and Chanprasert, 2012) อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีว่าปริมาณสารพฤกษ์เคมีหรือสารสำคัญในพืชมักแปรผันตามสภาพแวดล้อม ในปัจจุบันจึงได้มีการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งการผลิตสารสำคัญในพืช โดยสามารถทดแทนการผลิตสารจากการเพาะปลูกพืชตามธรรมชาติ (วราภรณ์ ภูตะลุน, 2551)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตต้นพลูคาวปลอดเชื้อด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการพัฒนาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อและการศึกษาวิธีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อให้สามารถผลิตพืชสมุนไพรที่มีคุณภาพปราศจากการปนเปื้อนสารพิษและสิ่งเจือปน ทำให้การผลิตสารสำคัญสามารถทำได้อย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะเป็นทางเลือกในการปลูกพืชที่มีประสิทธิภาพเพื่อการวิจัยและพัฒนา รวมทั้งควบคุมคุณภาพมาตรฐานในการผลิตสมุนไพรพลูคาวในเชิงพาณิชย์

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองนี้ได้ทำการตัดชิ้นส่วนบริเวณใกล้ยอดเพื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 กรรมวิธี 20 ซ้ำ โดย 1 หน่วยการทดลอง คือ 1 ขวด เพาะเลี้ยง พบว่าหลังจากผ่านไป 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนข้อและยอดพลูคาวที่รอดชีวิตโดยปราศจากเชื้อจำนวน 6, 15 และ 19 ชิ้น ผลการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อพลูคาวพันธุ์ก้านม่วงที่เหมาะสมได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 และลักษณะข้อที่รอดชีวิตที่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์แสดงดังภาพที่ 1A และเมื่อนำชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ที่ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่า BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด โดยมีจำนวนเท่ากับ 4.15±0.90 ยอดต่อข้อ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1B) อย่างไรก็ตามเมื่อชักนำให้เกิดยอดโดยใช้ BA ที่ความเข้มข้น 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทุกยอดสามารถออกรากได้แต่รากมีลักษณะผิดปกติ คือสั้นเป็นปุ่มปม ดังนั้นการใช้ BA ที่ความเข้มข้นสูงอาจส่งผลเกิดสารตกค้างภายในเนื้อเยื่อพืชได้

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อของวิธีการฟอกในพลูคาวพันธุ์ก้านม่วง

พันธุ์	วิธีการฟอก	การปลอดเชื้อ (%)
ก้านม่วง	ไฮเตอร์ 15% 15 นาที	30
	ไฮเตอร์ 15% 15 นาที, 5% 5 นาที	75
	แอลกอฮอล์ 95 % 1 นาที, ไฮเตอร์ 15% 15 นาที, 5% 5 นาที	95

ตารางที่ 2 อิทธิพลของ BA ที่มีต่อการเกิดยอดใหม่ของพลูคาวที่เลี้ยงบนอาหารMS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 45 วัน

BA (mg/L)	0	1	2	3	4
จำนวนยอดเฉลี่ย	1.10±0.30[a]	4.15±0.90[b]	1.25±0.53[a]	1.15±0.36[a]	1.40±0.58[a]

[ab] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละแถว ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Tukey's test; $p < 0.05$)

สรุปผลการทดลอง

เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อต้นพลูคาวที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดคือการใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยไฮเตอร์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และตามด้วยไฮเตอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด เท่ากับ 4.15±0.90 ยอดต่อข้อ

ภาพที่ 1 ลักษณะพลูคาวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ อายุ 4 สัปดาห์ (A) และลักษณะยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA อายุ 6 สัปดาห์ (B)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สอว.)

เอกสารอ้างอิง

วราภรณ์ ภูตะลุน. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร : แนวทางการศึกษาเพื่อผลิตสารพฤกษเคมีที่มีคุณค่าทางเภสัชวิทยา. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 120น.

Fu, Y., Dai, C., Lin, Z., and Liu, H., 2013. Houttuynia cordata Thunb.: A review of phytochemistry and pharmacology and quality control. Chinese Medicine., 4, 101-123.

Wangchauy, C., and Chanprasert, S., 2012. Effects of Houttuynia cordata Thunb. extract, isoquercetin and rutin on cell growth inhibition and apoptotic induction in K562 human leukemic cells. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research., 4(5), 2590-2598.

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวกที่ 7

Conservation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. for Utilization

Suphinya Bunmanop* and Parichart Sangkasa-ad

Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture (DOA), Thailand
Corresponding author e-mail: bsupinya@hotmail.com*

Abstract

Tacca leontopetaloides (L.) Kuntze (Polynesian Arrowroot) is a single-season plant. Naturally, it takes at least 3 years to cultivate this plant from seeds for being ready to use in flour and seed production. As a result, it possibly leads to the risk of extinction. This research study was carried out on the propagation of arrowroot for conservation by tissue culture technique and seedling propagation. The finding indicated that the *in vitro* propagation of arrowroot by using explants derived from the leaf midrib areas of seedling showed that the best development in both embryos and plantlets. White globular embryos at the edge of leaf blade after transferring to media containing MS + BA 0.5 mg/l + 2,4-D 0.05 mg /l for 14 days were observed. The result revealed that the leaf explants had the significantly highest number of embryos (3.4 embryos) with the significantly highest length of plantlets (3.2 cm) after 30 days. The plantlets were grown under *in vitro* for 8 months before being transplanted into greenhouses performed a survival rate of 60 %. In addition, the result revealed that the average germination rate of seeds after being stored for 1-3 years were 57.8-59.2 % and were not significant different. However, it was found that the starch content from starch processing of the green-stem plants having different tuber sizes was significantly different. The tuber weighed 601-800 g showed the highest starch content (299 g dry weight/ 1 kg fresh).

Keywords : *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze, conservation, tuber size, seed, starch

Introduction

Thailand, one of Southeast Asian countries, is rich in biodiversity. However, excessively use of natural resources has caused the depletion and destroy the ecosystem which leads to loss of biodiversity. *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze, also known as polynesian arrowroot, fiji arrowroot (Krauss, 2000) is a local plant used for flour production and used as an initial ingredient for medical products. Today, only *T. leontopetaloides* Syn. *T. pinnatifida* Forst, *T. involucrata* Schum and Thonn from the family *Taccaceae* have been reported and this is the only genus that recently separated from the family *Dioscoreaceae*. (Caddick et al., 2002). The aim of this study for conservation using propagation method and utilization which can be sources of information for economic potential in the future.

Material and Method

The *in vitro* propagation

Completely Randomized Design (CRD)

explant : Petiole, Leaf base, Leaf with midrib

Seeding germination test

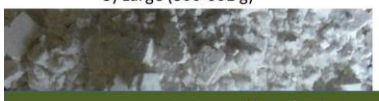
Completely Randomized Design (CRD)

Seed stored treatments; 1, 2 and 3 years at 4°C by top paper method and placed in the dark.

Flour production

Completely Randomized Design (CRD)

Tuber size ;1)Small (400-201 g)
2) Medium (600-401 g)
3) Large (800-601 g)



Result

Table 1 Germination (7 days), Number of embryos (14 days) and Plantlet length (30 days) on MS+BA 0.5mg/l+2,-4D 0.05 mg/l

Explant	Germination (7 days)(%)	Number of embryos (14 days)	Plantlet length (30 days)(cm)
Petiole	7b	0.7b	0.12b
Leaf base	12b	1.1b	0.12b
Leaf with midrib	88a	3.4a	3.2a
CV(%)	23	40	29.96

The average followed by the same character in each treatment is not statistically different as compared by DMRT at 95% reliability level

Table 2 Percentage of Germination of the polynesian arrowroot seeds

Seed storage age (year)	Percentage of germination (%)
1	57.80 b
2	59.15 b
3	59.20 a
CV(%)	5.06

The average followed by the same character in each treatment is not statistically different as compared by DMRT at 95% reliability level

Table 3 Production of the polynesian arrowroot on the processing of flour

Tuber size (g)	Starch content (grams)
Small (400-201 g)	187 c
Medium (600-401 g)	223 b
Large (800-601 g)	299 a
CV(%)	2.68

The average followed by the same character in each treatment is not statistically different as compared by DMRT at 95% reliability level

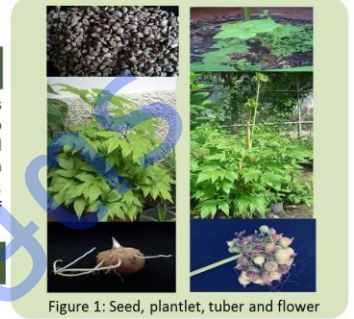


Figure 1: Seed, plantlet, tuber and flower

Figure 2: tuber and flour

Figure 3: Plantlet from tissue culture aged 8 months transplanted in greenhouse condition

Figure 4: Tuber from tissue culture aged 8 months transplanted in greenhouse condition

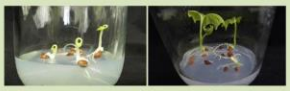


Figure 5: *in vitro* Seeding

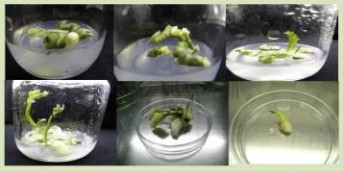


Figure 6: *in vitro* tuber and plantlet

Conclusion

In this study, there were 2 methods; 1) the tissue culture method and 2) direct seeding method, for propagation to conservation of the polynesian arrowroot. The result revealed that the leaf explants had the significantly highest number of embryos (3.4 embryos) with the significantly highest length of plantlets (3.2cm) after 30 days. The plantlet were grown under *in vitro* for 8 months before being transplanted into greenhouse performed a survival rate of 60%. In addition, the result revealed that the average germination rate of seeds after being stored for 1-3 years were 57.8-59.2% and were not significant different. However, it was found that the starch content from starch processing of the green-stem plants having different tuber sizes was significantly different. The tuber weighed 601-800g showed the highest starch content (299 g dry / 1 kg fresh).

Acknowledgements

This research is supported by the Office of the National Research Council of Thailand (NRCT) and Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, Thailand.

References

Caddick, R.L., P.Wilkin, P.J.Rudall, A.,J.Hedderson and M.W.Chase. 2002. Yams reclassified: A recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales, Taxon 51:103-114.

Krauss, B.H. 2000. Native Plants Used as Medicine in Hawaii. [Online] http://library.kcc.hawaii.edu/~soma/krauss/pia.html.

Figure 7: *in vitro* Plantlet aged 8 months for transplanting in greenhouse condition

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวกที่ 8

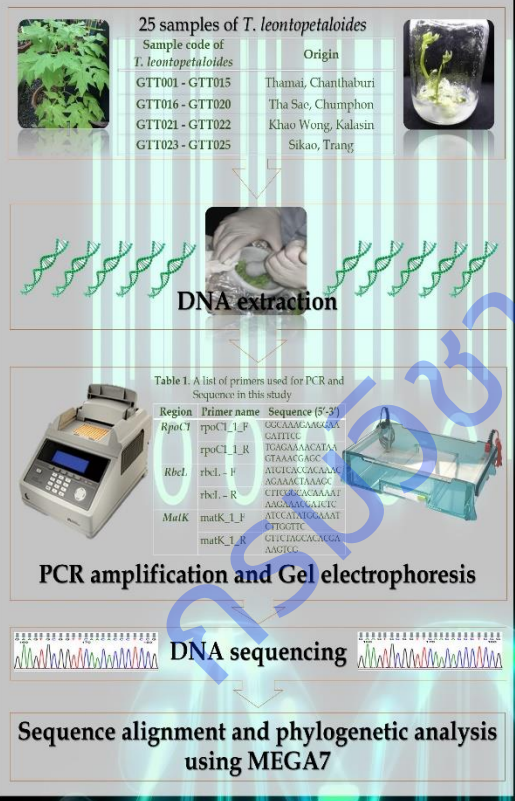
Chloroplast DNA Barcode for Genetic Relationship of *Tacca leontopetaloides*

Aroonothai Sawwa*, Suphinya Bunmanop, and Phaitun Bupphada
Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, Thanyaburi, Pathum Thani, 12110, Thailand.
Corresponding author e-mail: aroonothais@yahoo.com*

Introductions

"**Thao Yai Mom**" or *Tacca leontopetaloides* is an annual plant belonging to the family Dioscoreaceae. The starch from tuber is used for food and pharmaceutical production worldwide. Recently, cultivation areas have decreased and many varieties have become nearly extinct in Thailand. DNA sequence of chloroplast genome is a multi-purpose tool for plant species identification, barcoding and establishing genetic relationship among plant species. This research aimed to study genetic relationship using chloroplast DNA barcoding regions such as *Mat*K, *Rbc*L and *Rpo*C1 in *T. leontopetaloides*. Samples from different varieties were collected from Chanthaburi, Chumporn, Kalasin and Trung province and 25 samples were conserved at the Department of Agriculture's plant germplasm.

Materials and methods



Results

All primers of the candidate regions showed good amplification in *T. leontopetaloides* samples. The DNA fragments of *Mat*K *Rbc*L and *Rpo*C1 were approximately 900, 650 and 480 bp in length respectively (Figure 1). All 3 candidate DNA barcoding regions could identify species. The genetic distance analysis showed that *Rpo*C1 gave the best result in discriminating 25 samples of *T. leontopetaloides*. It could group 14 out of 15 samples from Chanthaburi together (Figure 4). Although *Mat*K and *Rbc*L could not discriminate samples within the same species, they could identify among species (Figure 2 and 3).

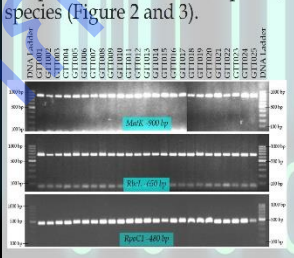


Figure 1. The PCR products of *MatK*, *RbCl*. and *RpoC1* regions were amplified from 25 samples of *T. leontopetaloides*.

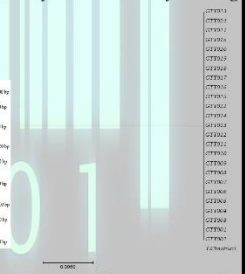


Figure 2. The phylogenetic tree of the 25 *T. leontopetaloides* samples constructed using nucleotides of *MatK* gene region. The *T. chantrieri* (accession no. JQ733736.1) was used as outgroup.

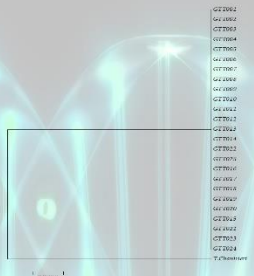


Figure 3. The phylogenetic tree of the 25 *T. leontopetaloides* samples constructed using nucleotides of *RbcL* gene region. The *T. chantrieri* (accession no. AJ235810.1) was used as outgroup.

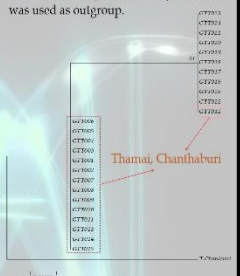


Figure 4. The phylogenetic tree of the 25 *T. leontopetaloides* samples constructed using nucleotides of *RpoC1* gene region. The *T. chantrieri* (accession no. KX171420.1) was used as outgroup.

Conclusion

DNA barcoding can assist in screening and identifying plant families such as Dioscoreaceae, as well as helping reconstruct phylogenetic relationship. Chloroplast DNA Barcoding can reduce time and costs when studying plant species identification with large-scale biodiversity inventories and rare species conservation.

References

1. Janzen H. Daniel. 2009. A DNA barcode for land plants. PNAS vol.106 no.3: page 12794-12797.
2. Parveen, I., H.K. Signh., S. Raghuvanshi and U.C. Pradhan. 2011. DNA barcoding of endangered Indian *Paphiopedilum* species. Molecular Ecology Resources, DOI:10.1111/j.1775-0998.2011.03071.x. 9 pages.

ภาคผนวกที่ 9

วรารัตน์ ศรีประพัฒน์, ประกาย อ่อนวิมล, ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์, สุพินญา บุญมานพ, 2564. การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 52: 1 (พิเศษ) : 345-348.

Agricultural Sci. J. 52(1)(Suppl.): 345-348 (2021) ว. วิทย์. กษ. 52(1)(พิเศษ): 345-348 (2564)

การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อพลูคาวในสภาพหลอดทดลองเพื่อการผลิตพืชสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ

In Vitro Multiple Shoot Induction from Nodal Explants of *Houttuynia cordata* Thunb to Improve Medicinal Plant Production Quality

วรารัตน์ ศรีประพัฒน์[1*] ประกาย อ่อนวิมล[1] ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์[1] สุพินญา บุญมานพ[2]
Sriprapat, W.[1*], Onwimol, P.[1], Wanichananan, P.[1] and Boonmanop, S.[2]

Abstract

Plant tissue culture technique for medicinal plant; *Houttuynia cordata* Thunb, is considered to be the most efficient technology for large scale plant multiplication for improving the production process as in pharmaceutical industry. In this work, the most effective treatment for sterilization of *H. cordata* was evaluated and the effect of plant growth regulators on shoot multiplication was also studied. Among four sterilizing processes used in this experiment, the results showed that the maximum percentage of clean and alive nodal (95%) was observed when using 95% ethanol for 1 minute, followed by 15% Clorox for 15 minutes, and then followed by 5% Clorox for 5 minutes. Furthermore, after cultured the sterilized explants on MS medium supplemented with 0–4.0 mg·L^{-1} BA for 45 days. The highest number of shoots regenerated (4.15±0.90 shoots/explant) were observed on MS medium supplemented with 1.0 mg·L^{-1} BA.

Keywords: *Houttuynia cordata* Thunb, Plant tissue culture, Sterilization, Plant growth regulator

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์สมุนไพรพลูคาวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นให้เพียงพอต่อความต้องการเพื่อรองรับอุตสาหกรรมการผลิตสมุนไพรอย่างมีคุณภาพ งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อและผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพลูคาว ซึ่งพบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อส่วนข้อที่เหมาะสม คือ การใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และตามด้วยคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งทำให้ได้ข้อที่ปลอดเชื้อและสามารถพัฒนาเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุดถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตซนิด BA ความเข้มข้น 0–4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าการใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากที่สุด (4.15±0.90 ยอดต่อข้อ)

คำสำคัญ: พลูคาว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การฟอกฆ่าเชื้อ สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช

คำนำ

พลูคาว (*Houttuynia cordata* Thunb.) เป็นสมุนไพรที่มีความสำคัญซึ่งในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตยา เครื่องสำอาง รวมทั้งอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพได้ให้ความสนใจ เนื่องจากพลูคาวสามารถแปรรูปเป็นยารักษาโรคต่างๆ ได้ เช่น ยายับยั้งแบคทีเรียและไวรัส ยาขับปัสสาวะ ยาลดอาการบวมน้ำ ยาแก้โรคผิวหนัง และแก้ผื่นคัน เป็นต้น (Chen และคณะ, 2011) สารพฤกษ์เคมีหรือสารสำคัญที่พบในพลูคาว ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ สเตอรอยด์ แอลคาลอยด์ กรดอินทรีย์ กรดไขมัน กรดอะมิโน และน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น (Fu และคณะ, 2013) ซึ่งสารพฤกษ์เคมีที่พบในพลูคาวนี้มีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัส ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ป้องกันหลอดเลือดฝอยแตก และยังสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Wangchauy และ Chanprasert, 2012) อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีว่าปริมาณสารพฤกษ์เคมีหรือสำคัญในพืชมักแปรผันตามสภาพแวดล้อมหรือพื้นที่เพาะปลูก ในปัจจุบันจึงได้มีการประยุกต์ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตสารสำคัญในพืช ซึ่งทำให้การผลิตสารสำคัญสามารถทำได้อย่างต่อเนื่องเพื่อทดแทนการผลิตสารจากการเพาะปลูกพืชตาม

[1] กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร เลขที่ 85 หมู่ 1 ถ.รังสิต-นครนายก ต.รังสิต อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110
[1] Agricultural Biotechnology Research Group, Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, 85 Sirindhorn plant genetic resources building, rangsit-nakhon nayok Rd., Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Thailand
[2] กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร 50 ถ.พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
[2] Genebank Research and Development Group, Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Phahonyothin Rd., Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวกที่ 10

ใบตอบรับการเข้าร่วมการประชุมวิชาการ และใบประกาศการนำเสนอผลงานระดับชาติ
การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 18 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
เรื่อง การขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณสารเทอร์พีนอยด์รวมในจิงจูฉ่ายด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
และได้รับใบแจ้งการตีพิมพ์ผลงานวิจัยวารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ
เรื่อง การขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณสารเทอร์พีนอยด์รวมในจิงจูฉ่ายด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ที่ อว 6502.01/2064.1

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ต.กำแพงแสน อ.กำแพงแสน
จ.นครปฐม 73140

25 ตุลาคม 2564

เรื่อง ตอบรับการร่วมประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 18 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

เรียน คุณประกาย อ่อนวิมล

ตามที่ท่านได้เสนอผลงานเรื่อง การขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณสารเทอร์พีนอยด์รวมในจิงจูฉ่ายด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Micropropagation and Enhancement of total terpenoid content in *Artemisia lactiflora* using tissue culture technique) สาขาพืชและเทคโนโลยีชีวภาพ ภาคบรรยาย ในการจัดประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 18 ในการจัดสัมมนาและประชุมวิชาการ งานเกษตรกำแพงแสน ประจำปี 2564 ระหว่างวันที่ 8-9 ธันวาคม 2564 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม นั้น

ในการนี้ คณะกรรมการฝ่ายจัดสัมมนาและประชุมวิชาการ งานเกษตรกำแพงแสน ประจำปี 2564 ขอแจ้งให้ทราบว่า ผลงานของท่านได้ผ่านการพิจารณาและตอบรับการเข้าร่วมประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 18 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยท่านสามารถตรวจสอบกำหนดการ และช่องทางเข้าร่วมในการนำเสนอผลงานทางวิชาการ ได้ที่เว็บไซต์ http://esd.kps.ku.ac.th/kuk-conference/ ภายในวันจันทร์ที่ 22 พฤศจิกายน 2564

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.อนุชัย ภัญโญภูมินทร์)
รองอธิการบดีวิทยาเขตกำแพงแสน ปฏิบัติหน้าที่แทน
อธิการบดีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำนักงานวิทยาเขตกำแพงแสน
กองบริหารการศึกษา
โทร. 034-341545
โทรสาร 034-351395

ที่ อว ๖๕๐๒.๐๒๐๑/ว.๔๗๘๖

คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน
จังหวัดนครปฐม ๗๓๑๔๐

๑๗ พฤศจิกายน ๒๕๖๔

เรื่อง แจ้งการตีพิมพ์บทความวิจัยในวารสารวิชาการวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ

เรียน คุณประกาย อ่อนวิมล

ตามที่ ท่านได้ส่งบทความวิชาการเรื่อง การขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณสารเทอร์พีนอยด์รวมในจิงจูฉ่ายด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Micropropagation and Enhancement of total terpenoid content in Artemisia lactiflora using tissue culture technique ของท่านและคณะ เพื่อตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ (Journal of Agricultural Science and Management) คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ความทราบแล้วนั้น

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ **มีความยินดี**แจ้งให้ท่านทราบว่า **บทความวิชาการของท่านได้รับการยอมรับให้ตีพิมพ์**ใน วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ **ปีที่ ๕ ฉบับที่ ๑ ประจำเดือนมกราคม – เมษายน ๒๕๖๕** เรียบร้อยแล้ว โดยกองบรรณาธิการจะจัดส่งวารสารฉบับสมบูรณ์ให้ท่านต่อไปเมื่อวารสารได้รับการจัดพิมพ์แล้วเสร็จ

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล)
บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ

คณะเกษตร กำแพงแสน
โทรศัพท์ ๐ ๘๘๙ ๔๒๑๑๙ ๑
โทรสาร ๐ ๓๔๓๕ ๑๔๐๑ ต่อ ๑๑๑๙
Email agr.kps@ku.ac.th

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวกที่ 11

วรารัตน์ ศรีประพัฒน์.สมุนไพรพลูคาวและการผลิตต้นกล้าปลอดโรค (หนังสือกสิกร ปีที่ 95 ฉบับที่ 2 / 2565 ธันวาคม 2564 – มกราคม 2565 : หน้า 32-36)

สมุนไพรพลูคาว
และการผลิตต้นกล้าปลอดโรค

วรารัตน์ ศรีประพัฒน์

สมุนไพรพลูคาว

พลูคาว *(Houttuynia cordata Thunb)* มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นแตกต่างกันไป ได้แก่ ผักก้านตอง ผักคาวปลา ผักเข้าตอง ผักคาวทอง ฮื่อซอเช่า หรือหื่อแซเช่า เป็นต้น จัดอยู่ในวงศ์ Saururaceae มีลักษณะเป็นพืชล้มลุก มีอายุอยู่ได้หลายปี มีกลิ่นคล้ายคาวปลา ลำต้นสูงประมาณ 15 - 20 เซนติเมตร มีลักษณะกลม สีเขียวหรือแดง ใบเป็นใบเดี่ยวคล้ายรูปหัวใจ เป็นพืชที่ต้องการร่มเงา มักเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีความชื้นสูงและเป็นบริเวณที่ได้รับแสงแดดไม่มากนัก สามารถเจริญเติบโตได้ในดินร่วนจนถึงดินทราย สมุนไพรพลูคาวสามารถขยายพันธุ์ได้โดยการแยกหน่อ และการปักชำ ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตยา เครื่องสำอาง รวมทั้งอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพให้ความสนใจ จึงถือเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญเช่นกัน

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรพลูคาว

พลูคาวมีสรรพคุณในตำรับยาสมุนไพรแผนโบราณในประเทศต่าง ๆ จึงนิยมใช้เพื่อรักษาโรค ได้แก่

- ประเทศจีน มีการใช้สมุนไพรพลูคาวในการรักษาโรคกลากเกลื้อน โรคไข้มาลาเรีย โรคลมแดด ปอดอักเสบ กระเพาะปัสสาวะอักเสบ ลำไส้อักเสบ เป็นต้น
- ประเทศญี่ปุ่น มีการใช้สมุนไพรพลูคาวเพื่อเป็นยาขับปัสสาวะ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร ยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกกลุ่มที่สร้างสปอร์ เป็นต้น
- ประเทศเกาหลี มีการใช้สมุนไพรพลูคาวเพื่อรักษาอาการไอ สิว กลากเกลื้อน เริม ตกขาว มดลูกอักเสบ ปอดอักเสบ หลอดลมอักเสบ ไซนัสอักเสบ เป็นต้น

กรมวิชาการเกษตร